

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**Faculdade de Medicina**

**LUDIMILA LABANCA**

**POTENCIAL EVOCADO MIOGÊNICO VESTIBULAR POR ESTIMULAÇÃO  
GALVÂNICA E POTENCIAIS EVOCADOS AUDITIVOS DE LONGA  
LATÊNCIA NA MIELOPATIA ASSOCIADA AO HTLV-1**

**Belo Horizonte**

**2016**

**LUDIMILA LABANCA**

**POTENCIAL EVOCADO MIOGÊNICO VESTIBULAR POR ESTIMULAÇÃO  
GALVÂNICA E POTENCIAIS EVOCADOS AUDITIVOS DE LONGA  
LATÊNCIA NA MIELOPATIA ASSOCIADA AO HTLV-1**

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de doutor em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical do Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal de Minas Gerais.

Orientadora:

Prof<sup>ª</sup>. Denise Utsch Gonçalves

Coorientadores:

Prof<sup>ª</sup>. Sirley Alves da Silva Carvalho

Prof. José Roberto Lambertucci

**Belo Horizonte**

**2016**

L112p Labanca,Ludimila.  
Potencial Evocado Miogênico Vestibular por estimulação galvânica e potenciais evocados auditivos de longa latência na Mielopatia associada ao HTLV-1 [manuscrito]. / Ludimila Labanca. - - Belo Horizonte: 2016.  
126 f.: il.  
Orientador (a): Denise Utsch Gonçalves.  
Área de concentração: Infectologia e Medicina Tropical.  
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Virus 1 Linfotrópico T Humano. 2. Paraparesia Espástica Tropical. 3. Potenciais Evocados Miogênicos Vestibulares. 4. Potencial Evocado P300. 5. Cognição. 6. Dissertações Acadêmicas. I. Gonçalves, Denise Utsch. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. III. Título

NLM: QW 168.5

## **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

REITOR: Prof. Jaime Arturo Ramírez

VICE-REITORA: Prof<sup>a</sup>. Sandra Regina Goulart Almeida

### **Pró-reitoria de Pós-graduação**

PRÓ-REITORA DE PÓS-GRADUAÇÃO: Denise Maria Trombert de Oliveira

### **Pró-reitoria de pesquisa**

PRÓ-REITORA DE PESQUISA: Prof<sup>a</sup>. Adelina Martha dos Reis

## **FACULDADE DE MEDICINA**

DIRETOR: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

VICE-DIRETOR: Prof. Humberto José Alves

### **Centro de Pós-graduação**

COORDENADOR: Prof. Luiz Armando Cunha de Marco

SUBCOORDENADOR: Prof. Edson Samesima Tatsuo

### **Departamento de Clínica Médica**

CHEFE: Valeria Maria Augusto

### **Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical**

COORDENADOR: Prof. Eduardo Antonio Ferraz Coelho

SUBCOORDENADOR: Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro

COLEGIADO: Prof. Eduardo Antonio Ferraz Coelho

Prof<sup>a</sup>. Maria do Carmo Pereira Nunes

Prof. Vandack Alencar Nobre Jr.

Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro

Prof<sup>a</sup>. Denise Utsch Gonçalves

Prof. Unai Tupinambás

Pollyana Anício Magalhães Gontijo (representante discente)



## ATA DA DEFESA DE TESE DA ALUNA LUDIMILA LABANCA

Realizou-se, no dia 08 de novembro de 2016, às 08:30 horas, Sala 526 - 5º andar da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Minas Gerais, a 149ª defesa de tese, intitulada "*Potencial Evocado Miogênico Vestibular por estimulação galvânica e Potenciais Evocados Auditivos de Longa Latência na mielopatia associada ao HTLV-1*", apresentada por LUDIMILA LABANCA, número de registro 2013653373, graduada no curso de FONOAUDIOLOGIA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical, à seguinte Comissão Examinadora: Profa. Denise Utsch Gonçalves - Orientador (UFMG), Profa. Sirley Alves da Silva Carvalho (UFMG), Profa. Luciana Macedo de Resende (UFMG), Prof. Marco Aurelio Rocha Santos (UFMG), Profa. Anna Bárbara de Freitas Carneiro Proietti (Hemominas), Prof. Paul Avan (Université D Auvergne).

A Comissão considerou a tese:

Aprovada

Reprovada

Finalizados os trabalhos, foi lavrada a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 08 de novembro de 2016.

Profa. Denise Utsch Gonçalves 

Profa. Sirley Alves da Silva Carvalho 

Profa. Luciana Macedo de Resende 

Prof. Marco Aurelio Rocha Santos 

Profa. Anna Bárbara de Freitas Carneiro Proietti 

Prof. Paul Avan





## FOLHA DE APROVAÇÃO

**"Potencial Evocado Miogênico Vestibular por estimulação galvânica e Potenciais Evocados Auditivos de Longa Latência na mielopatia associada ao HTLV-1"**

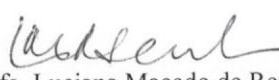
**LUDIMILA LABANCA**

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

Aprovada em 08 de novembro de 2016, pela banca constituída pelos membros:

  
Profª. Denise Utsch Gonçalves - Orientador  
UFMG

  
Profª. Sirléy Alves da Silva Carvalho  
UFMG

  
Profª. Luciana Macedo de Resende  
UFMG

  
Prof. Marco Aurelio Rocha Santos  
UFMG

  
Profª. Anna Bárbara de Freitas Carneiro Proietti  
Hemominas

  
Prof. Paul Avan  
Université D Auvergne

Belo Horizonte, 8 de novembro de 2016.

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.*

*(Madre Teresa de Calcutá)*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por iluminar meu caminho e colocar pessoas tão companheiras, especiais e prontas para me auxiliar em todos os momentos.

Agradeço à professora Denise Utsch Gonçalves pela orientação exemplar e disposição em ensinar.

À professora Sirley Alves Silva Carvalho pelo constante incentivo, carisma e exemplo profissional.

Ao professor José Roberto Lambertucci pelo incentivo e desafios propostos.

Às professoras do curso de Fonoaudiologia pelos ensinamentos e apoio.

Aos professores do programa de Pós-graduação em Infectologia e Medicina Tropical pelo incentivo e ensinamentos.

Ao professor Manoel Otávio da Costa Rocha pelo incentivo e ensinamentos.

Ao doutor João Luiz Cioglia Pereira Diniz, grande parceiro da pesquisa.

Às médicas Julia Fonseca de Moraes Caporali e Ana Lúcia Borges Starling, pela parceria, pela avaliação clínica dos pacientes, pela amizade e pelos incentivos.

Aos neurologistas Sílvio Roberto de Sousa Pereira e Luiz Cláudio Romanelli, pela parceria e pelas avaliações neurológicas dos pacientes.

Aos acadêmicos de Iniciação Científica Daniele Rosa Fernandes, Luiza Vicari, Sheila Maria Melo, Isadora Oliveira Wittckind e Bárbara Oliveira, pela dedicação.

Aos neuropsicólogos Lucas Geo e Renata Caetano Vieira pela parceria de pesquisa e avaliações neuropsicológicas dos pacientes.

Aos membros do Grupo Interdisciplinar de pesquisas em HTLV-1 (GIPH), em especial, Anna Bárbara Carneiro Proietti, idealizadora do GIPH, pelo apoio na realização do projeto.

À Fundação Hemominas, ao Hospital das Clínicas e aos seus funcionários que contribuíram para este trabalho.

Aos doadores e ex-doadores de sangue, pela participação no estudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) e ao Centro de Pós-graduação da Faculdade de Medicina da UFMG, pelo apoio ao projeto.

À secretária do programa de pós-graduação em Infectologia e Medicina Tropical, Jussara, pela paciência, disponibilidade, carisma e atenção em todos os momentos.

Ao coordenador do programa de pós-graduação Prof. Eduardo Antonio Ferraz Coelho, pelo apoio.

Às minhas queridas amigas Daniele de Lima e Melo e Wendy Yadira, pelo apoio e carinho.

Ao Rogério Rodrigues Lima que, com toda paciência, amor, carinho e sabedoria sempre me incentivou nesse percurso.

Aos meus pais Edson Luiz Labanca e Nair Damasceno Labanca, que sempre acreditaram em mim e sempre me auxiliaram.

A minha irmã, Lilian Labanca Toledo, que me ensinou o valor das simples conquistas.

A minha querida sobrinha, Ana Lílian, pelo carinho e amor.

A todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para formulação, construção e concretização deste trabalho.

Muito Obrigada!

## RESUMO

LABANCA, L “**Potencial evocado miogênico vestibular por estimulação galvânica e potenciais evocados auditivos de longa latência na mielopatia associada ao HTLV-1**”. Belo Horizonte: UFMG, 2016. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde: infectologia e medicina tropical) – Centro de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina – UFMG.

**Introdução:** A infecção pelo Vírus Linfotrófico Humano de Células T tipo 1 (HTLV-1) pode causar alterações inflamatórias em todo o sistema nervoso central, incluindo medula e córtex. Os objetivos do presente estudo foram avaliar a resposta medular postural por meio do potencial evocado miogênico vestibular com estimulação galvânica (G-VEMP) e avaliar a resposta cognitiva por meio de testes neuropsicológicos e dos potenciais evocados auditivos de longa latência (P300, N200, P160 e N100) em indivíduos infectados pelo HTLV-1 em diferentes níveis de progressão da mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP). **Métodos:** Realizou-se estudo transversal comparativo. Para avaliação postural foram incluídos 122 participantes, sendo 45 sem a infecção pelo HTLV-1 (controles) e 77 com a infecção pelo HTLV-1. Desses, 26 eram HTLV-1-assintomáticos, 26 com possível HAM/TSP e 25 com HAM/TSP de acordo com a avaliação neurológica. O G-VEMP foi gerado por estimulação vestibular galvânica de 2mA/ 400 ms, aplicada bilateralmente nas mastoides. A resposta eletromiográfica foi captada nos músculos gastrocnêmios. As variáveis de interesse foram as latências e amplitudes das ondas de curta latência (CL) e média latência (ML) do G-VEMP. Para avaliação da cognição foram incluídos 113 participantes, sendo 40 controles e 73 com a infecção pelo HTLV-1. Desses, 27 eram HTLV-1-assintomáticos, 26 com possível HAM/TSP e 20 com HAM/TSP. As variáveis de interesse foram os escores do testes neuropsicológicos e a latência e a amplitude dos potenciais auditivos de longa latência. **Resultados:** Os grupos foram semelhantes em relação à idade, gênero, altura e nível educacional. Em relação ao G-VEMP, as respostas de CL e ML apresentaram latência aumentada no grupo infectado pelo HTLV-1 quando comparadas com os controles ( $p < 0,001$ ). A curva de características de operação do receptor (ROC), utilizando-se como padrão ouro o exame neurológico, apresentou área sob a curva de 0,83 ( $p = 0,001$ ) para CL e 0,86 ( $p < 0,001$ ) para ML na identificação de lesão medular. A sensibilidade e especificidade foram, respectivamente, 76% e 86% para CL e 79% e 85% para ML. A progressão da doença neurológica se relacionou com a alteração no G-VEMP, iniciando com um aumento da latência de CL entre os HTLV-1-assintomáticos, progredindo para aumento da latência de CL

e ML entre o grupo possível HAM/TSP até a ausência de respostas no grupo HAM/TSP. Em relação à avaliação cognitiva os grupos não foram diferentes nas medidas de inteligência global e velocidade de processamento ( $p > 0,05$ ). Comparado aos controles, os grupos possível HAM/TSP e HAM/TSP apresentaram pior desempenho na realização do teste *Rey Auditory Verbal Learning Test* (RAVLT), que avalia memória verbal ( $p < 0,001$ ). Os grupos HTLV-1-assintomáticos, possível HAM/TSP e HAM/TSP apresentaram pior desempenho na realização do teste *Nine Hole Peg Test* (NINE HOLE), que avalia habilidades motoras e atenção ( $p < 0,001$ ). Os grupos HTLV-1-assintomáticos, possível HAM/TSP e HAM/TSP apresentaram latência aumentada do P300 na comparação com os controles ( $p < 0,001$ ) e o grupo HAM/TSP apresentou latência aumentada do N200 na comparação com os controles ( $p < 0,001$ ). O pior desempenho no RAVLT se correlacionou com aumento de latência de N200 e P300; o tempo aumentado para realizar o NINE HOLE se correlacionou com o aumento da latência do N200 e P300. O estudo indicou comprometimento cognitivo nos pacientes infectados pelo HTLV-1 nas habilidades de memória verbal, de aprendizado, de discriminação auditiva e de atenção. P-300 e NINE HOLE identificaram alterações subclínicas relacionadas à função cortical em indivíduos com HAM/TSP e também entre aqueles com infecção aparentemente assintomática. **Conclusão:** O G-VEMP e o P300 identificaram alterações subclínicas relacionadas, respectivamente, às funções medular e cortical em indivíduos infectados pelo HTLV-1 aparentemente assintomáticos. Possivelmente, esses indivíduos terão maior risco de desenvolver HAM/TSP quando comparados com infectados assintomáticos com a avaliação neurocognitiva e eletrofisiológica normais.

**Palavras-chave:** Vírus linfotrópico de células T humanas tipo 1. Estimulação Vestibular galvânica. Potencial evocado miogênico vestibular. Potencial cognitivo P300. Cognição. Neuropsicologia.

## ABSTRACT

LABANCA, L “**Vestibular evoked myogenic potential triggered by galvanic stimulation and long latency auditory evoked potentials in HTLV-1-associated myelopathy**”. Belo Horizonte: UFMG, 2016. Thesis (Doctorate in Health Sciences: Infectology and Tropical Medicine) – Post-graduation Center of the Faculty of Medicine - UFMG.

**Introduction:** Human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) causes inflammatory damage in the spinal cord and brain. The aims of this study were to evaluate the spinal cord motor function using vestibular evoked myogenic potential with galvanic stimulation (G-VEMP) and to evaluate the cognition using neuropsychological tests and long latency auditory evoked potentials (P300, N200, P160 and N100) in individuals infected with HTLV-1 in different phases of progression of HTLV-1-associated myelopathy/ tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). **Methods:** We conducted a cross-sectional and comparative study. The postural evaluation was performed in 122 subjects, 45 not-infected (control) and 77 infected with HTLV-1: 26 asymptomatic, 26 with possible HAM/TSP and 25 with HAM/TSP, according to neurological evaluation. VEMP was generated by 2mA/400ms binaural galvanic vestibular stimulation (GVS). The G-VEMP was recorded from gastrocnemius muscles. The G-VEMP studied parameters were the short-latency (SL) and the medium-latency (ML) components of the VEMP wave. The cognition was evaluated in 113 subjects, 40 controls and 73 infected with HTLV-1 (27 asymptomatic, 26 with possible HAM/TSP and 20 with HAM/TSP). The variables of interest were the scores of neuropsychological tests, latency and amplitude of long latency auditory evoked potentials. **Results:** The groups were similar in gender, age, height, and education. About G-VEMP, the components SL and ML were delayed in HTLV-1 groups compared to controls ( $p < 0.001$ ). Based on neurological examination as the gold standard, ROC curve showed area under the curve of 0.83 ( $p < 0.001$ ) for SL and 0.86 ( $p < 0.001$ ) for ML to detect of spinal cord injury. Sensibility and specificity were, respectively, 76% and 86% for SL and 79% and 85% for ML. G-VEMP showed progressive vestibulospinal deficit related to HTLV-1-neurological disease, ranging from SL delayed latency in the asymptomatic carriers, SL and ML delayed latency in the possible-HAM/TSP group to absence of EMG wave in the HAM/TSP group. Regarding cognition, the groups did not differ in processing speed, general intelligence ( $p > 0.05$ ). Compared to controls, possible HAM/TSP and HAM/TSP groups presented a worse performance to execute the Rey Auditory Verbal Learning Test (RAVLT), attesting a worse

verbal memory ( $p < 0.001$ ). HTLV-1-asymptomatic carrier, possible HAM/TSP and HAM/TSP groups presented a worse performance to execute Nine Hole Peg Test (NINE HOLE), attesting worse motor skills and attention ( $p < 0.001$ ). HTLV-1-asymptomatic carrier, possible HAM/TSP and HAM/TSP groups presented delay in P300 latency ( $p < 0.001$ ) and only HAM/TSP group delayed N200 latency ( $p < 0.001$ ). RAVL worse performance correlated with delay in N200 and P300 latency; longer time to execute NINE HOLE correlated with delay in P300 and N200 latencies. The study showed cognitive impairment of HTLV-1-seropositive individuals in different phases of neurologic disease characterized by deficits in verbal memory, learning, attention, auditory discrimination, and motor skills. P300 and NINE HOLE identified subclinical alterations related to cortical function in HTLV-1-infected individuals with HAM/TSP and also with apparently asymptomatic infection. **Conclusion:** The G-VEMP and P300 identified subclinical alterations related respectively to medullar and cortical function in individuals infected with HTLV -1 that were considered to be asymptomatic. Possibly, these individuals have a higher risk of developing HAM/TSP as compared to HTLV-1-infected individuals with normal neurocognitive and electrophysiological assessment.

**Key words:** Human T-lymphotropic virus 1. Galvanic vestibular stimulation. Vestibular evoked myogenic potential. P300. Cognition. Central auditory processing. Neuropsychological test.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Áreas endêmicas para o HTLV-1 no mundo .....	20
Figura 2 – Respostas eletromiográficas evocadas em resposta ao estímulo vestibular e captadas no músculo soleus bilateralmente .....	24
Figura 3 – Propriedades dos potenciais relacionados a evento .....	28
Figura 4 – Fluxograma da pesquisa .....	35
Figura 5 – Exemplo do registro do G-VEMP .....	39
Figura 6 – Exemplo do registro do P300 .....	42

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Critérios para os níveis de definição diagnóstica da Mielopatia associada ao HTLV-1/ paraparesia espástica tropical (HAM/TSP) .....	22
Quadro 2 – Descrição geral das características da posição do paciente, estímulo e captação do G-VEMP .....	38
Quadro 3 – Descrição geral das características da posição do paciente, estímulo e captação do P-300 .....	38
Quadro 4 – Descrição dos testes neuropsicológicos utilizados no estudo com a respectiva habilidade avaliada. ....	43

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

AD	Anodo Direito
AE	Anodo Esquerdo
ATLL	Leucemia/ Linfoma de células T do adulto
A-VEMP	Potencial evocado miogênico vestibular com estímulo auditivo
AVE	Acidente Vascular Encefálico
CD	Catodo Direito
CE	Catodo Esquerdo
CEP	Comitê de Ética em Pesquisas
CL	Curta latência
COEP	Comitê de Ética em Pesquisas da UFMG
dB	decibel
<i>DNA</i>	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
DP	Desvio Padrão
EDSS	Escala de Incapacidade Funcional Ampliada
<i>ELISA</i>	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EMG	Eletromiografia
EVG	Estimulação Vestibular Galvânica
<i>FAB</i>	<i>Frontal Assessment Battery</i>
FC	Frequência cardíaca
G1	Grupo controle, sem a infecção pelo HTLV-1
G2	Grupo com a infecção pelo HTLV-1 assintomático
G3	Grupo com a infecção pelo HTLV-1 com possível HAM/TSP
G4	Grupo com a infecção pelo HTLV-1 com HAM/TSP
GDS	Escala de depressão geriátrica
GIPH	Grupo Interdisciplinar de Pesquisas em HTLV
HAM/TSP	Mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical
<i>HAM/TSP</i>	<i>HTLV-1 associated myelopathy/ tropical spastic paraparesis</i>
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HTLV-1	Vírus Linfotrófico Humano de Células T tipo 1
<i>HTLV-1</i>	<i>HumanT-cell lymphotropic virus type 1</i>
Hz	hertz
IHDS	<i>International HIV Dementia Scale</i>

LCR	Líquido Cefalorraquidiano
M	Média
ML	Média latência
ML	<i>Medium-latency</i>
ms	milissegundos
mA	miliampère
N	Negativo
n	Número de participantes
NA	Nível de Audição
NINE HOLE	<i>Nine Hole-Peg Test Rolyan® 9-Hole Peg Test Kit – 9-PnB</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
p	Probabilidade de significância
P	Positivo
PAS	Pressão arterial sistólica
PAD	Pressão arterial diastólica
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PEALL	Potenciais auditivos evocados de longa latência
PEATE	Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico
G-VEMP	Potencial Evocado Miogênico Vestibular com estimulação Galvânica
G-VEMP	Vestibular evoked myogenic potential with galvanic stimulation
RAVEN	Matrizes progressivas coloridas de RAVEN
RAVLT	<i>Rey Auditory Verbal Learning Test</i>
ROC	Curva de características de operação do receptor
SL	<i>Short-latency</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TN-LIN	Teste de Nomeação do Laboratório de Investigações
V	volts
VDRL	<i>Venereal Disease Research Laboratory</i>
VEMP-A	Potencial evocado miogênico vestibular com estímulo auditivo
WB	<i>Western Blot</i>
$\Omega$	ohm
$\mu$	micro

## SUMÁRIO

CONSIDERAÇÕES INICIAIS .....	16
1 INTRODUÇÃO.....	18
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	20
2.1 Vírus linfotrópico humano de células T-tipo 1 .....	20
2.2 Estimulação vestibular galvânica (EVG) com captação de resposta eletromiográfica em membros inferiores .....	23
2.3 Avaliação medular e HTLV-1 .....	25
2.4 Potenciais evocados auditivos de longa latência .....	26
2.5 Avaliação da cognição e infecção pelo HTLV-1 .....	28
3 OBJETIVOS.....	30
3.1 Objetivo geral .....	30
3.2 Objetivos específicos .....	30
3.3 Hipótese a testar.....	30
4 METODOLOGIA.....	31
4.1 Desenho do estudo .....	31
4.2 Aspectos éticos .....	31
4.3 Tamanho amostral .....	31
4.4 Participantes do estudo .....	32
4.5 Critérios de inclusão e exclusão .....	32
4.6 Fluxograma .....	34
4.7 Etapas do estudo .....	36
4.7.1 Avaliação inicial .....	36
4.7.2 Avaliação da resposta à estimulação vestibular galvânica com captação da resposta eletromiográfica em membros inferiores.....	37
4.7.3 Avaliação da resposta auditiva evocada de longa latência .....	40
4.7.4 Avaliação neuropsicológica.....	43
4.7.5 Análise estatística dos dados .....	46
5 RESULTADOS .....	47
5.1 ARTIGO 1: Vestibular evoked myogenic potential triggered by galvanic vestibular stimulation identify subclinical alterations in spinal cord in HTLV-1 infection.....	47

5.2 ARTIGO 2: HTLV-1-associated myelopathy/ tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) causes an early cognitive impairment .....	65
6 CONCLUSÕES .....	92
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	93
REFERÊNCIAS .....	94
APÊNDICE A: Termo de consentimento livre e esclarecido .....	104
APÊNDICE B: Protocolo de pesquisa .....	106
ANEXO A: Artigo publicado .....	111
ANEXO B: Certificado de excelência em fonoaudiologia - Outubro/2015 .....	117
ANEXO C: Certificado de excelência em fonoaudiologia - Maio/2015 .....	118
ANEXO D: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisas da UFMG .....	119
ANEXO E: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hemominas.....	121
ANEXO F: Escala EDSS .....	123
ANEXO G: Escala OSAME .....	125
ANEXO H: Escala GDS .....	126

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A presente pesquisa sobre o HTLV-1 foi desenvolvida no Programa de Pós-graduação em Infectologia e Medicina Tropical. A proposta deste estudo surgiu como consequência de trabalhos desenvolvidos no contexto do Grupo Interdisciplinar de Pesquisas em HTLV (GIPH), do qual faço parte desde 2009, quando fui aluna de iniciação científica. Durante esse período, acompanhei e auxiliei no desenvolvimento de projetos de pesquisas relacionados ao HTLV-1 que resultaram em publicações (STARLING et al., 2013; STARLING et al., 2015).

As pesquisas das quais participei durante a iniciação científica me permitiram observar que manifestações otoneurológicas eram frequentes nos indivíduos infectados pelo HTLV-1. Esse fato aliado à possibilidade de encontrar novos conhecimentos sobre a infecção pelo HTLV-1 motivou-me a desenvolver o projeto de mestrado (LABANCA, 2012). Os resultados foram publicados no artigo intitulado “*Electrophysiological analysis shows dizziness as the first symptom in Human T Cell Lymphotropic Virus Type-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis (HAM/TSP)*” (ANEXO A).

Durante os meus estudos de mestrado, observei alterações subclínicas na medula cervical em indivíduos infectados pelo HTLV-1 utilizando o exame eletrofisiológico Potencial Evocado Mio gênico Vestibular (VEMP) com estímulo auditivo. No entanto, essa modalidade de VEMP testa apenas a medula cervical e sabe-se que a doença neurológica associada ao HTLV-1 compromete todo o neuroeixo, com ênfase na medula tóraco-lombar.

Devido a isso, eu tinha em vista testar a medula tóraco-lombar de indivíduos infectados pelo HTLV-1 com a finalidade de obter um diagnóstico precoce da HAM/TSP e este foi um dos objetivos do meu doutorado. Para isso, utilizei como instrumento de teste o VEMP com estimulação Galvânica (G-VEMP) e captação da resposta eletromiográfica em membros inferiores. Os resultados preliminares desse estudo foram apresentados no IX Congresso Internacional de Fonoaudiologia, Salvador, Outubro / 2015 e recebeu o prêmio Excelência em Fonoaudiologia (ANEXO B).

Além da proposta de examinar a medula tóraco-lombar dos indivíduos infectados pelo HTLV-1, como avaliação complementar, o meu projeto de doutorado propôs a avaliação de respostas cognitivas por meio de testes neuropsicológicos e potenciais evocados auditivos de longa latência. Essa proposta surgiu a partir da análise de estudos que têm demonstrado que a lesão neuronal associada ao HTLV-1 não se restringe à medula (SILVA et al., 2003;

CRAVOIS et al., 2000), como inicialmente estabelecido, mas pode também comprometer o córtex, com repercussões na cognição. Dessa forma, considerei que a avaliação cognitiva complementar a avaliação medular. Os resultados da avaliação neuropsicológica e dos potenciais evocados auditivos de longa latência foram apresentados no 2º Congresso de Fonoaudiologia da Faculdade de Medicina da UFMG e recebeu o prêmio Excelência em Fonoaudiologia (ANEXO C).

Eu acredito que o presente trabalho intitulado “Potencial evocado miogênico vestibular por estímulo galvânico e potenciais evocados auditivos de longa latência na avaliação da mielopatia associada ao HTLV-1” contribui para o entendimento do acometimento medular e também cortical de indivíduos com a infecção pelo HTLV-1, além de apontar possíveis marcadores de identificação precoce de evolução para mielopatia.

Início o volume com uma breve introdução aos temas propostos, seguida de uma revisão da literatura, os objetivos e a metodologia. Os resultados e a discussão estão inseridos em dois diferentes artigos. O primeiro artigo apresenta os resultados da avaliação da resposta medular medida pelo potencial evocado miogênico vestibular com estimulação galvânica, e o segundo aborda a avaliação neuropsicológica e eletrofisiológica relacionada à cognição. Finalmente, a tese expõe as conclusões, considerações finais, referências bibliográficas e os anexos e apêndices. Além disso, essa tese possui duas versões: a primeira escrita em português, e a segunda escrita em inglês. As partes referentes aos artigos, referência bibliográfica, anexos e apêndices são comuns às duas versões e por isso estão apresentadas apenas na versão em português.

A estrutura do volume seguiu a Resolução nº 02/2013, de 18 de setembro de 2013, que regulamenta o formato dos trabalhos finais, estabelecendo condições para a marcação da defesa de teses e dissertações do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da UFMG.

## 1 INTRODUÇÃO

A prevalência global da infecção pelo Vírus Linfotrófico Humano de Células T tipo 1 (HTLV-1) é variável. Estudos em bancos de sangue demonstraram que na Europa a prevalência de infecção pelo HTLV-1 é mais baixa, em média 0,5 a cada 10.000 doadores (LAPERCHE; WORMS; PILLONEL, 2009); na Ásia a área de maior prevalência é no Japão, com, em média, 128 a cada 10.000 doadores (IWANAGA et al., 2009); na América, o Brasil é o país com o maior número absoluto de casos, com prevalência de 48 a cada 10.000 doadores de sangue, sendo considerado um país de média endemicidade (CATALAN-SOARES; CARNEIRO-PROIETTI; PROIETTI, 2003), embora existam áreas consideradas de elevada endemicidade, como, por exemplo, as cidades de Santos, Salvador e do Rio de Janeiro e áreas de baixa endemicidade como, por exemplo, a região sul do Brasil (CATALAN-SOARES; CARNEIRO-PROIETTI; PROIETTI, 2003).

Uma das consequências da infecção pelo HTLV-1 é a síndrome inflamatória conhecida como mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP) (RIBAS; MELO, 2002). Na HAM/TSP o sítio de maior acometimento é a medula torácica inferior, embora todo o neuroeixo possa estar envolvido (CERVILLA; CARTIER; GARCÍA, 2006). A medula cervical está comprometida em frequência maior do que previamente suposto, inclusive com manifestações clínicas associadas (FELIPE et al., 2012; LABANCA et al., 2015). Além disso, há estudos que sugerem a ocorrência de alterações inflamatórias simultaneamente em todo sistema nervoso central, podendo ser observadas no cerebelo, no cérebro e no tronco cerebral (IWASAKI, 1993; OGATA et al., 1993; YATA et al., 2004; CERVILLA; CARTIER; GARCÍA., 2006). Desse modo, a HAM/TSP tem se mostrado como uma doença que agrega várias estruturas do Sistema Nervoso Central (SNC) (FERRAZ et al., 1997; KIRA et al., 1988).

Embora ainda não haja tratamento contra o vírus, conhecer as alterações no SNC associadas aos diferentes níveis de progressão da infecção pelo HTLV-1 é muito importante para uma melhor compreensão dos mecanismos do dano neural causado pelo vírus, contribuindo para futuras abordagens terapêuticas. Além disso, a busca de exames que funcionem como marcadores da identificação precoce das doenças associadas à infecção é importante para subsidiar a escolha do melhor momento para intervenção terapêutica, como, por exemplo, na pulso terapia endovenosa com corticoides (BUELL et al., 2016).

Em relação à avaliação medular, o potencial evocado miogênico vestibular com estimulação galvânica (G-VEMP) e captação da resposta eletromiográfica em membros

inferiores oferece informações sobre o trato vestibuloespinal, o qual se estende até a medula lombar (ILES; ALI; SAVIC, 2004; LIECHTI et al., 2008; WATSON; COLEBATCH, 1998). O estímulo galvânico apresenta aplicabilidade clínica bem definida para esse fim e o teste pode auxiliar na identificação de possível alteração medular associada ao HTLV-1 (FELIPE et al., 2012; MATOS-CUNHA et al., 2013). Estudo piloto realizado em pacientes assintomáticos e pacientes com HAM/TSP demonstrou alterações em pacientes com HAM/TSP e assintomáticos, indicando possível acometimento medular (MATOS-CUNHA et al., 2013).

Em relação à avaliação cortical, estudo realizado com pacientes assintomáticos para o HTLV-1 e pacientes com HAM/TSP demonstrou alterações nas avaliações cognitivas tanto nos pacientes assintomáticos quanto naqueles com HAM/TSP (SILVA et al., 2003). Tal achado demonstra a importância de metodologias eficazes para identificação de alterações cognitivas associadas à infecção pelo HTLV-1 em níveis iniciais da doença. Os potenciais evocados auditivos de longa latência (P300, N200, P160 e N100) e avaliações neuropsicológicas permitem medir a resposta cognitiva e conseqüentemente auxiliam a avaliação de estruturas corticais (MCPHERSON, 1996).

Dessa forma, este trabalho objetiva estudar o aspecto funcional do SNC de indivíduos infectados pelo HTLV-1 em diferentes níveis de progressão da doença neurológica, com a avaliação da medula por meio do G-VEMP, e da cognição utilizando os potenciais evocados auditivos de longa latência e os testes neuropsicológicos. O estudo poderá contribuir para a compreensão do comprometimento medular e cortical em pacientes com a infecção pelo HTLV-1, além de apontar possíveis marcadores de identificação precoce da doença.

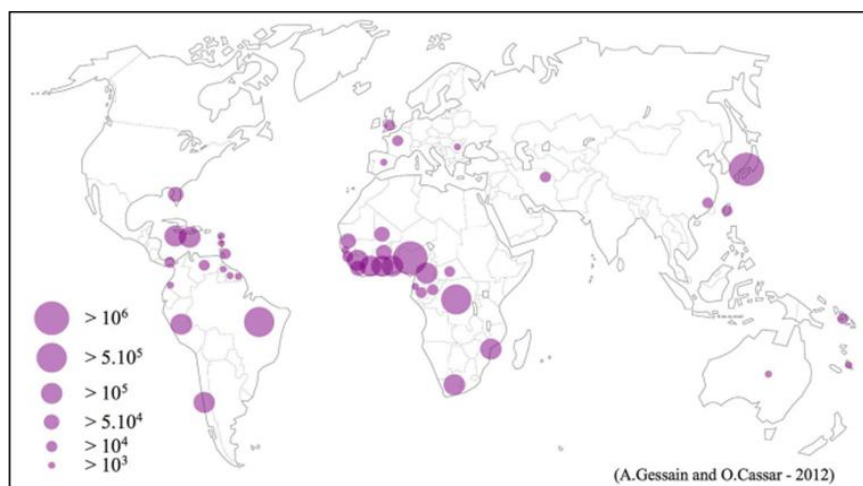
## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Vírus linfotrófico humano de células T-tipo 1

No ano de 1979, foi descrito o primeiro retrovírus humano, o 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) e na etiologia da HAM/TSP (TAYLOR; MATSUOKA, 2005). Estima-se que 15 a 20 milhões de pessoas no mundo estejam infectadas pelo HTLV-1 (YOSHIDA; JEANG, 2005). 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 do país, a prevalência é variável, sendo de 0,08% nas regiões norte e sul do país (Manaus e Florianópolis); 0,33% nas regiões nordeste e sudeste (Recife e Rio de Janeiro) e 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). A Figura 1 mostra as áreas endêmicas do HTLV-1 no mundo.

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



Fonte: GESSAIN; CASSAR., 2012.

A transmissão do HTLV-1 se dá por via transplacentária, durante o parto, a amamentação e a relação sexual, pela transfusão de sangue, pelos 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 de sintomatologia é longo (BORDUCCHI; KERBAUY; OLIVEIRA, 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 mielopatia associada ao HTLV-1/HAM/TSP e outros 2 a 6% desenvolverão ATLL (YAMANO et al., 2002; ORLANDI et al., 2003).

Sabe-se que diferentes fatores estão envolvidos na interação vírus/hospedeiro e o modo como essa interação se desenvolve determinará o estado do portador como indivíduo assintomático, paciente sofrendo de doença hematológica (ATLL) ou inflamatória (HAM/TSP) (ROMANELLI; CARAMELLI; CARNEIRO-PROIETTI, 2010).

O quadro de paraparesia surge gradualmente com sinais de envolvimento do trato piramidal e progressão lenta e irreversível, contudo, uma minoria pode apresentar uma progressão rápida dos sintomas neurológicos (MILAGRES et al., 2002). Os sinais e sintomas neurológicos mais frequentemente encontrados são espasticidade (97%), hiperreflexia (95%), parestesia em membros inferiores (90%), clonus e/ou sinal de Babinski (93%), queixas urinárias (82%), dor lombar (79%), constipação (78%), sensibilidade vibratória diminuída (62%) e sinal de Hoffmann (41%) (GOTUZZO et al., 2000).

A HAM/TSP acomete mais mulheres do que os homens numa proporção de 8:3, com início dos sintomas na quarta década de vida (GOTUZZO et al., 2000). 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;

CARTIER; GARCÍA, 2006). Outros estudos sugerem a ocorrência de alterações inflamatórias simultaneamente em todo o SNC (IWASAKI, 1993). A patogênese da HAM/TSP ainda não está completamente esclarecida, mas achados histopatológicos mostram infiltração linfocitária perivascular na medula espinhal composta principalmente de linfócitos T-CD4+ na doença inicial e linfócitos T-CD8+ na doença avançada, seguida por uma fase atrófica com menos celularidade (TAYLOR; MATSUOKA., 2005).

Castro-Costa e outros (2006) propuseram um modelo modificado para o diagnóstico e a classificação da HAM/TSP baseado em uma revisão da literatura sobre o assunto 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/ paraparesia espástica tropical (HAM/TSP)

<p><b><u>Definido:</u></b></p> <p>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;</p> <p>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;</p> <p>Exclusão de outras condições que se assemelham à HAM/TSP.</p>
<p><b><u>Provável:</u></b></p> <p>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;</p> <p>Presença de anticorpos anti-HTLV-1 no soro e LCR, confirmados por WB e/ou detecção do DNA proviral no sangue e/ou LCR;</p> <p>Exclusão de outras condições que se assemelham à HAM/TSP.</p>
<p><b><u>Possível:</u></b></p> <p>Apresentação clínica completa ou incompleta;</p> <p>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;</p> <p>Não exclusão de outras condições que se assemelham à HAM/TSP.</p>

Fonte: CASTRO-COSTA et al., 2006

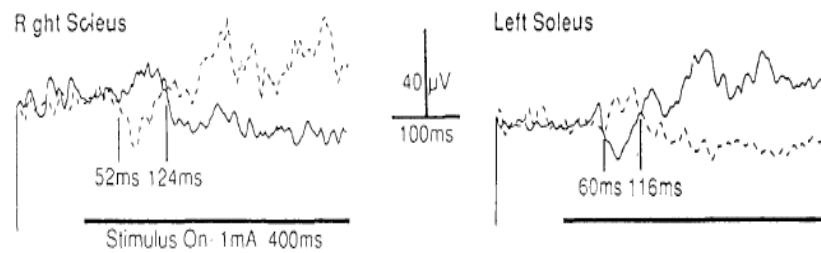
## **2.2 Estimulação vestibular galvânica (EVG) com captação de resposta eletromiográfica em membros inferiores**

A EVG é um método experimental que tem sido utilizado para esclarecer a fisiologia do sistema vestibular (FITZPATRICK; DAY, 2004). A EVG e a captação da resposta eletromiográfica (EMG) em membros inferiores constituem o exame potencial evocado miogênico vestibular com estimulação galvânica (G-VEMP).

A EVG consiste no posicionamento de eletrodos nos processos mastoides ligados a uma bateria de cerca de seis volts (V) ou mais, produzindo estímulo por meio de corrente galvânica controlada em torno de um miliampère (mA). Geralmente, o estímulo é oferecido em modo bilateral e bipolar, ou seja, um eletrodo anodo é colocado atrás de uma orelha e um eletrodo catodo é posicionado atrás da outra orelha. Outras configurações também são possíveis, mas menos utilizadas, como a bilateral monopolar, e a unilateral monopolar. Nas configurações monopolares, o estímulo é dado utilizando um eletrodo catodo (ou anodo) e um eletrodo neutro de referência posicionado em qualquer local próximo ao eletrodo polarizado, por exemplo, sobre o processo espinhoso da sétima vértebra cervical (FITZPATRICK; DAY, 2004). A corrente é oferecida durante cerca de um segundo, causando no indivíduo a percepção de movimento ilusório (FITZPATRICK; BURKE; GANDEVIA., 1994). Se o indivíduo estiver em pé ou assentado, 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 SNC interpreta a EVG como um movimento real do corpo, ativando mecanismos reflexos posturais compensatórios (DAY et al., 1997).

A EVG modula a atividade da eletromiografia (EMG) 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; ALI; SAVIC., 2004; CUNHA et al., 2013). As respostas EMG nesses músculos seguem um padrão em indivíduos normais (Figura 2). Em relação à captação da resposta em membro inferiores, inicialmente há uma resposta de curta latência (CL), que começa aproximadamente 50ms após o estímulo, seguida por uma resposta de média latência (ML) com polaridade oposta, iniciada cerca de 110ms após o estímulo (FITZPATRICK; DAY, 2004).

Figura 2 – Respostas eletromiográficas evocadas em resposta ao estímulo vestibular e captadas no músculo soleus bilateralmente



Fonte: BRITTON et al., 1993

As vias das respostas evocadas pelo estímulo galvânico ainda não estão completamente elucidadas. Admite-se que a EVG age primariamente na região pré-sináptica dos nervos aferentes vestibulares nos órgãos otolíticos e nos 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). A resposta de CL e a resposta de ML parecem ter origens distintas e seguir por vias diferentes. Alguns autores consideram a CL 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; DAY; FITZPATRICK, 2005; LIECHTI et al., 2008). Outros pesquisadores defendem o contrário (WELGAMPOLA; COLEBATCH, 2002; COHEN; YAKUSHIN; HOLSTEIN et al., 2012). De todo modo, essas duas componentes da onda do G-VEMP (SL e ML) mostram evidências de, no mínimo, algum grau de independência: são sempre em direções opostas, e a CL não se 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 DAY; FITZPATRICK, 2005). Além disso, a ML mais atrasada em membros superiores que em membros inferiores sugere um processamento do sinal vestibular que utiliza informações de outras fontes, o que não ocorre na CL (BRITTON et al., 1993). A CL torna-se mais lenta com a idade, mas não a ML (BRITTON et al., 1993). Já a amplitude da ML, e não da CL, parece estar aumentada entre as mulheres em relação aos homens (WELGAMPOLA; COLEBATCH, 2002).

A interferência de informações somatossensoriais na intensidade das respostas EMG à EVG está claramente demonstrada em trabalhos que experimentaram diferentes condições sensoriais durante a EVG. Em indivíduos com redução de informações proprioceptivas por

resfriamento dos pés (MUISE et al., 2012), a amplitude de ML aumentou. Ao contrário, a amplitude de ML foi reduzida com a disponibilidade de apoio com um dedo da mão (BRITTON et al., 1993). Dessa maneira, o exame avalia tanto vias eferentes quanto aferentes da medula espinhal.

Autores têm apontado para a validade da EVG com captação de resposta eletromiográfica em membros inferiores como uma ferramenta suplementar ao exame neurológico para diagnóstico da localização e do grau da lesão medular em sujeitos com trauma de medula (ILES; ALI; SAVIC, 2004; LIECHTI et al., 2008; WATSON; COLEBACH, 1998). Nas lesões medulares, estudo demonstrou que a EVG tem relevante valor para o diagnóstico do nível e da densidade da lesão. As respostas à EVG dos pacientes com comprometimento de medula mais grave apresentavam amplitudes menores e as latências mais longas se comparadas às respostas dos indivíduos com lesões menos graves e dos indivíduos normais (ILES; ALI; SAVIC, 2004). Outros estudos reforçaram o uso da EVG como ferramenta suplementar ao exame neurológico em sujeitos com trauma na medula, demonstrando alterações nas respostas vestibuloespinais e dificuldade na estabilidade postural (ILES; ALI; SAVIC, 2004). A mensuração das respostas da EVG fornece informações importantes acerca do nível e da densidade das lesões de medula (ILES; ALI; SAVIC, 2004; LIECHTI et al., 2008; WATSON; COLEBACH, 1998).

### **2.3 Avaliação medular em indivíduos infectados pelo HTLV-1**

Uma das consequências da infecção pelo HTLV-1 é a doença inflamatória crônica que afeta a medula (RIBAS; MELO, 2002). Os estudos histopatológicos têm demonstrado lesões na via motora corticoespinhal dos segmentos lombar, dorsal e cervical (UMEHARA et al., 2004).

A avaliação medular pode ser feita por meio de diferentes métodos, entre eles, o método neurofisiológico (ANDRADE, 2005; FELIPE et al., 2008; CAPORALI et al., 2016) e o de imagem (KIRA, 1988). Os estudos de neurofisiologia alteram-se de acordo com o estágio evolutivo da doença. O potencial evocado motor diagnostica danos ao trato corticoespinhal, indicando a região medular mais acometida. O potencial evocado somatossensitivo revela o comprometimento do funículo posterior. A eletroneuromiografia avalia o envolvimento do sistema nervoso periférico, identificando os padrões axonal e/ou desmielinizante. Entre os métodos de imagem, a ressonância nuclear magnética destaca-se na investigação de lesões

cerebrais e medulares e auxilia no diagnóstico diferencial com outras doenças (fraturas, hérnia de disco, neoplasias, mielorradiculopatia da esquistossomose) (RIBAS; MELO, 2002).

O uso dos testes neurofisiológicos (ANDRADE, 2005; FELIPE et al, 2008; CAPORALI et al., 2016) e de exames de imagem (KIRA, 1988) auxiliam na verificação do grau de comprometimento medular. Nos estágios iniciais da HAM/TSP, exames de imagem não definem a presença da mielopatia, embora os pacientes tenham sinais e sintomas da doença do neurônio motor superior (MORGAN et al., 2007). Nessa fase, anormalidades funcionais da medula espinhal podem ser demonstradas por meio de testes neurofisiológicos (FELIPE et al., 2008). Estudo transversal encontrou potencial evocado miogênico vestibular com respostas eliciadas por estimulação auditiva (A-VEMP) alterado em mais da metade dos pacientes com HTLV-1 que possuíam queixa de dificuldade para caminhar com ou sem diagnóstico de HAM/TSP, mostrando que alterações na condução neural da região superior da medula espinhal parecem ocorrer mais nesses indivíduos (FELIPE et al., 2008). Outro estudo avaliou 60 pessoas sem a infecção pelo HTLV-1 e 60 com a infecção pelo HTLV-1 e analisou a relação entre os resultados do A-VEMP e a queixa de tontura (LABANCA et al., 2015). Os resultados indicaram que danos na via vestibuloespinhal podem ocorrer nas fases iniciais da HAM/TSP e a queixa de tontura merece atenção, pois pode sinalizar alterações subclínicas (LABANCA et al., 2015).

Estudo prospectivo acompanhou e avaliou por meio do A-VEMP os pacientes infectados pelo HTLV-1 em diferentes níveis de progressão da doença e identificou que o A-VEMP como um teste valioso para a investigação do comprometimento da medula cervical na HAM/TSP (FELIPE, 2012).

Com o objetivo analisar todo o neuroeixo por meio de métodos eletrofisiológicos, um estudo transversal avaliou pacientes com a infecção pelo HTLV-1 por meio do G-VEMP e demonstrou alteração caracterizada pelo aumento de latência da resposta em 30% das pessoas clinicamente assintomáticas para infecção. Esse estudo contribuiu para demonstrar que o G-VEMP pode auxiliar na identificação de acometimento subclínico na infecção pelo HTLV-1 (MATOS-CUNHA et al., 2013).

#### **2.4 Potenciais evocados auditivos de longa latência**

Os potenciais evocados auditivos correspondem ao sinal elétrico gerado pelo sistema auditivo em resposta ao estímulo sonoro (HALL, 2007). As respostas auditivas evocadas são

classificadas de acordo com o período de latência do surgimento do potencial, medida em milissegundos (ms) (HALL, 2007). Dessa forma, as respostas auditivas evocadas podem ser de curta, média ou longa latência (MCPHERSON, 1996).

Os potenciais auditivos evocados de longa latência (PEALL) são respostas situadas 50ms após o estímulo (MCPHERSON, 1996) e podem estar relacionados às características do estímulo, como os potenciais P60 (P1), N100 (N1) e P160 (P2) e também ao processo de cognição, percepção ou atenção, como é o caso do N200 (N2) e P300 (P3) (HALL, 2007).

O P300, assim denominado por surgir em torno de 300ms após apresentação do estímulo, é um potencial de longa latência relacionado principalmente à atenção e ao reconhecimento do estímulo (MCPHERSON, 1996). Para que haja a formação desse potencial, o indivíduo deve processar algum estímulo não esperado, em termos cognitivos, que pode ser visto como uma manifestação eletrofisiológica da estratégia utilizada pelo SNC numa tarefa que exija atenção, sendo conhecido como potencial cognitivo (HALL, 2007).

No chamado paradigma alvo comum, um estímulo frequente e previsível (sinal frequente) gera um tipo de resposta auditiva tardia, enquanto o estímulo infrequente (alvo) e imprevisível (apresentado aleatoriamente) e diferente do primeiro sinal produz uma onda positiva cerca de 300ms após o estímulo.

Os tipos de sinais auditivos frequente (padrão) e raro (alvo) são distinguidos através de diferentes frequências (por exemplo, 1.000Hz e 2.000Hz, respectivamente). O P300 pode ser registrado em indivíduos normais entre 250 e 400ms (HALL, 2007). A presença da resposta P300 depende da detecção de uma diferença entre sinais frequentes e raros, ou seja, de um processo cognitivo que envolve a discriminação das características do som, o processamento auditivo temporal, a atenção e a memória (HALL, 2007). As alterações nos limiares auditivos nas duas frequências devem ser consideradas na interpretação (MCPHERSON, 1996).

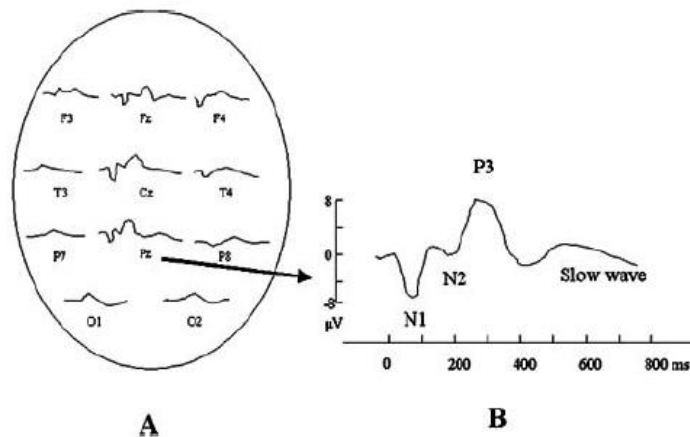
Diversas regiões do cérebro contribuem para a geração do P300, incluindo estruturas subcorticais, como o hipocampo e outros centros dentro do sistema límbico e do tálamo, regiões auditivas do córtex e o lobo frontal (HALL, 2007).

Potenciais relacionados a eventos têm sido utilizados em psiquiatria e nos casos de distúrbios neurológicos como marcadores de várias funções cognitivas (POLICH, 1986; LAI et al., 2010). Em particular, o potencial P300 tem sido utilizado no estudo do envelhecimento e das demências porque o componente P300 é de fácil observação e reflete o processo de atenção e memória (POLICH, 1986; STENKLEV et al., 2004).

Os potenciais relacionados a eventos resultantes de uma média de apresentações de estímulos repetidos variam em forma e amplitude em diferentes regiões de registro, que

forneem a indicação topográfica da localização da atividade cerebral subjacente (KATADA; SATO; OJIKI, 2004). A figura 3 sinaliza os dados de um paradigma auditivo excêntrico e mostra os potenciais evocados auditivos originados do estímulo alvo (Figura 3A e 3B). O eletrodo no qual as deflexões máximas são vistas para uma determinada parte da onda é selecionado para estudar a sequência temporal do processamento de eventos. As ondas são numeradas consecutivamente e prefixadas para N (negativo) ou P (positivo) (KATADA SATO; OJIKI, 2004). A linha de base é definida pelo nível de tensão de um eletrodo de referência que, de um modo geral, é colocado nos lóbulos das orelhas.

Figura 3 – Propriedades dos potenciais relacionados a evento



Fonte: KATADA; SATO; OJIKI., 2004

Possivelmente a fonte geradora de P1 é a transição entre tálamo e córtex auditivo, de N1 o córtex auditivo supratemporal e de P2 o córtex auditivo supratemporal látero-frontal. N2 seria um potencial na faixa de transição, sendo originário do córtex auditivo supratemporal (MUNHOZ et al., 2000).

O P300 reflete o processo de cognição, de atenção e de memória e tem sido utilizado como marcador de várias funções cognitivas.

## 2.5 Avaliação da cognição em indivíduos infectados pelo HTLV-1

O interesse pelo estudo dos distúrbios cognitivos associados à infecção pelo HTLV-1 foi motivado após o aumento de descrições de anormalidades cerebrais identificadas por meio de imagem de ressonância nuclear magnética em pacientes com HAM/TSP (MATTSON et

al., 1987). Os estudos descrevem lesões na substância branca sugestivas de acometimento perivascular crônico, que em geral não ultrapassam 5 mm de diâmetro, apresentam forma ovalada e arredondada, e se distribuem na substância branca subcortical. Algumas são maiores que 5 mm e tendem à confluência com bordas indefinidas (CERVILLA; CARTIER; GARCÍA, 2006). O comprometimento resultante desses danos na substância branca costuma envolver atenção sustentada, memória episódica, habilidades visuoespaciais, transtornos neuropsiquiátricos e manifestações neurocomportamentais clinicamente significativas para o comprometimento cognitivo (FILLEEY, 1998). Estudos evidenciam que as lesões da substância branca dos pacientes com HAM/TSP são de alguma forma semelhantes às observadas em pessoas com esclerose múltipla (PUCCIONI-SOHLER; YAMANO; RIOS, 2007) ou em pessoas infectadas pelo HIV (SILVA, PINTA, MATAS, 2007).

No caso do HTLV-1 a maioria dos trabalhos publicados sobre distúrbios cognitivos na HAM/TSP são relatos de casos ou série de casos e descrevem diferentes tipos de comprometimento cognitivo, como lentidão psicomotora, déficits de atenção e memória (CARTIER; GORMAZ, 1999; CHAMPS et al., 2013; ZORZI et al., 2010).

Um dos trabalhos controlados envolvendo vários testes neuropsicológicos foi realizado em três grupos, pessoas assintomáticas, com HAM/TSP e controle, e indicou comprometimento cognitivo leve caracterizado por deficiência nas seguintes áreas: velocidade psicomotora, fluência verbal, memória visual e verbal, atenção seletiva e alternativa (SILVA et al., 2003). Nesse estudo os autores verificaram que o comprometimento cognitivo não foi exclusivo entre aqueles com HAM/TSP, sendo encontradas alterações também entre os assintomáticos (SILVA et al., 2003).

Estudos da cognição envolvendo potenciais evocados na população com a infecção pelo HTLV-1 são escassos. Um estudo avaliou pacientes com HAM/TSP e controles por meio de diferentes potenciais evocados, entre eles os potenciais evocados auditivos N100, P160, N200 e P300 e encontrou latência do P300 significativamente aumentada no grupo HAM/TSP quando comparado ao grupo sem a infecção pelo HTLV-1 (FUKUSHIMA et al., 1994). Esses achados podem sugerir possível comprometimento cognitivo na HAM/TSP.

A explicação para as alterações cognitivas associadas à infecção pelo HTLV-1 não está totalmente esclarecida, mas estudos sugerem que células de defesa infectadas pelo HTLV-1 rompem a barreira hematoencefálica e causam inflamação no nível do SNC (CAVROIS et al, 2000). Dessa forma, estudos que avaliem a HAM/TSP em termos de fisiopatologia e de eletrofisiologia agregam conhecimento.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

- Avaliar, do ponto de vista funcional, a resposta medular relacionada à postura e a cognição em indivíduos infectados pelo HTLV-1 em diferentes níveis de progressão da doença neurológica.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Descrever e comparar as respostas do G-VEMP entre indivíduos infectados pelo HTLV-1 assintomáticos, com possível HAM/TSP, com HAM/TSP definida e não infectados pelo HTLV-1.

- Avaliar a sensibilidade e a especificidade do G-VEMP na identificação de alterações causadas pelo HTLV-1, utilizando como padrão ouro o exame clínico neurológico.

- Descrever e comparar as respostas dos potenciais evocados auditivos de longa latência P300, N200, P100 e N100 entre indivíduos infectados pelo HTLV-1 assintomáticos, com possível HAM/TSP, com HAM/TSP definida e não infectados pelo HTLV-1.

- Descrever e comparar os resultados dos testes neuropsicológicos entre indivíduos infectados pelo HTLV-1 assintomáticos, com possível HAM/TSP, com HAM/TSP definida e não infectados pelo HTLV-1.

- Correlacionar os resultados dos potenciais evocados auditivos de longa latência e desempenho nos testes neuropsicológicos entre indivíduos infectados pelo HTLV-1.

#### **3.3 Hipótese a testar**

A infecção pelo HTLV-1 causa alterações subclínicas no córtex e na medula.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo observacional comparativo de corte transversal. A resposta auditiva de longa latência e a resposta eletromiográfica à estimulação vestibular galvânica foram avaliadas em participantes com a infecção pelo HTLV-1 em diferentes níveis de progressão da doença neurológica e comparados com um grupo de participantes saudáveis, sem a infecção (grupo controle).

### 4.2 Aspectos éticos

A pesquisa foi conduzida de acordo com as determinações estabelecidas pelo Conselho Nacional de Saúde – RESOLUÇÃO N°466, de 12 de dezembro de 2012. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas da UFMG (COEP), números 0732/12 e 266/05 (ANEXO D) e pelo Comitê de Ética em Pesquisas da Fundação Hemominas (CEP), números 342 e 131 (ANEXO E). Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido – TCLE (APÊNDICE A).

### 4.3 Tamanho amostral

Utilizou-se o software *G \* Power 3.1.9.2* (Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, Alemanha, 2007) para cálculo amostral. Como a resposta do potencial evocado auditivo de longa latência e a resposta eletromiográfica à estimulação vestibular galvânica diferem quanto à metodologia e aos resultados, optou-se pela realização de um cálculo para cada metodologia.

#### **- Potencial evocado miogênico vestibular com estimulação galvânica**

Para o cálculo do tamanho amostral da resposta eletromiográfica à estimulação vestibular galvânica utilizaram-se como referência a média e o desvio padrão dos pacientes com HAM/TSP, assintomáticos e controles publicados anteriormente (MATOS-CUNHA et

al., 2013), o poder considerado foi de 0,80 e erro  $\alpha$  de 0,05. O número final obtido por meio do cálculo foi de 22 participantes por grupo. Como o estudo de referência não incluía participantes com a infecção com possível HAM/TSP, optou-se por aumentar o número de participantes em cada grupo. O número final de participantes incluiu 45 sem a infecção pelo HTLV-1, 26 assintomáticos, 26 com possível HAM/TSP e 25 com HAM/TSP definida. O cálculo do tamanho amostral *post hoc* revelou poder de 81% e erro  $\alpha$  de 0,03.

#### **- Potencial evocado auditivo de longa latência**

Para o cálculo do tamanho amostral da resposta auditiva de longa latência, utilizou-se como referência a média e o desvio padrão do P300 dos pacientes com HAM/TSP e controle publicados anteriormente (FUKUSHIMA et al., 1994), o poder considerado foi de 0,80 e o erro  $\alpha$  de 0,05. O número final obtido por meio do cálculo foi de 19 participantes por grupo. Como o estudo de referência não incluía participantes com a infecção assintomáticos e com possível HAM/TSP, optou-se por aumentar o número de participantes em cada grupo. O número final de participantes incluiu 40 sem a infecção pelo HTLV-1, 27 assintomáticos, 26 com possível HAM/TSP e 20 com HAM/TSP definida. O cálculo do tamanho amostral *post hoc* revelou poder de 85% e erro  $\alpha$  de 0,02.

#### **4.4 Participantes do estudo**

Os participantes do estudo são oriundos da coorte do Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em HTLV-1 (GIPH) que acompanha ex-doadores de sangue infectados pelo HTLV do estado de Minas Gerais, Brasil, em uma coorte aberta, desde 1997. No momento da realização do presente estudo, a coorte era composta por 637 indivíduos infectados pelo HTLV-1 e 232 não infectados (doadores de sangue). Os indivíduos selecionados para o presente estudo foram convidados para a pesquisa no dia em que já estavam na Fundação Hemominas para doação de sangue ou para realizar as avaliações do GIPH. A coleta de dados foi realizada entre fevereiro de 2014 e dezembro de 2015.

#### **4.5 Critérios de inclusão e exclusão**

Foram incluídos no estudo indivíduos de 30 a 75 anos de idade, de ambos os

gêneros que assinaram o TCLE e compareceram às avaliações. Os grupos estudados foram:

**Grupo controle (G1):** composto por doadores de sangue da Fundação Hemominas com sorologia negativa para o HTLV-1 pelo teste ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) (RUDOLPH et al., 1993).

**Grupo com a infecção pelo HTLV-1:** composto por ex-doadores de sangue da Fundação Hemominas com soropositividade definida pelo teste ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) e confirmado por meio do WB (*Western Blot*) (HENEINE; KHABBAZ, 1992) ou testes moleculares (Reação em cadeia da polimerase - PCR) (HENEINE; KHABBAZ, 1992). Os participantes foram subdivididos em três subgrupos de acordo com o resultado da avaliação neurológica:

**Grupo assintomático (G2):** indivíduos sem sintomas clínicos de acordo com os critérios propostos por Castro-Costa et al., 2006, classificados conforme Escala de Incapacidade Funcional Ampliada adaptada (EDSS) (ANEXO F) e OSAME (ANEXO G) apresentando classificação zero em ambas as escalas (KURTZKE, 1983; OSAME, 1990).

**Grupo possível HAM/TSP (G3):** indivíduos com sintomas clínicos de acordo com os critérios propostos por Castro-Costa et al., 2006, classificados conforme Escala de Incapacidade Funcional Ampliada adaptada (EDSS) e OSAME apresentando classificação um a dois em pelo menos uma das escalas (KURTZKE, 1983; OSAME, 1990).

**Grupo HAM/TSP definida (G4):** indivíduos com sinais clínicos suficientes, de acordo com os critérios propostos por Castro-Costa et al., 2006, classificados conforme Escala de Incapacidade Funcional Ampliada adaptada (EDSS) e OSAME apresentando classificação a partir de dois em ambas as escalas (KURTZKE, 1983; OSAME, 1990).

Foram excluídos da pesquisa os indivíduos com documentação de sorologia positiva para vírus da imunodeficiência humana (HIV), vírus da hepatite B (HBV), vírus da hepatite C (HCV), sífilis e participantes com história de acidente vascular encefálico e epilepsia.

Para a realização do G-VEMP foram também excluídos os participantes com incapacidade de permanecer na posição do exame e participantes com episódios recorrentes de vertigem ou história de vestibulopatia periférica já diagnosticada previamente.

Para a realização da resposta auditiva de longa latência e a avaliação neuropsicológica foram também excluídos os participantes com perda auditiva e indício de depressão com escore maior que cinco na Escala de Depressão Geriátrica com 15 itens em todos os participantes do estudo (ANEXO F) (GDS) (CASTELO et al., 2010; ALMEIDA, 1999).

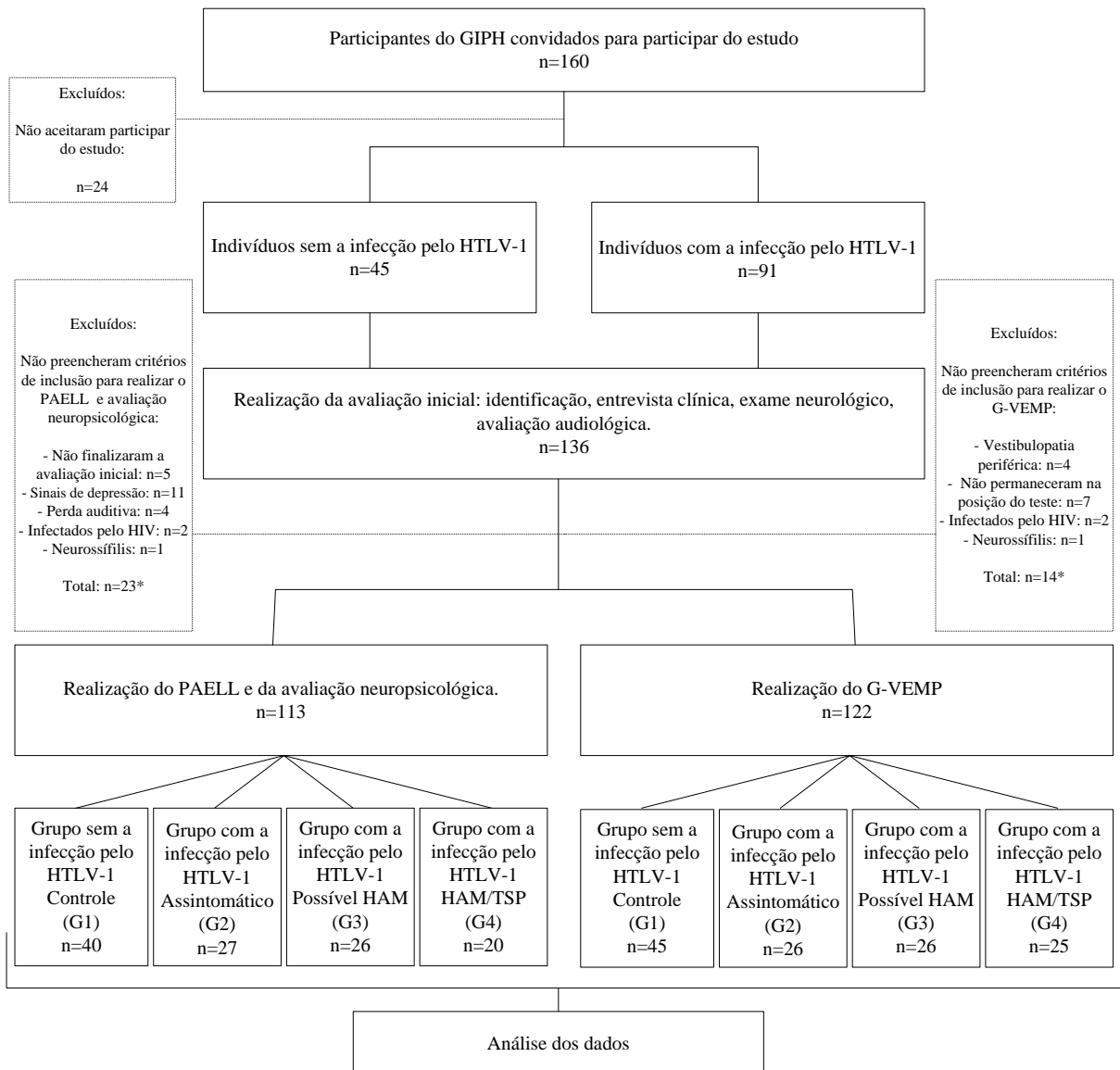
#### 4.6 Fluxograma

Dentre os participantes do GIPH, 160 foram convidados para participar do estudo. Desses, 67 eram soronegativos para o HTLV-1 e 93 soropositivos para o HTLV-1. Dentre os 67 soronegativos convidados, 22 recusaram participar do estudo alegando indisponibilidade de horários. Dentre os 93 soropositivos convidados, apenas 2 recusaram participar do estudo alegando dificuldade de comparecer ao local pelo fato de residir em município distante de Belo Horizonte (Figura 4).

Dessa forma, 136 indivíduos aceitaram participar do estudo e realizaram a avaliação inicial. Após essa avaliação inicial, 23 foram excluídos da análise da resposta auditiva de longa latência e da avaliação neuropsicológica: 5 controles não finalizaram a avaliação, 11 soropositivos apresentaram sinais de depressão com resultado na GDS superior a cinco pontos, 4 soropositivos apresentaram perda auditiva de grau moderado, 2 soropositivos apresentaram coinfeção pelo HIV e 1 com a infecção pelo HTLV-1 possuía história de meningite sífilítica com seqüela neurológica (Figura 4).

Além disso, após a avaliação inicial 14 foram excluídos da análise da resposta do potencial miogênico vestibular com estimulação galvânica: 7 soropositivos relataram história de vestibulopatia periférica nos últimos 6 meses, 7 com a infecção pelo HTLV-1 não permaneceram na posição do teste, 2 soropositivos apresentaram coinfeção pelo HIV e 1 com a infecção pelo HTLV-1 possuía história de meningite sífilítica com seqüela neurológica. A Figura 4 apresenta o fluxograma da pesquisa.

Figura 4 – Fluxograma da pesquisa



Legenda: GIPH = Grupo Interdisciplinar de Pesquisas em HTLV-1; n = número de sujeitos; PAELL = Potenciais auditivos evocados de longa latência; HIV = Vírus da imunodeficiência humana; HTLV-1 = Vírus Linfotrófico Humano de Células T tipo 1; G-VEMP = Potencial evocado miogênico vestibular com estimulação galvânica; G = grupo; \*Alguns participantes da fase inicial do estudo não preencheram os critérios de inclusão para realização do PAELL e testes neuropsicológicos e /ou G-VEMP.

## **4.7 Etapas do estudo**

As etapas do estudo foram: avaliação inicial (entrevista clínica, exame neurológico, avaliação audiológica), a avaliação da resposta à estimulação vestibular galvânica com captação da resposta eletromiográfica em membros inferiores, a avaliação da resposta auditiva evocada de longa latência e a avaliação neuropsicológica. O protocolo utilizado na pesquisa encontra-se em APÊNDICE B.

### **4.7.1 Avaliação inicial**

#### **- Entrevista clínica**

A entrevista clínica foi realizada por médica especialista em doenças infecciosas e consistiu na avaliação das variáveis demográficas (altura, idade, sexo), identificação de horas de sono na noite anterior à entrevista e dados de saúde geral, como medicamentos em uso, presença de tontura, dificuldade de caminhar, presença de AVE. Além disso, nessa etapa do estudo foi aplicada a Escala de Depressão Geriátrica (ANEXO F) (CASTELO et al., 2010; ALMEIDA, 1999).

#### **- Exame neurológico**

O exame neurológico foi realizado por neurologista e consistiu na avaliação dos nervos cranianos, sensibilidade, reflexo cutâneo abdominal, reflexo tendíneo patelar, reflexo tendíneo aquileu, força muscular, atrofia, marcha, coordenação e movimentos anormais. Com a finalidade de classificar os participantes do estudo com a infecção pelo HTLV-1 como assintomáticos, possível HAM/TSP e HAM/TSP definida o exame neurológico incluiu a aplicação da escala de incapacidade EDSS (ANEXO F) e OSAME (ANEXO G) (KURTZKE, 1983; OSAME, 1990).

#### **- Avaliação audiológica**

A avaliação consistiu na realização da inspeção do meato acústico externo, da audiometria tonal limiar por via aérea e por via óssea (REDONDO; LOPES, 1996) utilizando o equipamento AVS-500 (VibrasomLtda., São Bernardo do Campo, Brasil) e do potencial evocado auditivo de tronco encefálico com cliques (PEATE) a 90 dBNA utilizando o equipamento MASBE / ActPlus (ContronicLtda., Pelotas, Brasil).

#### **4.7.2 Avaliação da resposta à estimulação vestibular galvânica com captação da resposta eletromiográfica em membros inferiores**

A estimulação vestibular galvânica (EVG) com captação da resposta eletromiográfica (EMG) em membros inferiores constitui o exame Potencial Evocado Mioelétrico Vestibular com estímulo galvânico (G-VEMP). O equipamento para geração de estímulo e captação da resposta foi o modelo EvP4/ActPlus (Contronic Ltda., Pelotas, Brasil), um canal, conectado a um computador portátil alimentado por bateria, sem ligação à rede elétrica. A EVG utilizada foi caracterizada por uma corrente galvânica direta, monofásica e retangular, com intensidade de 2 mA e 400 ms de duração. A corrente bipolar foi aplicada sobre os processos mastoideais por meio de eletrodos de superfície autoadesivos circulares, com três centímetros de diâmetro (modelo CF3200-Valutrode, Axelgaard, Fallbrook, CA, Estados Unidos da América). Para a estimulação binaural transmastóidea, duas configurações de polaridades da corrente foram utilizadas: catodo esquerda, anodo direita (CEAD) e catodo direita, anodo esquerda (CDAE). A polaridade do estímulo foi controlada pelo computador. Em cada exame, foram aplicados quatro ensaios de 30 estímulos cada, assim distribuídos: 30 respostas gravadas a partir do membro inferior esquerdo (15 estímulos CEAD, 15 estímulos CDAE) e 30 do membro inferior direito (15 estímulos CEAD, 15 estímulos CDAE). Realizou-se uma repetição do procedimento em cada membro inferior a fim de garantir a replicação.

Para a realização do exame, os indivíduos permaneceram de 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 EMG seriam captados, já que as respostas são mais robustas no membro inferior contra lateral à direção da rotação cefálica. A resposta EMG à EVG foi captada por meio de eletrodos autoadesivos (modelo 2223BRQ, 3M, Saint Paul, MN, Estados Unidos da América). O par de eletrodos registrantes 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 G-VEMP foi captado primeiro no membro inferior esquerdo e então no membro inferior direito. Um período de descanso suficiente entre os ensaios foi oferecido para prevenir a possibilidade de fadiga muscular.

Os sinais EMG foram medidos, retificados, filtrados entre 10 Hz e 1.000 Hz e digitalizados em uma frequência de amostragem de 5 kHz. Os dados foram coletados durante um período de 500 ms, iniciando 100 ms antes do estímulo galvânico. As respostas EMG a 15 estímulos seguidos com a mesma configuração de polaridade foram promediadas, resultando em um traçado final. O quadro 2 apresenta um resumo das características gerais da posição do paciente, do estímulo e da captação da resposta do G-VEMP.

Quadro 2 - Características gerais da posição do paciente, do estímulo e da captação da resposta do G-VEMP.

<b>Características</b>	<b>Descrição</b>
<b>Equipamento / Software</b>	EVP4 / ATCPlus (Contronic Ltda., Pelotas, Brasil)
<b>Posição do paciente</b>	Em pé, sobre uma superfície plana, com os olhos fechados, pés descalços e juntos, com o corpo levemente inclinado para a frente, promovendo a contração do músculo gastrocnêmio, cabeça em aproximadamente 90° no plano sagital, para o lado contralateral ao membro inferior a partir do qual os sinais seriam captados.
<b>Posição dos eletrodos de estimulação</b>	Processos mastoideos direito e esquerdo
<b>Posição dos eletrodos de captação</b>	Eletrodos de registro: abaixo da fossa poplíteia sobre a cabeça medial do músculo gastrocnêmio. Eletrodo de referência: parte posterior da coxa, aproximadamente 5 cm acima do eletrodo de registro.
<b>Tipo de estímulos</b>	Corrente galvânica direta, monofásica e retangular
<b>Intensidade e duração dos estímulos</b>	2 mA / 400ms
<b>Promediações</b>	15 estímulos para cada etapa do teste
<b>Forma de apresentação do estímulo e captação da resposta</b>	- Estímulo: CEAD; Captação: Perna esquerda - Estímulo: CDAE; Captação: Perna esquerda - Estímulo: CEAD; Captação: Perna direita - Estímulo: CDAE; Captação: Perna direita + Replicação
<b>Janela de resposta</b>	500 ms – captação da resposta iniciada 100 ms antes do início do estímulo galvânico
<b>Filtro</b>	Passa alta: 10Hz; Passa baixa: 1000Hz

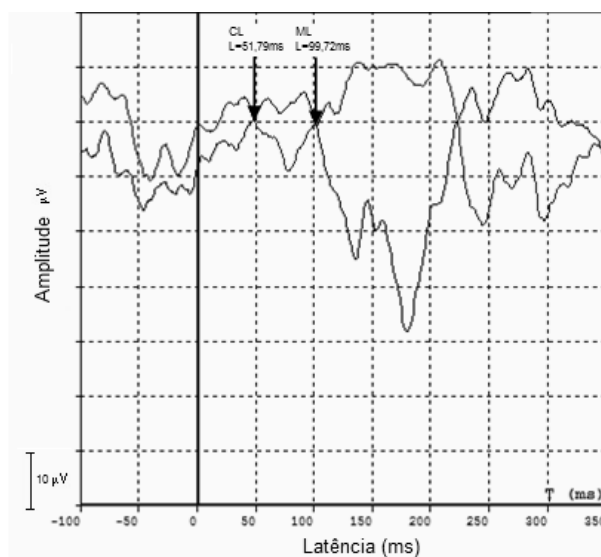
Legenda: CEAD – Catodo à esquerda, anodo à direita; CDAE - Catodo à direita, anodo à esquerda;

**Fonte:** Produção da própria autora

As análises das medidas foram realizadas por dois pesquisadores separadamente e de forma cega. Os traçados EMG foram analisados quanto ao tempo de início, em milissegundos, da resposta de curta latência (CL) e da resposta de média latência (ML). Com a sobreposição dos traçados obtidos com polaridades inversas (CEAD e CDAE), a definição do início da CL e da ML baseou-se no ponto no qual os traçados divergiam a partir da linha de base, julgado visualmente pelo examinador e medido pelo cursor. A primeira divergência entre os traços, ocorrendo em torno de 50 ms, foi marcada como o início da resposta de CL. Logo em seguida, os traços retornam à linha base e divergem novamente. A segunda divergência entre os traços, ocorrendo em torno de 100 ms, marcou o início da resposta ML. O fim dessa resposta foi definido como sendo o ponto no qual os traços retornam à linha base.

Os critérios para definição da resposta de CL foram: onda com início entre 40 e 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. Os critérios para definição de ML foram: onda com início a partir de 90 ms, 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 CL, e com duração e amplitude maiores que a CL (Figura 5).

Figura 5 – Exemplo do registro do G-VEMP



Legenda: CL = resposta de curta latência, ML = resposta de média latência, L = Latência.

Fonte: Produção do próprio autor.

Para cada perna houve uma ou mais replicações do exame. Quando os participantes apresentavam curvas muito anormais, o exame era repetido até três vezes. Se, nas replicações, uma morfologia normal de curva era obtida, aquele traçado era escolhido para a análise.

Quando o examinador não conseguiu definir CL ou ML em nenhum dos traçados obtidos, a medida foi considerada inconclusiva / sem resposta. Não havendo diferença significativa de resposta EMG entre as pernas direita e esquerda na análise para cada grupo, a medida de CL e ML para comparação entre os grupos pode ser a de qualquer uma das pernas. Para aumentar a sensibilidade do exame, foram escolhidas as medidas da perna que apresentou maiores latências, para todos os participantes.

#### **4.7.3 Avaliação da resposta auditiva evocada de longa latência**

A realização da avaliação da resposta auditiva evocada de longa latência constituiu na avaliação do potencial cognitivo P300 e do complexo de ondas N100, P160 e N200. O teste foi realizado pela própria pesquisadora e um colaborador em consultório médico no Hospital das Clínicas da UFMG.

O equipamento para geração do estímulo auditivo e captação da resposta eletrofisiológica foi o modelo MASBE / ActPlus (ContronicLtda., Pelotas, Brasil).

O paciente foi acomodado em uma poltrona reclinável e realizou-se a limpeza da pele com pasta abrasiva. Utilizou-se uma pasta eletrolítica entre a pele e o eletrodo para melhor condutividade da corrente elétrica. O posicionamento dos eletrodos seguiu o padrão do *International Electrode System (IES) 10-20 (JASPER, 1958)* sendo fixado o eletrodo ativo na frente (Fz), os eletrodos negativos, nos lóbulos das orelhas direita (A1) e esquerda (A2) e o terra, na frente (Fp1). Os eletrodos foram ligados ao pré-amplificador e foi verificada a impedância, sendo que a impedância máxima aceita foi de  $3k\Omega$  e a diferença entre eletrodos não deveria passar de  $1k\Omega$ .

O estímulo utilizado foi o tone burst com apresentação binaural, utilizando as frequências de 1.000 Hz como estímulo frequente e de 2.000 Hz como estímulo raro. A intensidade apresentada foi de 90 dBNA. Para cada exame foram apresentados 300 estímulos, sendo 80% frequentes e 20% raros. O ritmo de apresentação foi de 0,8 estímulos por segundo e os indivíduos foram orientados a identificar e contar em silêncio os estímulos raros. Antes de iniciar o exame, os estímulos foram apresentados para que os participantes se familiarizassem com o teste.

A amplitude de traçado inicial foi de 5  $\mu$ V, utilizou-se o filtro passa alta de 1 Hz, passa baixa de 20 Hz e filtro de 60 Hz. A janela temporal foi de 1.000 ms e o eletroencefalograma foi ampliado em 50.000 vezes. O procedimento foi repetido uma vez para garantir a replicação. O quadro 3 apresenta um resumo das características gerais da posição do paciente, do estímulo e da captação da resposta dos potenciais evocados auditivos de longa latência.

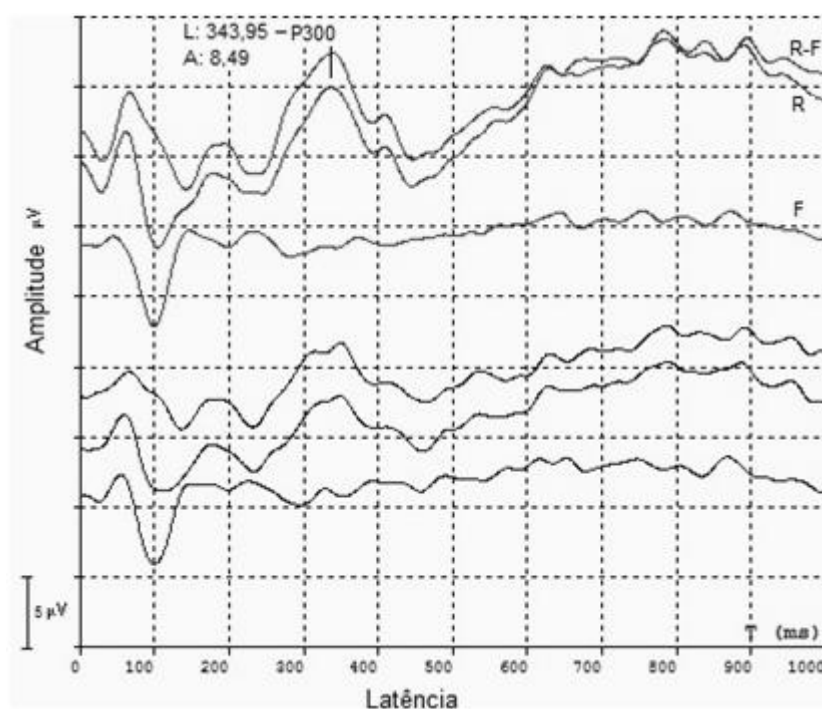
Quadro 3 - Características gerais da posição do paciente, do estímulo e da captação da resposta dos potenciais evocados auditivos de longa latência.

<b>Características</b>	<b>Descrição</b>
<b>Equipamento / Software</b>	MASBE / ATCPlus (Contronic Ltda., Pelotas, Brasil)
<b>Número de canais</b>	1 canal
<b>Local de teste e posição do paciente</b>	Sala silente com paciente sentado em uma cadeira reclinável
<b>Preparo da pele nos locais de posicionamento dos eletrodos</b>	Locais limpos com álcool, pasta abrasiva e uso de pasta eletrolítica entre eletrodo e pele.
<b>Posição dos eletrodos</b>	Eletrodos negativos: A1 e A2 Eletrodo ativo: Fz Eletrodo terra: Fp1
<b>Impedância dos eletrodos</b>	Impedância máxima de cada eletrodo: 3k $\Omega$ e a diferença entre eletrodos até 1k $\Omega$ .
<b>Estimulador</b>	Fone TDH
<b>Tipo de estímulo e intensidade</b>	<i>Tone burst</i> / 90dBNA
<b>Paradigma</b>	Estímulo frequente: 1000 Hz, 80%; Estímulo raro: 2000 Hz, 20%
<b>Taxa de apresentação</b>	0,9 estímulos/ segundo
<b>Número de estímulos</b>	300
<b>Forma de apresentação do estímulo</b>	Binaural simultânea
<b>Número de séries</b>	No mínimo duas
<b>Polaridade</b>	Rarefeita
<b>Janela temporal</b>	1000 ms
<b>Filtro</b>	Filtro passa alta: 1Hz; Filtro passa baixa: 20Hz; Filtro de 60Hz.
<b>Amplificação do sinal</b>	50000 vezes

**Fonte:** Produção da própria autora

Foram mensuradas a latência das ondas N100, P160 e N200 e P300 e a amplitude dos complexos N100-P160 e N200-P300. Os componentes N1 e P2 foram definidos como o maior pico negativo e o maior pico positivo nos intervalos de 75–150 ms e 150–270 ms respectivamente, surgidos após o estímulo (CHAO et al., 2004). A onda N2 foi definida como o pico negativo mais proeminente dentro da janela de tempo de 150 a 350 ms após o estímulo (STENKLEV; LAUKLI, 2004). O componente P300 foi considerado como o maior pico positivo entre 250 e 450 ms após a apresentação do estímulo (STENKLEV; LAUKLI, 2004) (Figure 6). As amplitudes foram medidas usando a subtração das amplitudes medidas nos picos das ondas P2-N1 e P3-N2. As análises das medidas das latências e amplitudes foram realizadas por dois pesquisadores separadamente e de forma cega. Para o processamento dos dados foi escolhida a análise de um dos examinadores.

Figura 6 – Exemplo do registro do P300



Legenda: L = latência, A = Amplitude, R = traçado referente ao estímulo raro,  
F = traçado referente ao estímulo frequente.

Fonte: Produção do próprio autor.

#### 4.7.4 Avaliação neuropsicológica

A avaliação neuropsicológica foi realizada por um neuropsicólogo. A avaliação incluiu a aplicação de sete testes que avaliam diferentes habilidades cognitivas, conforme o Quadro 4.

Quadro 4 – Descrição dos testes neuropsicológicos utilizados no estudo com a respectiva habilidade avaliada.

<b>Nomenclatura</b>	<b>Teste neuropsicológico</b>	<b>Habilidades avaliadas</b>
<b>RAVEN</b>	Matrizes progressivas coloridas de Raven	Inteligência geral
<b>RAVLT e RAVLT-REC</b>	Teste de aprendizagem auditivo-verbal de Rey	Memória verbal e aprendizagem
<b>CINCO DÍGITOS</b>	Teste dos cinco dígitos	Velocidade de processamento
<b>NINE HOLE</b>	Nine Hole-Peg Test	Capacidade motora, rapidez, atenção
<b>FAB</b>	Bateria de avaliação frontal	Formação de conceitos, abstração, flexibilidade mental, programação motora, controle inibitório e autonomia.
<b>IHDS</b>	Escala Internacional de demência pelo HIV	Capacidade cognitiva global.
<b>MATTIS</b>	Escala de avaliação de demência – MATTIS	Atenção, memória, conceituação, iniciação, preservação.

Fonte: Produção do próprio autor.

#### **- RAVEN - Matrizes Progressivas Coloridas de Raven**

O teste RAVEN avalia a inteligência não verbal. É constituído por três séries de doze itens (A, Ab e B) que são dispostas em ordem crescente de dificuldade. No início de cada série são empregados problemas mais simples a fim de introduzir o indivíduo ao tipo de raciocínio que será exigido nos itens seguintes. Os itens consistem em um desenho ou matriz com uma parte faltando e seis alternativas expostas logo abaixo entre as quais o examinando deve identificar a que completa o desenho corretamente (ANGELINI et al., 1999).

### **- RAVLT - Teste de Aprendizagem Auditiva-Verbal de Rey**

Utilizou-se a versão brasileira do teste (JARDIM et al, 2013; MALLOY-DINIZ et al, 2007) que avalia o processo de aprendizagem, recordação e reconhecimento de memória episódica. O teste consiste em cinco tentativas de aprendizagem de uma lista de 15 palavras (A1, A2, A3, A4 e A5), seguida de uma lista de interferência (B1), uma tentativa de recordação imediata (A6), uma de recordação tardia após 25 minutos (A7) e, por fim, uma tentativa de reconhecimento (REC). Esta última se dá a partir de uma lista contendo 50 palavras, as 15 palavras da primeira lista, as 15 da segunda e 20 outras palavras semântica ou foneticamente relacionadas às palavras anteriores, devendo o sujeito julgar se a palavra era pertencente ou não à primeira lista. Os escores de cada etapa são computados de acordo com o número de palavras corretamente evocadas, à exceção de REC, em que se pontuam todos os acertos (palavras corretamente classificadas) e subtraem-se 35 (total de distratores). Calcula-se também o total (A1-A5) de acertos nas etapas de aprendizagem. O resultado obtido constitui-se no número de palavras da lista A recordadas pelo paciente em cada apresentação.

### **- Teste dos Cinco Dígitos**

É uma medida de Controle Inibitório e de flexibilidade cognitiva. Consiste de um paradigma do teste Stroop, envolvendo números de 1 a 5 e quantidades de 1 a 5 e dividido em quatro tentativas: leitura (leitura de números), contagem (contagem de figuras), escolha (dizer o número de dígitos ao invés de ler o dígito) e alternância (alternar entre contar e ler os números). A terceira tentativa envolve a avaliação do componente atenção seletiva, um importante aspecto do controle inibitório. Na quarta tentativa, avalia-se a flexibilidade cognitiva. O teste envolve processos automáticos (parte 1 e 2) e processos controlados (partes 3 e 4) (JARDIM DE PAULA et al, 2012; SEDÓ, 2007).

### **- NINE HOLE - Nine Hole-Peg Test Rolyan® 9-Hole Peg Test Kit – 9-PnB**

O NINE HOLE avalia a capacidade motora e atenção. Para realização do teste utilizou-se o equipamento adequado (*Nine Hole-Peg Test Rolyan® 9-Hole Peg Test Kit – 9-PnB*), apoiado sobre uma mesa, com o sujeito confortavelmente sentado. A plataforma de testes é composta por nove orifícios, um compartimento para os pinos, com um total de 9 pinos. O equipamento foi disposto horizontalmente em frente ao sujeito, de forma que o

compartimento que contém os pinos ficasse voltado para a mão testada. O teste foi realizado duas vezes em cada mão, sendo duas tentativas consecutivas com a mão dominante, seguidas imediatamente por duas tentativas consecutivas com a mão não dominante. Um cronômetro foi utilizado para a medição do tempo, expresso em décimos de segundos. O paciente foi orientado a colocar e retirar os pinos na maior velocidade possível. O resultado final obtido constitui-se na média do tempo de realização do teste para cada mão (GRICE et al., 2003; MATHIOWETZ et al., 1985).

#### **- FAB - Frontal Assessment Battery**

Utilizou-se a versão traduzida da FAB (BEATO et al, 2012) em que são mensurados os seguintes aspectos do funcionamento executivo: conceituação-categorização, fluência, planejamento e monitoramento motor, atenção seletiva, controle inibitório e preensão. É composta por seis itens e o resultado obtido é a pontuação geral para o teste (DUBOIS et al, 2000).

#### **- IHDS - International HIV Dementia Scale**

A IHDS é uma ferramenta desenvolvida para triagem cognitiva de indivíduos com a infecção pelo HIV. Trata-se de um instrumento que não sofre influência da escolaridade e mostrou-se com boa sensibilidade (~80%) para a triagem de transtorno cognitivo associado à infecção pelo HIV. O teste é composto por três subtestes que avaliam a rapidez motora, a rapidez psicomotora e a memória. Diante das semelhanças das lesões associadas ao HIV e o HTLV-1, considerou-se útil a utilização do instrumento (SACKTOR et al., 2005).

#### **- MATTIS - Escala de avaliação de demência**

Utilizou-se a versão brasileira do teste (PORTO et al., 2003). A MATTIS é utilizada na avaliação do estado cognitivo geral nas áreas de atenção, iniciação, construção, conceituação e memória. Constitui-se em 36 tarefas agrupadas em cinco sub-escalas das diferentes áreas cognitivas. O resultado obtido é a pontuação em cada área avaliada e o total geral.

#### 4.7.5 Análise estatística dos dados

Os dados foram digitados no programa EpiData 3.0 (EpiData Data Entry, Data Management and basic Statistical Analysis System. EpiData Association, 2000-2008, Odense, Dinamarca) e analisados estatisticamente no programa SPSS 15.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, Estados Unidos da América).

A análise descritiva foi realizada por meio de medidas de tendência central e variabilidade para as variáveis contínuas e de análise de frequência para variáveis categóricas. A pesquisa da distribuição das variáveis contínuas foi realizada por meio do teste Shapiro-Wilk.

Com o objetivo de mensurar o grau de concordância interavaliador da análise dos exames aplicou-se o coeficiente de correlação de Spearman. A interpretação das análises de correlação e concordância foi realizada considerando a seguinte classificação:  $r$  entre 0 e 0,4 correlação fraca,  $r$  entre 0,41 e 0,7 correlação moderada, e  $r$  entre 0,71 e 1, correlação forte.

A comparação das variáveis contínuas entre os grupos foi realizada por meio do teste ANOVA ou Kruskal-Wallis com correção de Bonferroni.

A comparação das variáveis categóricas entre os grupos foi realizada por meio do teste Qui-quadrado ou exato de Fisher.

A curva de características de operação do receptor (ROC) foi realizada com o objetivo de identificar a sensibilidade e a especificidade e determinar o melhor ponto de corte dos resultados do exame do G-VEMP, considerando a avaliação neurológica como padrão ouro.

Para significância estatística, foi considerado um erro alfa de 0,05.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 ARTIGO 1:

#### VESTIBULAR EVOKED MYOGENIC POTENTIAL TRIGGERED BY GALVANIC VESTIBULAR STIMULATION IDENTIFIES SUBCLINICAL ALTERATIONS IN HTLV-1-ASSOCIATED MYELOPATHY

##### ABSTRACT:

The vestibular-evoked myogenic potential triggered by galvanic vestibular stimulation (G-VEMP) evaluates the motor spine and identifies subclinical myelopathies. We aimed at compare the spinal cord function of individuals infected by human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) in different phases of myelopathy through G-VEMP. In this cross-sectional study, the groups were 45 HTLV-1-seronegative individuals (control) and 76 HTLV-1-infected individuals divided into three subgroups: 26 asymptomatic carriers, 26 possible-HAM/TSP and 25 with HAM/TSP. Galvanic stimulus of 400ms and 2mA intensity were applied bilaterally in the mastoid process and electromyographic (EMG) response was recorded in the gastrocnemius muscle. G-VEMP parameters studied were latency and amplitude of short-latency (SL) and medium-latency (ML) components of the EMG wave. The groups were similar regarding gender, age, and height. SL and ML amplitudes were similar among the groups. SL and ML latencies were delayed in HTLV-1 groups compared to controls ( $p < 0.001$ ). Based on neurological examination as the gold standard, ROC curve showed area under the curve of 0.83 ( $p < 0.001$ ) for SL and 0.86 ( $p < 0.001$ ) for ML to detect spinal cord injury. Sensibility and specificity were, respectively, 76% and 86% for SL and 79% and 85% for ML. G-VEMP showed progressive vestibulospinal deficit related to HTLV-1-neurological disease, ranging from SL delayed latency in the asymptomatic carriers, SL and ML delayed latency in the possible-HAM/TSP group to absence of EMG wave in the HAM/TSP group. G-VEMP alteration in HTLV-1-asymptomatic carriers may disclose a possible subclinical spinal cord involvement.

**Keywords:** Human T-cell lymphotropic virus type 1. Galvanic vestibular stimulation. Vestibular-evoked myogenic potential. HAM/TSP. Electrophysiology.

## INTRODUCTION

The HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) is a chronic inflammatory disease that affects the spinal cord of 5% of the human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) infected individuals<sup>1</sup>. In this myelopathy, the most affected region is the lower thoracic spine, although histopathological studies of HAM/TSP have detected damage in the corticospinal motor pathway of the lumbar, dorsal, and cervical spinal segments<sup>2-4</sup>.

The spinal cord assessment can be done using different methods, including electrophysiological<sup>5-7</sup> and image<sup>2,8,9</sup>. During the early stages of HAM/TSP, even with signs and symptoms of upper motor neuron disease, magnetic resonance image may not alter and the neurophysiologic tests are the best option for detecting early alterations<sup>5,7,10,11</sup>.

The detection of progressive spinal cord alterations in HAM/TSP improves the understanding of the mechanisms involved in neural damage and favors the development of future therapeutic approaches. Furthermore, tests that can disclose a subclinical myelopathy might be important to define the best moment for a therapeutic intervention or to follow recovery after an intervention, as, for example, a corticosteroid pulse<sup>12</sup>.

A galvanic vestibular stimulation (GVS) in the mastoid bone generates a muscular response in the lower limbs related to posture control. This is the vestibular evoked myogenic potential (VEMP) triggered by galvanic stimulation (G-VEMP), a simple, safe, and low-cost neurophysiological exam can assesses the central pathways of the vestibular system, and provides information about the vestibularspinal tract from the cervical to the lumbar spine<sup>13-15</sup>. This methodology has been used to investigate spinal cord function in cases of trauma, tumor, ischemia, and infections<sup>13,16,17</sup>.

Transcranial GVS can be applied with a bipolar and bilateral configuration with a cathode electrode in one mastoid process and an anode electrode in the other one<sup>16</sup>. The current induces an illusory perception of movement<sup>16,18</sup> and the body responds to the stimulation by swaying towards the anode<sup>19-21</sup>. The central nervous system may interpret GVS as real body movement, activating compensatory postural reflex mechanisms<sup>19</sup>. After GVS, a VEMP can be detected in the muscles involved in the posture, such as triceps brachii, paraspinal, anterior tibial, soleus, and gastrocnemius<sup>13,18,20,22</sup>. The electromyographic responses in these muscles follow a pattern in healthy subjects. Regarding electromyographic (EMG) response in the lower limbs, initially there is a short-latency (SL) response that begins

approximately 50 ms after the stimulus, that is followed by a medium-latency (ML) response with opposite polarity that initiates approximately 110 ms after the stimulus onset<sup>18</sup>.

The aim of this study was to compare spinal cord function of HTLV-1-infected individuals in different phases of myelopathy through G-VEMP.

## **METHODS**

### **Study design**

In this cross-sectional study, G-VEMP with the response in the lower limbs was performed in subjects that were infected with HTLV-1 at different phases of myelopathy and compared with a group of healthy, non-infected subjects (control group).

### **Ethical aspects**

The research was conducted in accordance with the criteria established by the National Health Council - Resolution n°. 466, on December 12<sup>th</sup> 2012. The research project was approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais, number 266/05, and by the Research Ethics Committee of the Hemominas Foundation, number 131.

### **Sample size**

Sample size was calculated with the software G\* Power 3.1.9.2 (Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, Germany, 2007) to achieve the power of 80% and the significance of 5% based on SL means and standard deviations of patients with HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) and healthy controls<sup>23</sup>. We considered possible losses in groups and the final number of participants included 45 individuals without HTLV-1 infection, 26 HTLV-1-asymptomatic carriers, 26 possible-HAM/TSP and 25 with HAM/TSP. The post hoc calculation of sample size indicated a power of 81% and an  $\alpha$  error of 3%.

## Participants of the study

The participants of the study were recruited from the cohort of former blood donors infected with HTLV-1 that have been followed by the Interdisciplinary HTLV Research Group (GIPH) since 1997<sup>24</sup>. At the time of the present study, the cohort consisted of 637 HTLV-1-infected individuals and 232 non-infected eligible blood-donors (controls). The participants of this sectional study were invited when they came for the GIPH scheduled evaluation. Data collection was carried out from February 2014 to December 2015. The studied groups included:

**Control group (G1):** consisted of blood donors from the Hemominas Foundation who were HTLV-1-seronegative, according to enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) test<sup>25</sup>.

**HTLV-1 group:** consisted of former blood donors from the Hemominas Foundation who were HTLV-1-seropositive, according to ELISA, and confirmed by Western blot (WB)<sup>26</sup> and polymerase chain reaction (PCR)<sup>26</sup>. The individuals included in this group were divided into 3 subgroups according to the neurological assessment results:

**HTLV-1-asymptomatic group (G2):** consisted of individuals without clinical symptoms, according to the criteria established by Castro-Costa et al., 2006<sup>27</sup>, classified according to the Expanded Disability Status Scale (EDSS)<sup>28</sup> and OSAME<sup>29</sup> scale, and with 0 (zero) score in both scales;

**Possible-HAM/TSP group (G3):** consisted of individuals with clinical symptoms, according to the criteria established by Castro-Costa et al., 2006<sup>27</sup>, classified according to the EDSS<sup>28</sup> and OSAME<sup>29</sup> scales, and having got 1 to 2 score, at least, in one of them;

**HAM/TSP group (G4):** consisted of individuals with sufficient clinical symptoms for defining HAM/TSP, according to the criteria established by Castro-Costa et al., 2006<sup>27</sup>, classified according to the EDSS and OSAME scale, and having got at least two in both scales.

Subjects that were seropositive for syphilis, HIV, hepatitis B or C were excluded from this study, as well as individuals with a history of stroke, epilepsy, recurrent episodes of vertigo, previous diagnosis of peripheral vestibular disease, and individuals that were unable to remain in the standing position.

## **Phases of the study**

The participants took part of a clinical interview and were submitted to neurological examination followed by G-VEMP exam with the response captured in the lower limbs.

### **- Clinical interview**

The clinical interview was conducted by a physician specialist in infectious diseases, and it was investigated demographic variables (age, gender, height), the use of medication, dizziness, previous vestibular diseases, walking difficulties and stroke occurrence.

### **- Neurological examination**

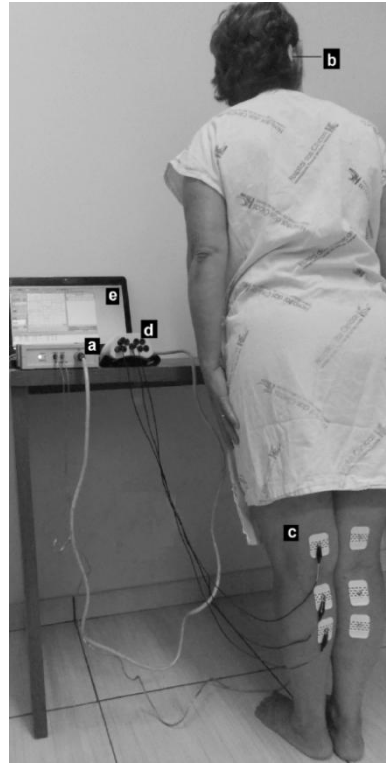
The neurological examination was done by a neurologist and consisted of the evaluation of cranial nerves, sensibility, abdominal cutaneous reflex, patellar tendon reflex, Achilles tendon reflex, muscle strength, atrophy, gait, coordination, and abnormal movements. To classify HTLV-1-infected participants as asymptomatic, possible-HAM/TSP, or definite-HAM/TSP, the neurological examination included the application of EDSS<sup>28</sup> and the OSAME<sup>29</sup> scales.

### **- Galvanic vestibular stimulation (GVS) with VEMP response in lower limbs**

The GVS used was characterized by a direct, single, and rectangular galvanic current, with an intensity of 2 mA and a duration of 400 ms (model EvP4/ATCPlus, Contronic Ltd., Pelotas, RS, BR). The bipolar current was applied to the mastoid processes through surface self-adhesive circular electrodes that were 3 centimeters in diameter (CF3200-Valutrode model Axelgaard, Fallbrook, CA, USA). For transmastoid binaural stimulation, 2 settings for current polarities were used, namely, cathode left, anode right (CLAR) and cathode right, anode left (CRAL). The polarity of the stimulation was controlled by using a computer. In each test, 4 sets of 30 stimuli each were applied and distributed, with 30 responses recorded from the left lower limb (15 CLAR stimuli, 15 CRAL stimuli) and 30 responses recorded from the right lower limb (15 CLAR stimuli, 15 CRAL stimuli). This procedure was repeated for each leg to ensure data replication.

During the procedure, subjects remained standing barefoot on a flat surface, with their eyes closed, feet close together, and their bodies leaning forward in order to get the contraction of the gastrocnemius muscle<sup>14,16,17</sup>. The subjects were instructed to turn their head approximately 90° in the sagittal plane, contralateral side from the leg which the

electromyography response would be measured, just because this position can induce more robust responses<sup>22</sup> (Figure 1).



**Figure 1.** Technical execution of G-VEMP showing the position of participant to capture G-VEMP, the equipment used for stimulus generation (a), the electrodes position for GVS (b), the electrode position to capture an electromyographic response in gastrocnemius muscles (c), the equipment for process the signal (d), and the computer with response of test (d).

The electromyographic response to GVS was measured using self-adhesive electrodes (2223BRQ model, 3M, St. Paul, MN, USA). The pair of recording electrodes was vertically placed 5 cm below the popliteal fossa, keeping approximately 5 cm of distance between their centers, on the medial head of the gastrocnemius muscle. The reference electrode was placed in the back of the thigh, approximately 10 cm above the recording electrode. The G-VEMP was measured first in the left leg and then in the right leg. The tests were performed with a resting interval of 2 min between them to avoid muscle fatigue (Figure 1).

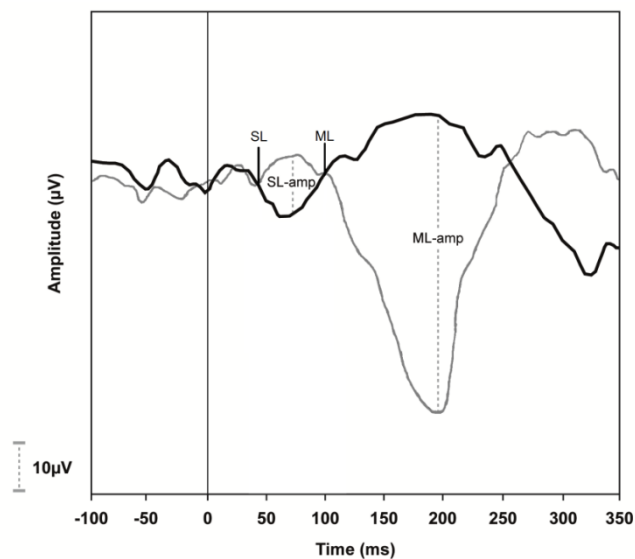
The electromyographic signals were measured, rectified, filtered between 10 Hz and 1,000 Hz, and digitalized using a sampling frequency of 5 kHz. Data were collected over a period of 500 ms, starting at 100 ms before the galvanic stimulus. The electromyographic responses to the 15 consecutive stimuli with the same polarity configuration were then averaged to produce a final trace.

### - Data analysis

Two independent researchers blindly carried out the analyses of G-VEMP.

The triggered traces were analyzed regarding the onset, in milliseconds (ms), of the short-latency (SL) and medium-latency (ML) responses and the amplitudes of SL (SL-amp) and ML (ML-amp) waves, in microvolts ( $\mu\text{V}$ ).

With the superimposition of the traces obtained with inverted polarities (CRAL and CLAR), the point where traces diverged from the baseline marked the onsets of SL and ML, as judged visually by the tester and measured by the cursor. The first divergence between the traces, occurring approximately at 50 ms, marked the onset of the SL response. Soon after, the traces returned to baseline and diverged again. The second divergence between the traces, occurring approximately at 100 ms, marked the onset of the ML response (Figure 2). The amplitude of SL and ML waves were measured as the maximal difference between the positive and negative traces in each wave (Figure 2).



**Figure 2.** Example of a normal tracing obtained by G-VEMP. The recordings were made with uninfected individual with head rotated to the left and EMG captured in right gastrocnemius muscle. The black line indicates the trace recorded with the cathode on the right and anode on the left side; the gray line indicates the opposite polarity of stimulation. SL (short-latency response) = 47 ms, ML (medium-latency response) = 100ms, SL-amp (amplitude of short-latency response) =  $12.5\mu\text{V}$  (microvolts); ML-amp = (amplitude of medium-latency response) =  $62.5\mu\text{V}$ .

### - **Statistical analyses**

Data were inserted in the EpiData 3.0 software (EpiData Data Entry, Data Management and basic Statistical Analysis System, EpiData Association, 2000-2008, Odense, Denmark), and SPSS version 15.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) was used for the statistical analysis. Shapiro-Wilk test was used to analyze the distribution of the continuous variables that showed asymmetric distribution for all continuous variables, except age.

In order to assess possible confounding variables we performed multivariate analysis considering as independent variables the weight, height, age, gender and group and as dependent variables SL-amp, ML-amp values, onset of SL, and onset of ML.

To measure the concordance degree between the analyses of each examiner, we applied the Spearman correlation coefficient. The interpretation of the correlation and concordance analyses was classified as a weak correlation for an  $r$  between 0 and 0.4, a moderate correlation for an  $r$  between 0.41 and 0.7, and a strong correlation for an  $r$  between 0.71 and 1.

To classify G-VEMP response as normal or abnormal, we established cut-off values for the SL and ML that were defined based on the analysis of sensitivity and specificity of G-VEMP, considering the results of the neurological exam (normal or abnormal) as the gold standard.

The comparison of the continuous variables between groups was performed using a Kruskal-Wallis test with a Bonferroni correction. The comparison of the categorical variables between groups was performed using a Chi-square test or a Fisher's exact test.

## **RESULTS**

### **The characteristics of the groups with and without HTLV-1 infection**

The uninfected control group (G1) consisted of 45 HTLV-1-seronegative subjects. The HTLV-1-seropositive group (n=77) was separated into three subgroups: 26 asymptomatic individuals (G2), 26 individuals with possible-HAM/TSP (G3), and 25 individuals with HAM/TSP (G4).

The general characteristics of the participants are indicated in table 1. The groups were similar in terms of age, height, weight and gender.

**Table 1.** The general characteristics of the groups uninfected and infected by HTLV-1 (n=122).

<b>Variable</b>	<b>G1 (n=45)</b>	<b>G2 (n= 26)</b>	<b>G3 (n= 26)</b>	<b>G4 (n= 25)</b>	<b>p-value<sup>a</sup></b>
<b>Age (years)</b>	52±10	52±11	56±9	55±9	0.281
<b>Height (m)</b>	1.64 (1.60/1.70)	1.58 (1.55/1.70)	1.59 (1.56/1.66)	1.62 (1.56/1.72)	0.207
<b>Female</b>	28 [62]	15 [58]	17 [65]	18 [72]	0.747

G1 = Uninfected control group, G2 = HTLV-1-asymptomatic group, G3 = possible-HAM/TSP group, G4 = HAM/TSP group; <sup>a</sup>ANOVA Test, Kruskal-Wallis Test or Qui-square test; Data are expressed in mean±stantard deviation, median (interquartile range) or absolute numbers [percentage].

### Potencial Confounders

The potential confounders age, gender, height and weight did not show any influence on interest variables in the multivariate analysis. The results indicated that only the variable group helps to explain the behavior of the variables SL ( $p < 0.001$ ,  $\beta = 0,62$ ) and ML ( $p < 0.001$ ,  $\beta = 0,58$ ).

### The G-VEMP traces analyzed by two examiners

The results of G-VEMP SL, ML, SL-amp and ML-amp were blindly analyzed by two independent examiners. Correlation was strong for SL ( $r = 0.713$ ,  $p < 0.001$ ) and ML ( $r = 0.812$ ,  $p < 0.001$ ), and moderate for SL-amp ( $r = 0.521$ ,  $p < 0.001$ ) and ML-amp ( $r = 0.62$ ,  $p < 0.001$ ).

### Comparison among legs

There was no significant difference in the electromyographic response of the right and left legs for each group ( $p > 0.05$ ), thus a comparison between groups could be performed using the SL and ML measurements from any of the legs. To increase the sensitivity of the

test, we analyzed the measurements taken in the leg that presented higher latencies for all of the participants.

### The SL and ML responses in groups uninfected and infected by HTLV-1

The latency and amplitude of SL and ML are described in table 2 and showed that the latency of SL and ML were different, while the amplitude the SL and ML were similar among the groups.

**Table 2.** Comparative analysis of latency and amplitude the SL and ML among the groups infected and not infected by HTLV-1.

Variable	G1 (n=45)	G2 (n=26)	G3 (n= 26 <sup>a</sup> )	G4 (n= 25 <sup>b</sup> )	p- value <sup>c</sup>	Post - hoc <sup>d</sup>
SL (ms)	54 (50/55)	63 (59/69)	67 (58/71)	70 (65/72)	<0.001	G1<G2; G1<G3; G1<G4; G2<G4.
ML (ms)	111 (103/114)	118 (106/124)	124 (121/132)	144 (127/154)	<0.001	G1<G2; G1<G3; G1<G4; G2<G3; G2<G4; G3<G4.
SL-amp ( $\mu$ V)	16 (11/23)	14 (11/24)	13 (10/24)	16 (9/26)	0.970	–
ML-amp ( $\mu$ V)	37 (28/62)	35 (27/50)	36 (20/54)	33 (14/55)	0.093	–

G1 = Uninfected control group, G2 = HTLV-1-asymptomatic group, G3 = possible-HAM/TSP group, G4 = HAM/TSP group; SL (ms) = short-latency response (milliseconds), ML = medium-latency response, SL-amp ( $\mu$ V) = amplitude of short-latency response, ML-amp = amplitude of medium-latency response. <sup>a</sup>For data analysis of SL, 3 cases with absent response were excluded. <sup>b</sup>For data analysis of SL and ML, respectively 15 and 11 cases with absent response were excluded. <sup>c</sup>Kruskal-Wallis Test. <sup>d</sup>Post-hoc – Bonferroni- corrected p-values for specific compararisons (p<0.008). Data are expressed in median (interquartile range).

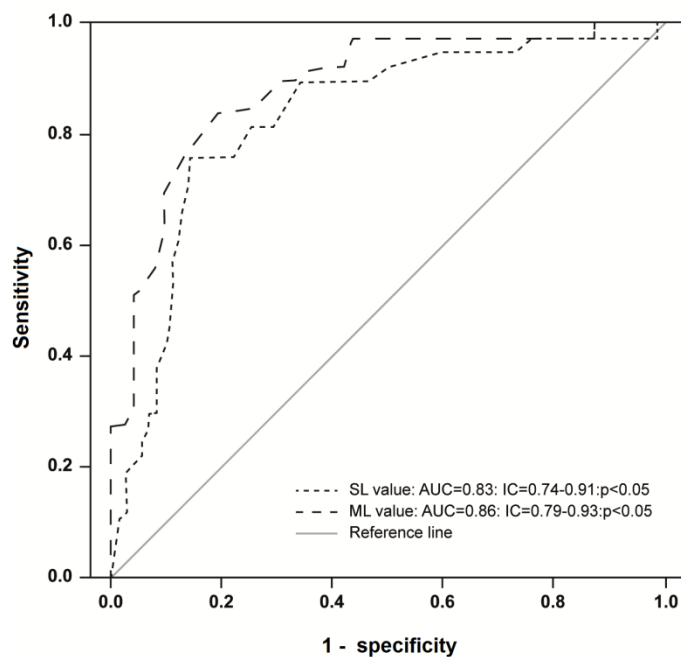
The SL responses were significantly delayed in the HTLV-1-asymptomatic group, possible-HAM/TSP group and HAM/TSP group when compared to controls. The ML responses were longer in the possible-HAM/TSP group and HAM/TSP group compared to

HTLV-1-asymptomatic group and controls. The longest latencies were found in patients with the most severe neurological impairment.

### Types of G-VEMP responses in groups infected by HTLV-1

We classified G-VEMP response as normal or abnormal. An abnormal response of G-VEMP was identified when at least one of the following conditions was observed:

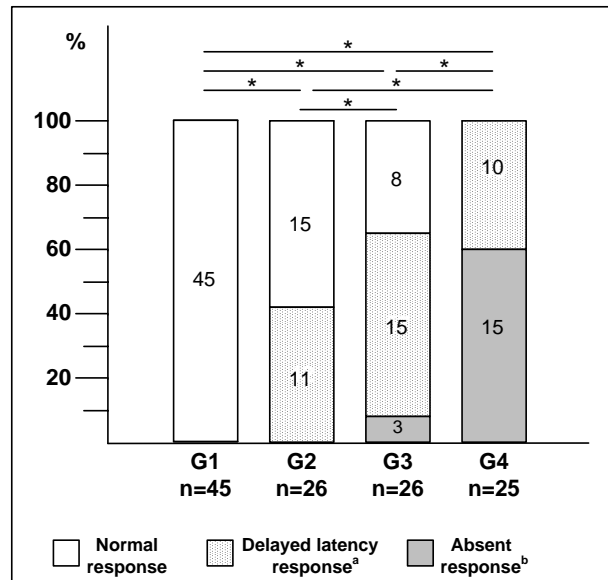
- 1) A delayed latency of SL or ML in at least one leg: we constructed ROC curve using the neurological examination as the gold standard. The SL and ML responses presented a good area under the curve (AUC) (Figure 3). The best cut-off values were 64 ms for SL (sensitivity: 76%, specificity: 86%) and 122 ms for ML (sensitivity: 79%, specificity: 85%).



**Figure 3.** SL and ML ROC curves for the detection of spinal cord injury in patients infected with HTLV-1. AUC= area under the curve; SL (ms) = short-latency response (milliseconds) , ML = medium-latency response, IC = confidence interval.

- 2) Absent response of SL or ML in at least one leg: for each leg, there were one or more test repetitions, when the subjects presented abnormal traces, the test was repeated more than 3 times.

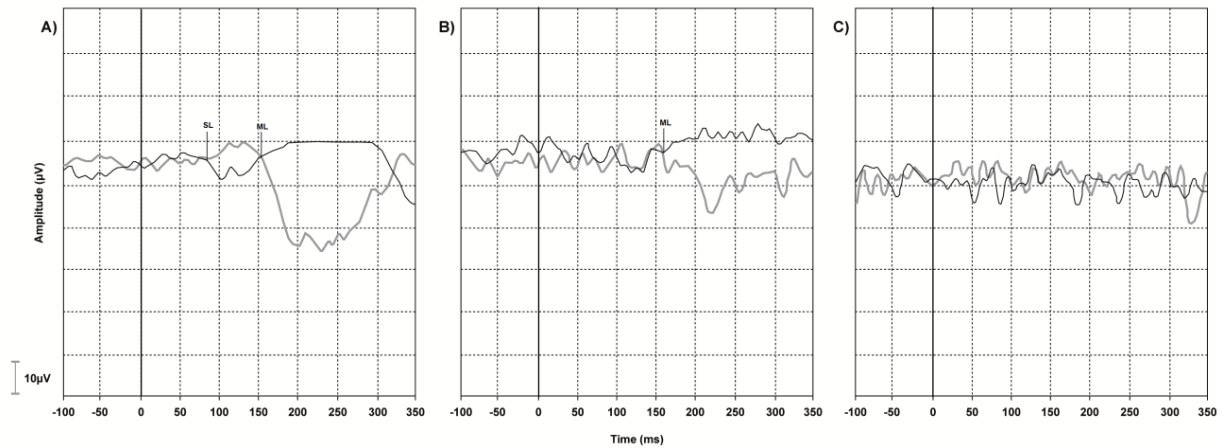
The figure 4 describes the frequency (%) of normal and abnormal results of G-VEMP in each group and indicates the types of alterations in each group.



**Figure 4.** Comparison of frequency of the normal G-VEMP and abnormal G-VEMP in each group. The figure 4 shows the type of response; G1 = Uninfected control group, G2 = HTLV-1-asymptomatic group, G3 = possible-HAM/TSP group, G4 = HAM/TSP group; <sup>a</sup>delayed latency of SL, ML or both; <sup>b</sup>absent response of SL, ML or both; \* $p < 0.001$ ;  $p = p$ -value (Chi-square test or Fisher test);  $n =$  number of participants; SL = short-latency response; ML = medium-latency response.

The G-VEMP was more frequently abnormal in the HAM/TSP group, followed respectively by the possible-HAM/TSP, HTLV-1-asymptomatic, and control groups ( $p < 0.001$ ).

In HTLV-1 asymptomatic group, the types of abnormal responses were SL delayed latency and both SL and ML delayed latency (Figure 5A); in possible-HAM/TSP group, the more frequently abnormal response was both SL and ML delayed latency, but some cases of SL absent response with ML delayed latency were found (figure 5B); in HAM/TSP group the most common abnormal response was absence of SL and ML, which means no electrophysiological response (Figure 5C). In summary, we found that the worst G-VEMP response was correlated with the more severe myelopathy.



**Figure 5.** Examples of the tracings obtained by G-VEMP. A) Delayed SL and ML waves in an individual with asymptomatic HTLV-1 infection. B) SL absent and ML yet present with delayed latency in an individual with possible-HAM/TSP. C) Absent SL and ML responses in an individual with HAM/TSP. The recordings were made with subjects' heads rotated to the left and EMG captured in right gastrocnemius muscle. The black line indicates the trace recorded with the cathode on the right and anode on the left side; the gray line indicates the opposite polarity of stimulation. SL= onset of short-latency response); ML = onset of medium-latency response.

## DISCUSSION

### **The worse vestibular-evoked myogenic potential triggered by galvanic vestibular stimulation (G-VEMP), the worse myelopathy progression**

In the present study, G-VEMP showed a progression in altered electrophysiological response parallel to the progression in neurological alterations, which means that this test could be a reliable marker for the progression of HAM/TSP. Regarding SL and ML components of the electrophysiological wave, we observed that the worse the motor impairment, the more delayed the latency was for both responses.

VEMP can be generated through auditory or galvanic stimulus<sup>15</sup>. In patients with HTLV-1 infection, VEMP with acoustic stimulation has already been investigated and shown abnormalities<sup>6,7,11</sup>. However, the acoustic stimulus does not allow differentiating the peripheral vestibular disorders from the central one. G-VEMP has the advantage of stimulating directly the vestibular nucleus, being therefore more appropriate to evaluate

central vestibular disorders<sup>30</sup>. Considering that HAM/TSP is a motor myelopathy of slow progression, G-VEMP may be an interesting tool for early diagnosis<sup>27,31</sup>.

The delayed latency or no wave were the altered patterns of G-VEMP response and indicated damage in the vestibular pathways<sup>14,17,23</sup>. In a study involving eight patients with spinal cord injury of different etiologies and eight controls, ML and SL components of the wave presented a prolonged latency compared to controls ( $p < 0.005$ )<sup>14</sup>. In another study, in 21 patients with spinal cord injury, latency in G-VEMP was correlated with spinal cord impairment severity ( $r_s = -0.57$ ;  $p < 0.01$ )<sup>13</sup>. These characteristics were also found in our study with a sample size of 122 individuals, consisting in 45 controls and 77 HTLV-1-infected individuals in different phases of the neurological disease.

Previous studies had already shown the latency delay of G-VEMP in HTLV-1-asymptomatic carriers, making a correlation with the level of neurological damage in HAM/TSP<sup>23</sup>. In order to add information about the electrophysiological damage, we included a group with possible-HAM/TSP, according to the criteria proposed by Castro-Costa et al., 2006<sup>27</sup>. These individuals presented an altered response classified as intermediate between the asymptomatic carrier and the group with definite HAM/TSP. Our inclusion of possible-HAM/TSP patients was important to better show the progression of HAM/TSP from apparent asymptomatic status to defined myelopathy. Possibly, the HTLV-1 asymptomatic carrier with altered G-VEMP has more chance of developing HAM/TSP compared to the patient with possible-HAM/TSP but normal G-VEMP. It is not all the individuals classified as possible-HAM/TSP that evolves to HAM/TSP. G-VEMP could aid to select the individuals prone to develop HAM/TSP.

Taking into account that for the analysis of an electrophysiological test it is necessary to categorize the test as normal or altered, we established the cut-off values for SL and ML based on our results and on literature<sup>15,17,18,22,32</sup>. We determined sensitivity and specificity, considering the neurological examination as the gold standard and the most reliable cut-off values in ROC curve (Figure 3) which defined the latency of 64ms for SL (sensitivity: 76%, specificity: 86%) and 122ms for ML (sensitivity: 79%, specificity: 85%).

We observed a degree of abnormal responses from the asymptomatic carrier to HAM/SP. All controls presented normal responses, whereas 42% of asymptomatic carriers, 69% of possible-HAM/TSP and 100% of HAM/TSP presented altered responses (Figure 4). An important aspect was the analysis of the type of alteration (Figure 5). The first wave to be altered in G-VEMP was SL; afterwards came a ML alteration; the next step was the disappearance of the SL wave, followed by the disappearance of the ML wave (Figure 5). The

absence of response in G-VEMP has seen to be common in patients with spinal cord injury<sup>13,14,17,23</sup>. In a study with patients with localized spinal cord injury the electromyography response below the lesion was absent in almost 10 out of 21 (48%) patients<sup>13</sup>.

### **Potential confounding factors in G-VEMP results**

Our analysis included the G-VEMP latency and amplitude responses. The latency of SL and ML were different among the groups, while the amplitude of SL and ML were similar (table 2). Several studies have shown that amplitude can be modified according to stimulus parameters<sup>16,19</sup>, environmental factor<sup>33</sup>, age<sup>20,34</sup>, height<sup>20</sup>, gender<sup>20</sup> or spinal damage<sup>13</sup>. G-VEMP amplitude decreases and ML delays with aging<sup>13,30</sup> as is ML more prolonged in females than in males<sup>20</sup>. Study with auditory VEMP showed latencies are correlated with measures of body height<sup>30</sup>. In our study, the amplitude was similar among the groups. We controlled height, gender and age, that were similar among the groups and that are the most important confusing factors related to amplitude alteration. So, we can take for granted that latency is the uppermost parameter in G-VEMP analysis in cases of no traumatic myelopathy<sup>7,32</sup>.

### **The reticulospinal and vestibulospinal tract are affected by HTLV-1 infection**

The SL component of the wave in G-VEMP presumably derives from the activation of the otolith organs and involves the reticulospinal tract, whereas the ML component seems to originate in the semicircular canals, being polysynaptic and subsequently following through the vestibulospinal tract<sup>35</sup>. So, SL and ML alterations indicate dysfunctions in reticulospinal and vestibulospinal, which are structurally very close to the anterior lateral funiculus of the spine.

Clinical trial showed that when the head was tilted to activate the semicircular canals, SL response was kept as the same<sup>35</sup>. The SL response did not change also when the eyes were open, when there was a postural support using one finger, when the stimulus duration was increased<sup>35</sup>, or when the cutaneous sensory input of the feet was reduced<sup>33</sup>. The ML response, in turn, is altered in all of the above conditions<sup>33,35</sup>. Another important difference between the two responses is that SL has a significant lower amplitude and duration comparing to ML<sup>33</sup>. Usually authors prefer to present only the results about ML in studies to evaluate the vestibulospinal tract because the SL response is more difficult to distinguish from the baseline

fluctuations<sup>13,14</sup>. In our study the same aspect was observed, the amplitude of SL was lower than ML (Table 2) and we had more difficulties in defining SL than ML thus resulting in better correlation between two independent examiners for ML than for SL measurements<sup>13,14,22,23,35</sup>.

### **G-VEMP is useful to monitor HTLV-1 neurological alterations**

We showed that the pattern of G-VEMP alteration is firstly the prolongation of the latency, as in the asymptomatic patients, followed by a progressive absence of responses, as observed in possible-HAM/TSP and definite-HAM/TSP<sup>7,11</sup>. Taken together, our results support the idea that the symptoms associated with HTLV-1-neurological damage starts later comparing to the electrophysiological alteration, which is expected, but had not been shown before. These findings corroborate with a study that showed dizziness is a frequent complaint in HAM/TSP<sup>11</sup>, and can appear earlier than other common symptoms such as bladder disorders<sup>36</sup>. The damage to the reticulospinal and vestibulospinal tracts, both of which are associated with balance control, may explain the high frequency of dizziness in HAM/TSP subjects and abnormalities in G-VEMP.

The neurological damage induced by HTLV-1 infection presented a pattern. Initially, the pathway related to SL response was affected, followed by an alteration in the pathway related to ML response. The reticulospinal and vestibulospinal descending pathways that are involved in the generation of G-VEMP and in the control of posture are related to the anterior lateral funiculus of the spinal cord, which is the region that is most affected by the neuronal injury due to HTLV-1 infection and thus explains the G-VEMP changes that we observed.

Given that HAM/TSP diagnosis often occurs late, the use of G-VEMP can assist in the diagnosis of HAM/TSP in its early stage, which is essential in terms of future therapeutics strategies<sup>12</sup>.

### **Limitation**

We did not include patients with HAM/TSP that could not stand because G-VEMP responses were recorded in the muscles engaged in the maintenance of standing posture. It is possible to record VEMP responses from erectors spinae muscles following GVS in sitting patients, which was not done by us<sup>13</sup>. If we had tested the erectors spinae muscles, we could better precise the level of the neurological damage which could be done in the future.

Conversely, the most important information using G-VEMP in the present study was the subclinical functional alteration that makes the test in HAM/TSP wheelchair patients usefulness.

## CONCLUSION

G-VEMP with electromyographic response recorded in lower limbs contributed to the identification of vestibulospinal deficit in HTLV-1-neurological disease. The increase in the spinal cord damage correlated with a gradient of worsening in G-VEMP response, starting from a delayed latency among asymptomatic carriers and possible-HAM/TSP to complete absence of response in HAM/TSP. G-VEMP is a promising tool for improving the early diagnosis of HAM/TSP and can contribute to the follow-up of therapeutic approaches.

## ACKNOWLEDGMENTS

This work received Grant for the students of the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and of the Foundation to support the research of the state of Minas Gerais (FAPEMIG).

## REFERENCES

1. Ribas J, Melo GCN. Mielopatia associada ao vírus linfotrópico humano de células T do tipo 1 (HTLV-1). *Rev Soc Bras Med Trop*. 2002;35(4):377-384.
2. Cevilla J, Cartier L, Garcia L. Brain and spinal cord magnetic resonance imaging in spastic paraparesis associated to T-lymphotropic virus. *Rev Med Chile*. 2006;134:1010-1018.
3. Boostani R, Poorzahed A, Ahmadi Z, Mellat A. Median Nerve Somatosensory Evoked Potential in HTLV-I Associated Myelopathy. *Electron physician*. 2016;8(5):2361-2365.
4. Umehara F, Nagatomo S, Yoshishige K, Saito M, Furukawa Y, Usuku K, et al. Chronic progressive cervical myelopathy with HTLV-I infection: Variant form of HAM/TSP?

- Neurology*. 2004;63(7):1276-1280.
5. De Andrade DO. Achados dos potenciais evocados somatossensitivos e motores na mielopatia associada ao HTLV-I. *Arq Neuropsiquiatr*. 2005;63(3A):652-655.
  6. Felipe L, Gonçalves DU, Santos MAR, Santos R, Proietti FA, Lambertucci R. Vestibular-Evoked Myogenic Potential ( VEMP ) to Evaluate Cervical Myelopathy in Human T-Cell Lymphotropic Virus Type I Infection. *Spine*. 2008;33(11):1180-1184.
  7. Felipe L, 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.
  8. Kira JI, Minato SI, Itoyama Y, Goto I, Kato M, Hasuo K. Leukoencephalopathy in HTLV-I-associated myelopathy: MRI and EEG data. *J Neurol Sci*. 1988;87(2-3):221-232.
  9. Ogata A, Nagashima K, Tashiro K, Miyakawa A, Mikuni C. MRI-pathological correlate of brain lesions in a necropsy case of HTLV-I associated myelopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1993;56(2):194-196.
  10. Morgan DJ, Caskey MF, Abbehusen C, Oliveira-Filho J, Araujo C, Porto AF, et al. Brain magnetic resonance imaging white matter lesions are frequent in HTLV-I carriers and do not discriminate from HAM/TSP. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2007;23(12):1499-1504.
  11. Labanca L, Starling ALB, de Sousa-Pereira SR, Romanelli LCF, Carneiro-Proietti ABF, 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;31(6):649-654.
  12. Buell KG, Puri A, Demontis MA, et al. Effect of Pulsed Methylprednisolone on Pain, in Patients with HTLV-1-Associated Myelopathy. *PLoS One*. 2016;11(4):e0152557.

13. Iles JF, Ali AS, Savic G. Vestibular-evoked muscle responses in patients with spinal cord injury. *Brain*. 2004;127(7):1584-1592.
14. Liechti M, Müller R, Lam T, Curt A. Vestibulospinal responses in motor incomplete spinal cord injury. *Clin Neurophysiol*. 2008;119(12):2804-2812.
15. Watson SRD, Colebatch JG. Vestibular-evoked electromyographic responses in soleus: A comparison between click and galvanic stimulation. *Exp Brain Res*. 1998;119(4):504-510.
16. Fitzpatrick RC, Day BL. Probing the human vestibular system with galvanic stimulation. *J Appl Physiol*. 2004;96(6):2301-2316.
17. Caporali JFM, Gonçalves DU, Labanca L, Oliveira LD, de Melo GTV, de Almeida PT, 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.
18. Fitzpatrick RC, Burke D, Gandevia SC. Task-dependent reflex responses and movement illusions evoked by galvanic vestibular stimulation in standing humans. *J Physiol*. 1994;478 ( Pt 2(1994):363-372.
19. Day BL, Séverac Cauquil A, Bartolomei L, Pastor MA, Lyon IN. Human body-segment tilts induced by galvanic stimulation: a vestibularly driven balance protection mechanism. *J Physiol*. 1997;500(3):661-672.
20. Welgampola MS, Colebatch JG. Selective effects of ageing on vestibular-dependent lower limb responses following galvanic stimulation. *Clin Neurophysiol*. 2002;113(4):528-534. doi:10.1016/S1388-2457(02)00020-2.
21. Ghanim Z, Lamy JC, Lackmy A, Achache V, Roche N, Pénicaud A, et al. Effects of galvanic mastoid stimulation in seated human subjects. *J Appl Physiol*. 2009;106(3):893-903.

22. 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(1):143-151.
23. Matos-Cunha LC, 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(4):252-258.
24. 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(9):1199-1202.
25. Rudolph DL, Khabbaz RF, Folks TM, Lal RB. Detection of human T-lymphotropic virus type-I/II env antibodies by immunoassays using recombinant fusion proteins. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1993;17:35-39.
26. 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*. 1992;30(6):1605-1607.
27. 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). *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2006;22(10):931-935.
28. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983;33(11):1444-1452.
29. Osame M, Igata A, Matsumoto M. HTLV-1-associated myelopathy (HAM) treatment trials, retrospective survey and clinical and laboratorial findings. *Hematol Rev*. 1990;3:271-284.

30. Rosengren SM, Welgampola MS, Colebatch JG. Vestibular evoked myogenic potentials: Past, present and future. *Clin Neurophysiol.* 2010;121(5):636-651.
31. Araújo AQC, Leite ACC, Lima MASD, Silva MTT. HTLV-1 and neurological conditions: When to suspect and when to order a diagnostic test for HTLV-1 infection? *Arq Neuropsiquiatr.* 2009;67(1):132-138.
32. Cunha LCM, Labanca L, Tavares MC, Gonçalves DU. Vestibular evoked myogenic potential (VEMP) with galvanic stimulation in normal subjects. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2014;80(1):48-53.
33. 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(1):63-71.
34. Tax CMW, Bom AP, Taylor RL, Todd N, Cho KKJ, Fitzpatrick RC, et al. The galvanic whole-body sway response in health and disease. *Clin Neurophysiol.* 2013;124(10):2036-2045.
35. Cathers I, Day BL, Fitzpatrick RC. Otolith and canal reflexes in human standing. *J Physiol.* 2005;563(Pt 1):229-234.
36. Gonçalves DU, Proietti FA, Barbosa-Stancioli EF, Martins ML, Ribas JG, Martins-Filho AO, et al. HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) inflammatory network. *Inflamm Allergy Drug Targets.* 2008;7(2):98-107.

## 5.2 ARTIGO 2:

### **HTLV-1-ASSOCIATED MYELOPATHY/TROPICAL SPASTIC PARAPARESIS (HAM/TSP) CAUSES AN EARLY COGNITION IMPAIRMENT**

#### **ABSTRACT**

Human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) can cause cognitive disorders. We aimed to investigate cognitive impairment in HTLV-1-seropositive patients in different phases of neurologic disease using event related cognitive potentials (P300, N200, P160 and N100) and neuropsychological tests. In a cross-sectional study, we evaluated 20 subjects with HAM/TSP, 26 possible HAM/TSP, 27 HTLV-1-asymptomatic carriers and 40 seronegative controls matched by age, years of schooling and gender with the HTLV-1 groups. The variables of interest were scores of neuropsychological tests and latency of cognitive potentials. The groups did not differ in global cognitive measures, processing speed, general intelligence ( $p>0.05$ ). Compared to controls, possible HAM/TSP and HAM/TSP groups presented a worse performance to execute the Rey Auditory Verbal Learning Test (RAVLT), that assesses verbal memory ( $p<0.001$ ); HTLV-1-asymptomatic carrier, possible HAM/TSP and HAM/TSP groups presented a worse performance to execute Nine Hole Peg Test (9HPT), that assesses motor skills and attention ( $p<0.001$ ); HTLV-1-asymptomatic carrier, possible HAM/TSP and HAM/TSP groups presented delay in P300 latency ( $p<0.001$ ) and only HAM/TSP group delayed N200 latency ( $p<0.001$ ). RAVL worse performance correlated with delay in N200 latency; longer time to execute 9HPT correlated with delay in P300 and N200 latencies. The study showed cognitive impairment of HTLV-1-seropositive individuals in different phases of neurologic disease characterized by deficits in verbal memory, learning, attention, auditory discrimination, and motor skills. P300 and 9HPT tests identified subclinical alterations related to cortical function in HAM/TSP and also in HTLV-1 individuals with apparent asymptomatic infection.

**Keywords:** Human T-lymphotropic virus 1. HAM/TSP. P300. Cognition. Neuropsychological test.

## INTRODUCTION

Human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) is a chronic progressive myelopathy that affects mainly the thoracic spinal cord<sup>1</sup>. The brain, cerebellum and brainstem can also be damaged in the HTLV-1 infection<sup>1-4</sup>. The image studies show sparse white matter lesions in subcortical and periventricular areas of patients with HAM/TSP<sup>5-8</sup>. The cognitive deficits occur in these patients with abnormalities primarily related to learning and memory, to cognitive flexibility and to visuomotor skills<sup>6,9,10</sup>. The neurological alterations, including the cognitive deficits, should be diagnosed in the subclinical phase of HAM/TSP, taking into account present and future therapeutic strategies<sup>6</sup>.

Alterations of the brain functions driven by cognitive or motor tasks can be detected by electrophysiological techniques such as event related potentials (ERPs)<sup>11,12</sup>. The long latency auditory evoked potentials P300 (P3) is an ERP generated by the recognition of auditory stimuli<sup>12,13</sup>. It represents the cortical activity involving skills of discrimination, integration and attention, being an indicator of the cortical processing speed<sup>12</sup>. The electrophysiological wave P300 is preceded by the components of the wave N200, P160, and N100<sup>12</sup>. The early components N100 and P160 reflect the sensorial processing and are of low value for diagnosing or monitoring cognitive impairment<sup>12</sup>. N200 might be linked to the detection of the target stimulus and might be the reflection of the selective attention processes coming into action. P300 is the positive wave with a latency of 300ms after a discordant stimulus generally considered to be related to the degree of focal attention and working memory update<sup>14</sup>. Although the precise generators of P300 are still not fully clarified, the current evidence associates P300 with responses from frontal cortex, centroparietal cortex, and hippocampus<sup>13</sup>. At the moment, P300 has been used in psychiatry and neurology as an auxiliary tool for the diagnosis and monitoring of cognitive impairment in Alzheimer's disease<sup>11</sup>, dementia associated with multiple sclerosis<sup>15</sup>, and HIV-associated neurocognitive disorders (HAND)<sup>16,17</sup>.

This cross-sectional and comparative study intent to investigate the cognitive impairment of HTLV-1-seropositive individuals in different phases of the HTLV-1-neurologic disease using P300 and neuropsychological tests.

## METHODS

### Ethical aspects

The research was conducted in accordance with the criteria established by the National Health Council - Resolution n°. 466, on December 12<sup>th</sup> 2012 and was approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais, number 0732/12, and by the Research Ethics Committee of the Hemominas Foundation, number 342.

### Participants of the study

In this cross-sectional study, neuropsychological tests and long latency auditory evoked potentials were evaluated in subjects infected with HTLV-1 at different phases of myelopathy and compared with a group of healthy, non-infected subjects (controls).

The participants were recruited from the cohort of former blood donors infected with HTLV-1 that have been followed by the Interdisciplinary HTLV Research Group (GIPH) since 1997<sup>18</sup>. At the time of the present study, the cohort consisted of 637 HTLV-1-infected individuals and 232 non-infected eligible blood-donors (controls). The participants of this sectional study were invited when they came in for the GIPH scheduled evaluation. Data collection was carried out between February 2014 and December 2015.

All the participants were submitted to a clinical interview conducted by a specialist in infectious diseases and neurological examination performed by a neurologist with experience in HAM/TSP. The studied groups included:

**Control group (G1):** consisted of blood donors from the Hemominas Foundation who were HTLV-1-seronegative, according to enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) test<sup>19</sup>.

**HTLV-1 group:** consisted of former blood donors from Hemominas Foundation who were HTLV-1-seropositive, according to ELISA, and confirmed by Western blot (WB)<sup>20</sup> and polymerase chain reaction (PCR)<sup>20</sup>. The individuals included in this group were divided into three subgroups, according to the neurological assessment results:

**HTLV-1-asymptomatic group (G2):** consisted of individuals without clinical symptoms, according to the criteria established by Castro-Costa et al., 2006<sup>21</sup>, classified according to the Expanded Disability Status Scale (EDSS)<sup>22</sup> and OSAME<sup>23</sup> scale, and with 0 (zero) score in both of them.

**Possible-HAM/TSP group (G3):** consisted of individuals with clinical symptoms, according to the criteria established by Castro-Costa et al., 2006<sup>21</sup>, classified according to EDSS<sup>22</sup> and OSAME<sup>23</sup> scales, and having got 1 to 2 score, at least, in one of them.

**HAM/TSP group (G4):** consisted of individuals with sufficient clinical symptoms for defining HAM/TSP, according to the criteria established by Castro-Costa et al., 2006<sup>21</sup>, classified according to EDSS and OSAME scales, and having got at least 2 in both scales.

The exclusion criteria were HIV infection, syphilis, hepatitis B or C, moderate, severe or profound hearing loss, severe or non-corrected visual deficits, traumatic brain injury, stroke, alcoholism, drug addiction. These criteria were addressed in the clinical interview. Depression was excluded based on the Brazilian version of the original geriatric depression scale of 15 items, considering the cut-off of 5/6<sup>24</sup>.

The sample size was calculated by using software G\* Power 3.1.9.2 (Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, Germany, 2007) to achieve the power of 80% and the significance of 5% based on means and standard deviation of electrophysiological potentials measured in patients with HAM/TSP and healthy controls<sup>25</sup>. We considered possible losses in groups and the final number of participants included 40 individuals without HTLV-1 infection, 27 HTLV-1-asymptomatic group, 26 possible-HAM/TSP and 20 with HAM/TSP. The post hoc calculation of sample size indicated a power of 85% and an  $\alpha$  error of 2%.

### **Neuropsychological assessment**

All the participants were assessed by a neuropsychological protocol conducted by a trained neuropsychologist. The neuropsychological assessment protocol used in the present study was designed to test general intelligence, episodic memory, attention, executive functions, motor processing and processing speed. The following tests were selected:

*Rey Auditory Verbal Learning Test (RAVLT)*<sup>26</sup>: this test measures the process of learning, recall and recognition of verbal episodic memory containing five learning trials of a 15 word list followed by a distractor, an immediate recall, a 25-minutes delayed recall and a recognition trial (RAVLT recognition). The counting variable is the overall score for the test (RAVLT total) and the overall score for the RAVLT recognition.

*Frontal Assessment Battery (FAB)*<sup>27</sup>: the battery measures the following aspects of executive functioning: abstract thinking, fluency, selective attention, inhibitory control, motor planning

and environmental autonomy. It consists of six items and the counting variable is the overall score for the test.

*The Colored Progressive Matrices of Raven (RAVEN)*: evaluates non-verbal intelligence and consists of three sets of 12 items each, which are arranged in ascending order of difficulty. In the beginning of each series, simpler problems are presented to introduce the subject to a new kind of thinking that will be required for subsequent items. The items consist of a drawing or matrix with a missing part, and six alternatives are presented. The subject has to choose the item that correctly completes the drawing.

*Five Digit Test*<sup>28</sup>: the test measures speed processing, verbal fluency, attention, inhibitory control and cognitive flexibility. It consists of a stroop paradigm test composed by four successive parts: decoding (reading numbers), retrieving (counting figures), inhibiting (saying the number of digits instead of reading the digit) and shifting (switch between counting and reading). The counting variable is the time, in seconds, spend to complete the task.

*Mattis Dementia Rating Scale (MATTIS)*<sup>29</sup>: the test is a standard measure of general cognitive status in different domains: attention, initiation/perseveration, construction, conceptualization and memory. The counting variable is the overall score for the test.

*International HIV Dementia Scale (IHDS)*<sup>30</sup>: This instrument screens cognitive disorders in individuals with HIV infection. The test consists of three subtests and it measures motor speed, psychomotor speed and memory. The counting variable is the overall score for the test.

*Nine Hole Peg Test (9HPT) dominant hand (DH) and non-dominant hand (NDH)*<sup>31</sup>: This test measures motor processing and attention. It consists of a platform composed by nine slots and a total of 15 pins. The individual is instructed to insert and remove the pins as fast as possible. The test is performed twice with each hand, in two consecutive attempts, starting with the dominant hand, immediately followed by the non-dominant hand. The counting variable is the time, in seconds, spent to complete the task with each hand.

### **Long latency auditory evoked potentials – P300, N200, P160, N100**

The exam was conducted by a trained audiologist in an electrical and acoustic isolated environment with the individual in the seated position. The positioning of the electrodes followed the pattern of the *International Electrode System* (IES) 10-20, according to which, the active electrode is placed on the forehead (Fz), the negative electrodes are placed in the right (A1) and left (A2) earlobes, and the ground electrode is placed on the forehead (Fp1)<sup>12,13</sup>. The stimulus was the tone burst, using the frequencies of 1000 Hz as the frequent stimulus and 2000 Hz as the rare stimulus (MASBE model Contronic®, Brazil).

The stimuli used were a tone burst with a binaural presentation with a frequency of 1000 Hz as the frequent stimulus, and a frequency of 2000 Hz as the rare stimulus. The intensity presented was 90 dB hearing level. In each examination, 300 stimuli were applied, 80% of which were frequent stimuli; 20%, rare. The stimulation pace was 0.9 stimuli per second, and the subjects were instructed to identify and silently count the rare stimuli. Before the beginning of the examination, the stimuli were presented to the participants to familiarize them to the test.

The amplitude of the initial tracing was 5  $\mu$ V, and we used the 1-Hz high pass filter, the 20-Hz low pass filter, and the 60-Hz filter. The time frame was 1000 ms and electroencephalogram was expanded 50000 times. The procedure was repeated once to ensure replication.

Two independent examiners performed the measurements of the latencies and amplitudes. After the rare stimulus, N100 was the highest negative peak between 75-150 ms, P160 followed as the highest positive peak between 150-270 ms and N200 followed as the highest negative peak between 150-350 ms; P300 occurred as the highest positive peak between 250-500 ms preceded by N100, P160 and N200<sup>12,13</sup>. The amplitudes were calculated using the subtraction of the measure of the peaks of the waves P300-N200 and P160-N100<sup>13,32</sup>.

### **Statistical analyses**

Data were inserted in the EpiData 3.0 software (EpiData Data Entry, Data Management and basic Statistical Analysis System, EpiData Association, 2000-2008, Odense, Denmark), and SPSS version 15.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) was used for the statistical analysis. Shapiro-Wilk test was used to analyze the distribution of the continuous variables.

Spearman's correlation analysis was used to analyze the correlation between event related potentials and neuropsychological assessment, and the concordance between the analyses by each researcher. The r-value was classified as a weak correlation for an r between 0 and 0.4, a moderate correlation for an r between 0.41 and 0.7, and a strong correlation for an r between 0.71 and 1.

The comparison of the continuous variables between groups was performed using a Kruskal-Wallis test with a Bonferroni correction ( $p < 0.008$ ). The comparison of the categorical variables between groups was performed using a Chi-square test or a Fisher's exact test. The significance level was 5% and 95% confidence intervals were built.

Data were expressed in median (interquartile range – Q1/Q3), mean (standard deviation) or absolute numbers (percentage).

## **RESULTS**

### **Characteristics of the participants**

The seronegative group (G1) consisted of 40 HTLV-1-seronegative subjects. The HTLV-1-seropositive group ( $n=73$ ) was divided into three subgroups: 27 asymptomatic individuals (G2), 26 individuals with possible HAM/TSP (G3), and 20 individuals with defined HAM/TSP (G4).

The general characteristics of the participants are presented in table 1. The groups were statistically similar regarding age, education, hours of sleep the day before the tests, and gender (table 1).

**Table 1.** General characteristics of the groups<sup>a</sup> uninfected and infected by HTLV-1 (N=113)

Variables	G1 (n=40)	G2 (n=27)	G3 (n=26)	G4 (n=20)	p – value <sup>b</sup>
Age (years old)	53±10	54±12	58±10	54±9	0.229
Education (years of schooling)	9 (6/11)	8 (6/11)	6 (5/11)	7 (5/11)	0.200
Hours of sleep	7 (6/8)	7 (6/8)	7 (6/8)	8 (6/8)	0.956
Female	26 (65)	16 (59)	17 (65)	14 (70)	0.302

<sup>a</sup>G1= Seronegative group, G2= HTLV-1-asymptomatic group, G3= possible HAM/TSP group, G4= HAM/TSP group; <sup>b</sup>p= significance probability (ANOVA test; Kruskal-Wallis test or Qui-square test); Data are expressed in mean±Standard deviation; median (interquartile range) or absolute numbers (percentage).

### Neuropsychological characteristics of the groups

The table 2 shows difference among the groups related to components of motor processing, attention and episodic memory.

**Table 2.** Comparative analysis of the neuropsychological tests among the HTLV-1-infected groups<sup>a</sup> (N=73) and the uninfected group (N=40).

Variable	G1 (n=40)	G2 (n=27)	G3 (n=26)	G4 (n=20)	p- value <sup>b</sup>	Post-hoc <sup>c</sup>
<b>General intelligence</b>						
Raven (total)	27 (23/31)	26 (19/29)	24 (18/28)	24 (18/28)	0.122	–
<b>Screening tests</b>						
Mattis (total)	140 (137/141)	138 (136/142)	139 (133/142)	136 (133/142)	0.424	–
FAB (total)	17 (16/17)	17 (14/18)	16 (14/17)	15 (14/16)	0.072	–
IHDS (total)	10 (9/11)	11 (9/11)	10 (8/11)	10 (9/10)	0.502	–

<b>Episodic Memory</b>						
RAVLT-total	46 (43/68)	44 (36/48)	37 (34/45)	38 (31/48)	<0.001	G1>G3; G1>G4
RAVL - recognition	14 (11/15)	11 (8/15)	10 (7/13)	10 (9/12)	0.004	G1>G3; G1>G4
<b>Processing speed</b>						
Five digits test (total time - seconds)	58 (52/70)	75 (56/87)	65 (48/73)	62 (58/73)	0.071	–
<b>Motor processing and attention</b>						
9HPT (NDH) (time - seconds)	20 (19/21)	23 (21/24)	24 (21/27)	25 (22/28)	<0.001	G1<G2; G1<G3; G1<G4
9HPT (DH) (time - seconds)	19 (18/20)	24 (20/26)	23 (21/26)	25 (22/28)	<0.001	G1<G2; G1<G3; G1<G4

<sup>a</sup>G1= Seronegative group, G2= HTLV-1-asymptomatic group, G3= possible HAM/TSP group, G4=HAM/TSP group; <sup>b</sup>p= significance probability (Kruskall-Wallis test – p<0.05); <sup>c</sup>Bonferroni-corrected p-values for specific comparisons (p<0.008); FAB= Frontal Assessment Battery; IHDS = International HIV Dementia Scale; RAVLT= Rey Auditory Learning Test; 9HPT= Nine Hole peg test; NDH= Non-dominant hand; DH= Dominant hand. Data are expressed in median (interquartile range).

The neuropsychological tests assessing verbal memory (RAVLT-total) showed a worse performance in possible HAM/TSP group (G3) and HAM/TSP group when compared to seronegative group (table 2).

The HTLV-1 asymptomatic group (G2), possible HAM/TSP group (G3) and HAM/TSP group (G4) showed a worse performance in tests assessing motor skills and attention (9H DH and NDH) when compared to controls.

The groups did not differ significantly in the global cognitive measures (Mattis, FAB and IHDS), processing speed (5 digits test) and general intelligence (Raven).

The RAVLT and RAVLT recognition were defined as abnormal when the absolute value was less than mean - 2,5 SD in the controls. The 9HPT (NDH) and the 9HPT (DH) were defined as abnormal when the time was longer than mean + 2,5 SD in the controls. The table 3 shows the frequency of normal and abnormal in each group.

**Table 3.** Comparison of frequency of the normal and abnormal cognitive abilities in each group<sup>a</sup> (N = 113)

Cognitive ability	Tests	Normality criteria	n and % normal and abnormal tests				valor de p <sup>b</sup>	
			G1 (n=40)	G2 (n=27)	G3 (n=26)	G4 (n=20)		
Episodic Memory	RAVLT total	> 26,16 score and	Normal	40 (100)	26 (96)	23 (88)	15 (75)	0,001 <sup>c</sup>
	RAVLT recognition	> 5,31 score	Abnormal	0 (0)	0 (0)	3 (12)	5 (25)	
Motor processing and attention	9HPT (NDH)	< 28,3 seconds and	Normal	40 (100)	22 (82)	19 (73)	12 (60)	0,003 <sup>d</sup>
	9HPT (DH)	< 27,4 seconds	Abnormal	0 (0)	5 (18)	7 (27)	8 (40)	

<sup>a</sup>G1= Seronegative group, G2= HTLV-1-asymptomatic group, G3= possible HAM/TSP group, G4= HAM/TSP group; <sup>b</sup>p=significance probability (Qui-square test - multiple comparisons and Fisher's exact test); <sup>c</sup>G1≠G4 (p=0.002); G2≠G4 (p=0.026); <sup>d</sup>G1≠G2 (p=0.024); G1≠G3 (p<0.004); G1≠G4 (p<0.001); n= number of participants.

### Long latency auditory evoked potentials (P300, N200, P160, N100) in the groups

Correlation was strong for P300 (r=0.735, p<0.001) and moderate for N200 (r=0.631, p<0.001), P160 (r=0.531, p<0.001) and N100 (r=0.436, p=0.003) in blindly analyzed by two independent examiners.

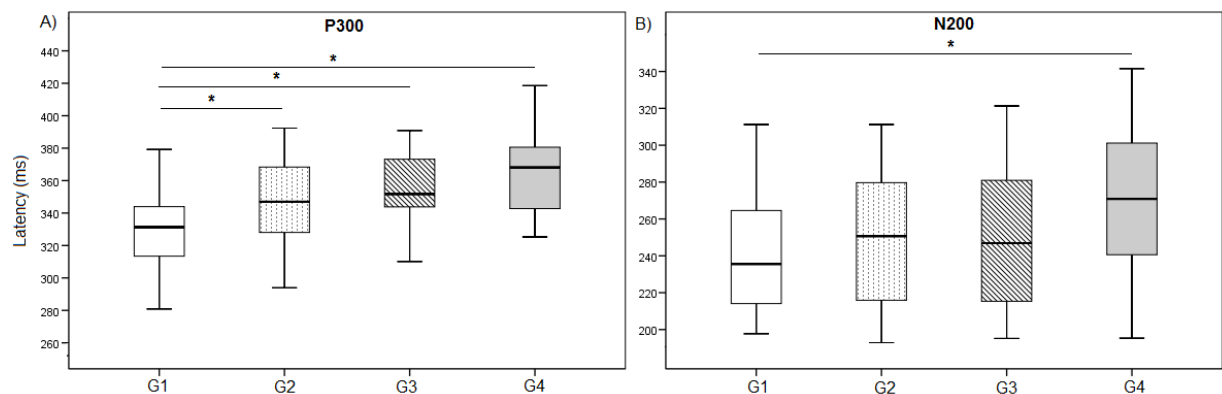
The table 4 shows that P300 and N200 latencies were different among the groups, while P160 and N100 latencies were similar. The amplitudes P300-N200 and N100-P160 were similar among the groups.

**Table 4.** Comparative analysis of the potentials related to events P300, N200, P160 and N100 among the groups<sup>a</sup> infected and not infected by HTLV-1 (N=113).

Variable	G1 (n=40)	G2 (n=27)	G3 (n=26)	G4 (n=20)	p-value <sup>b</sup>
<b>Latency P300 (ms)</b>	331 (313/343)	347 (319/369)	352 (342/374)	362 (340/381)	<0.001
<b>Latency N200 (ms)</b>	235 (213/265)	251 (214/281)	247 (215/281)	270 (239/301)	0.035
<b>Latency P160 (ms)</b>	178 (164/194)	178 (160/200)	179 (154/197)	200 (172/231)	0.162
<b>Latency N100 (ms)</b>	126 (102/147)	134 (99/142)	125 (104/146)	149 (121/185)	0.065
<b>Amplitude N200- P300 (µv)</b>	7.01 (4.6/10.2)	8.93 (5.8/10.7)	7.81 (4.2/12.1)	6.26 (2.8/8.0)	0.164
<b>Amplitude N100- P160 (µv)</b>	5.95 (3.9/9.5)	6.63 (4.9/10.3)	6.47 (3.1/7.7)	6.4 (4.7/9.7)	0.622

<sup>a</sup>G1= Seronegative group, G2= HTLV-1-asymptomatic group, G3= possible HAM/TSP group, G4= HAM/TSP group; <sup>b</sup>p= significance probability (Kruskall-Wallis test – p<0.05); ms= milliseconds; µv= microvolt; Data are expressed in median (interquartile range).

The figure 1 shows the between-comparative analysis of the significant variables of Table 4.



**Figure 1.** Comparative analysis of the potentials related to events P300 and N200 between groups; A) comparative analysis of P300; B) comparative analysis of N200. G1= Seronegative group, G2= HTLV-1-asymptomatic group, G3= possible HAM/TSP group, G4=

HAM/TSP group; \* $p < 0.001$ ;  $p$ =significance probability (Bonferroni-corrected  $p$ -values for specific comparisons –  $p < 0.008$ ).

The P-300 latency was delayed in HTLV-1-asymptomatic group (G2); possible HAM/TSP (G3) and HAM/TSP (G4) when compared to controls (G1). The latency of N200 was delayed in HAM/TSP (G4) when compared to controls (G1).

P300 and N200 latencies were defined as abnormal when there was a delay over the mean value + 2,5 SD in the controls. The table 5 shows the frequency of normal and abnormal P300 and N200 latencies in each group.

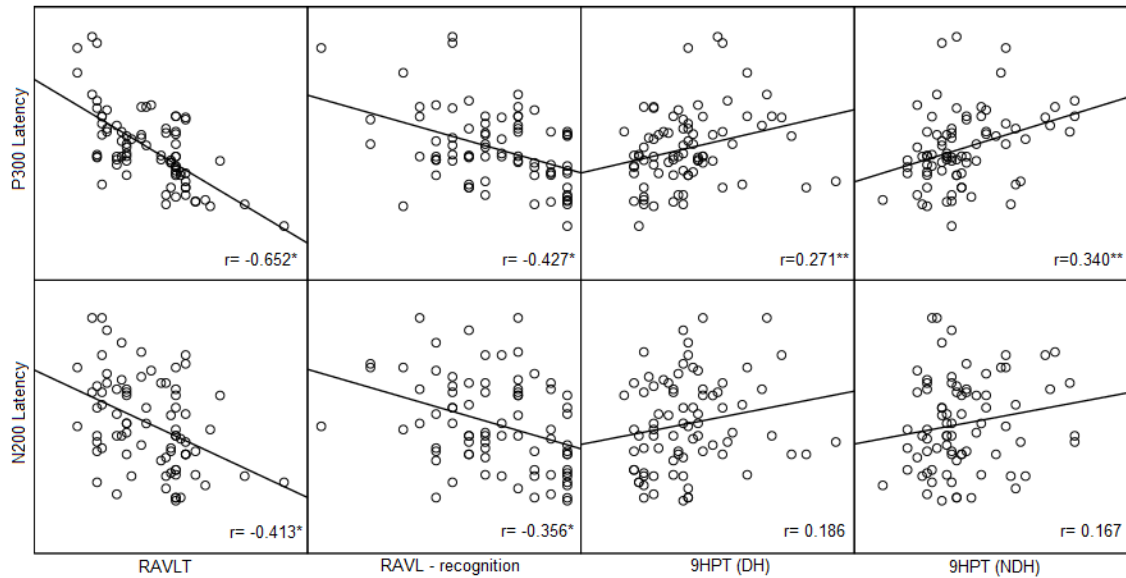
**Table 5.** Comparison of frequency of the normal and abnormal P300 and N200 latencies in each group<sup>a</sup> (N = 113)

Variable	Normality criteria	n and % normal and abnormal latencies				p-value <sup>b</sup>	
		G1 (n=40)	G2 (n=27)	G3 (n=26)	G4 (n=20)		
<b>P300</b>	< 383 ms	Normal	40 (100)	24 (89)	21(81)	13 (65)	0,002 <sup>c</sup>
		Abnormal	0 (0)	3 (11)	5 (19)	7 (35)	
<b>N200</b>	< 319 ms	Normal	40 (100)	27 (100)	25 (96)	15 (75)	0,017 <sup>d</sup>
		Abnormal	0 (0)	0 (0)	1 (4)	5 (25)	

<sup>a</sup>G1= Seronegative group, G2= HTLV-1-asymptomatic group, G3= possible HAM/TSP group, G4= HAM/TSP group; <sup>b</sup> $p < 0.001$ ;  $p$ =significance probability (Fisher's exact test); <sup>c</sup>G1≠G2 ( $p=0.031$ ); G1≠G3 ( $p=0.016$ ); G1≠G4 ( $p < 0.001$ ); <sup>d</sup>G1≠G4 ( $p < 0.001$ ); G2≠G4 ( $p < 0.01$ ), n= number of participants.

### **Correlation between neuropsychological tests and P300/N200 latencies among the groups infected by HTLV-1**

The figure 2 shows a significant negative correlation between the latencies of N200 and P300 and RAVLT and RAVLT-recognition: the more P300 and N200 latencies delayed the lower was the number of words recalled by the person. A significant positive correlation between P300 and 9HPT DH and NDH was observe: the more P300 latency was delayed, the more time the individual requested to complete the task of 9HPT. There was no significant link between N200 latency and 9HPT test (Figure 2).



**Figure 2.** Correlation analysis between P300 and N200 and neuropsychological tests in group infected by HTLV-1. RAVLT= Rey Auditory Learning Test; 9HPT= 9 Hole peg test; NDH= Non-dominant hand; DH= Dominant hand;  $r$ = Spearman correlation coefficient;  $*p < 0.001$ ;  $**p < 0.005$ ;  $p$ =significance.

## DISCUSSION

### Neuropsychological and electrophysiological tests as an auxiliary tools in early diagnosis of cognitive impairment in HTLV-1-associated a myelopathy

This study showed a cognitive impairment in HTLV-1-seropositive patients in different phases of neurologic disease when compared with a control group using neuropsychological tests and long latency auditory evoked potentials.

In neurophysiological tests, we found a lower performance in episodic memory (RAVLT) and motor processing (9HPT) measurements in HTLV-1-infected individuals when compared to controls (table 2). Alterations in these domains had already been previously reported in patients with HAM/TSP<sup>9,33</sup>. Cartier and Gormaz (1999) evaluated 43 patients with HAM/TSP and showed that 50% of these patients had cognitive impairment characterized by memory failure, learning deficit, and limitation in planning capacity<sup>33</sup>. In addition to evaluating individuals with HAM/TSP, we have included asymptomatic subjects and possible HAM/TSP group. Concerning the ability of motor process and attention, we found 18% of altered responses in the asymptomatic group, 27% in HAM/TSP group, and 40% in

HAM/TSP group (table 3). Concerning the ability of episodic memory, we did not find alteration in the asymptomatic group, but we found alteration in 12% of possible HAM/TSP group and 25% in HAM/TSP group (table 3). These results showed abnormalities in motor process in asymptomatic group similar to that already described in a previous study with 40 HTLV-1-asymptomatic carrier, 37 HAM/TSP and 111 healthy people<sup>9</sup>.

Differently from the groups of HTLV-1 participants of Cartier and Gormaz study (1999), our groups of HTLV-1 participants did not differ significantly in the general intelligence and the global cognitive measures. Possibly this fact occurred because we did not include in our sample individuals with depression according to GDS scale. Depression has been associated with HAM/TSP<sup>34</sup> and is related to an unfavorable perception of the physical domain and its implications on social and financial aspects<sup>34</sup>.

The long latency auditory evoked potentials P300 and N200 were delayed in HTLV-1-infected individuals compared to controls (table 4). These potentials evaluated abilities of attention and memory process and these abilities are affected in HTLV-1 infection. Possibly these potentials can be used as markers of cognitive disorders to follow HTLV-1 individuals as it has already been used as an auxiliary tool for the diagnosis of Alzheimer's disease<sup>11</sup> and HAND<sup>16</sup>.

The amplitudes N200-P300 and N100-P160, and P160 and N200 latencies did not differ significantly among the groups, showing that P300 has higher value for diagnosis or monitoring cognitive impairment than P160 and N200.

For categorize the test as normal or abnormal, we established the cut-off values for P300 and N200 considering the results of the control group. The cut-off values for P300 was 383 ms and for N200 was 319 ms. We found a progression in altered P300 response parallel to the progression in neurological alterations: 11% of P300 abnormal in HTLV-1-asymptomatic group, 19% in possible HAM/TSP group, and 35% in HAM/TSP group (table 5). Abnormalities in long latency auditory potentials had already been described in a study that evaluated 14 patients with HAM/TSP<sup>25</sup> and found delayed latency in P300, N200 potentials when compared with the control group. In our study we have included HTLV-1-asymptomatic group and we identified P300 delayed latency in these group comparing to controls. Amazingly, the electrophysiological changes in the cognitive potential P300 occurs in the HTLV-1-asymptomatic carriers, thus earlier than expected (figure 1 and table 5).

### **Correlation between P300 latency parameters and task related to episodic memory, motor skills and attention**

Similarly to other studies, the electrophysiological parameters of P300 and N200 were correlated with neuropsychological data<sup>11,13</sup>. The more P300 and N200 latencies were delayed the lower was the number of words recalled by the person in RAVLT tests. Actually, P300 was already correlated with learning, memory abilities and fluid intelligence<sup>13</sup>. This association can explain the moderate relationship between P300 and RAVLT ( $r=0,65$ ) and RAVLT recognition ( $r=0,42$ ) (Figure 3). P300 and RAVLT assess similar skills, but the results showed abnormalities in P300 in asymptomatic group that will not be found in RAVLT. The group of asymptomatic carriers differed from control group in P300 (table 4 and table 5), but not in RAVLT tests (table 2 and table 3), showing that abnormalities in memory abilities were detectable firstly by P300 test and afterwards by RAVLT test.

The correlation between P300 and 9HPT (NDH) ( $r=0,340$ ) and 9HPT (DH) ( $r=0,271$ ) can be explained by the fact that 9HPT test evaluates sustained attention, information processing speed, and motor functioning while P300 evaluates skills of discrimination, integration and attention. Interestingly, HTLV-1-asymptomatic group, possible HAM/TSP and HAM/TSP were similar in the P300 latencies and in the ability to execute 9HPT, while they have had worse performance than controls for these tests. This discrepancy has called attention about the association of cognitive dysfunction and neurological disability in HTLV-1 infection. It is important to outstanding that HTLV-1-asymptomatic-carriers had a performance in P300 and 9HPT similar to that of individuals with a more advanced HTLV-1-neurological disease (possible HAM/TSP and HAM/TSP). These results suggest that HTLV-1 infection, being asymptomatic or with neurological alterations, may cause cognitive dysfunction.

In this way, P300 and Nine Hole test might be considered in short form protocols for screening of cognitive disorders since these tests are quick and easy to perform, non-invasive and low-cost. Neuropsychological and electrophysiological tests are established to assess cognition and were herein complementary in the evaluation of individuals infected by HTLV-1 in different phases of neurologic disease.

## **Hypothesis about the neurological damage related to HTLV-1**

The most accepted hypothesis about the neurological damage related to HTLV-1 physiopathology considers that lymphocytes infected by HTLV-1 pass through the blood-brain barrier, and release cytokines and other neurotoxic and inflammatory factors that are harmful to the parenchymal cells<sup>35-38</sup>. Infected T CD4+ lymphocytes pass through the blood-brain barrier and interact with T CD8+ lymphocytes in the central nervous system resulting in production of TNF- $\alpha$ , IL-6 and destruction of glial tissue and neurons<sup>39</sup>. We may associate a persistent inflammatory reaction as a possible etiology for lowered cognitive function in HAM/TSP. Studies using magnetic resonance image in patients with HAM/TSP identified lesions in the white matter, which are suggestive of a chronic perivascular compromise<sup>1,8</sup>. These lesions, usually, do not exceed 5 mm in diameter, have an oval and round shape, and are distributed in the subcortical white matter; however, some lesions are larger than 5 mm and tend to have undefined edges<sup>1</sup>. The resulting compromise of such damage in the white matter typically involves sustained attention, episodic memory, visuospatial skills, neuropsychiatric disorders, and neurobehavioral manifestations that are clinically related to a cognitive impairment<sup>40</sup>. Some studies show that lesions in the white matter in brains of patients with HAM/TSP are somewhat similar to those observed in patients with multiple sclerosis<sup>41,42</sup> or in HIV-infected individuals<sup>17</sup>. Cohen et al. (2010) studies have presented white matter dysfunction in patients with HIV-associated neurocognitive disorder (HAND)<sup>17</sup> and Kira et al. (1988) have presented white matter lesions in 50% to 80% of the HTLV-1 patients<sup>6</sup>. Considering the similarities in both white matter conditions, it is possible to infer that HTLV-1 patients might develop a neurological damage similar to HAND. Episodic memory and motor processing are considered the most sensitive indicators of HAND<sup>43</sup> and in our study these domains have had more alterations in HTLV-1 patients than in controls.

## **Potential confounders**

Several studies show that the age<sup>32,44,45</sup>, years of schooling<sup>46,47</sup> and gender<sup>47</sup>, can interfere in P300 or neuropsychological tests. In our study, subgroups of HTLV-1-infected individual and the control group were matched for these characteristics (table 1). Moreover, we excluded patients or controls with potential confounders for cognitive impairment such as HIV infection<sup>16,17</sup>, neurosyphilis<sup>48</sup>, hearing loss<sup>49,50</sup>, and depression<sup>51</sup>. HIV infection is the cause of HAND and this kind of dementia is characterized by difficulties in information

processing, learning, attention, memory, visuoperception, and language<sup>16,17,43</sup>. Hearing loss can interfere in P300 amplitude<sup>50</sup> and in the performance of neurophysiological tests. Neurosyphilis can affect the brain and dementia is a typical manifestation<sup>48</sup>. Depression can interfere in executive functions, memory, attention and speed processing<sup>51,52</sup>.

Factors such as hepatitis B or C<sup>53</sup>, alcoholism<sup>54</sup>, severe or non-corrected visual deficits<sup>55</sup>, brain injury<sup>56</sup> can also interfere in electrophysiological or neuropsychological tests. In our sample, we had no subjects with these characteristics.

### **Limitations**

The main limitation of the present study was the cross-sectional design since the temporal relation between the disease stage and occurrence of cognitive deficits was imprecise. Longitudinal follow-up studies could help to confirm the predictive value of electroneurophysiological and neuropsychological tests in early diagnosis of cognitive impairment in HTLV-1 infection.

### **CONCLUSION**

The cognitive impairment in HTLV-1-seropositive patients is characterized by deficits in verbal memory, learning, attention, auditory discrimination, and motor skills. The alterations occur in a similar way in HAM/TSP and in the asymptomatic carriers. Therefore, we believe that P300 along with neurophysiological tests may be useful to investigate the subclinical involvement of cognition in individuals with HTLV-I infection.

### **ACKNOWLEDGMENTS**

This work received Grant for the students of the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and of the Foundation to support the research of the state of Minas Gerais (FAPEMIG).

**REFERÊNCIAS**

1. Cevilla J, Cartier L, Garcia LF. Brain and spinal cord magnetic resonance imaging in spastic paraparesis associated to T-lymphotropic virus. *Rev Med Chile*. 2006;1010-1018.
2. Iwasaki Y. Human T cell leukemia virus type I infection and chronic myelopathy. *Brain Pathol*. 1993;3(1):1-10.
3. Ogata A, Nagashima K, Tashiro K, Miyakawa A, Mikuni C. MRI-pathological correlate of brain lesions in a necropsy case of HTLV-I associated myelopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1993;56(2):194-196.
4. Yata S, Ogawa T, Sugihara S, Matsusue E, Fujii S, Kinoshita T. HTLV-I carrier with unusual brain MR imaging findings. *Neuroradiology*. 2004;46(9):755-758.
5. Morgan DJ, Caskey MF, Abbehusen C, Oliveira-Filho J, Araujo C, Porto AF, et al. Brain Magnetic Resonance Imaging White Matter Lesions Are Frequent in HTLV-I Carriers and Do Not Discriminate from HAM/ TSP. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2008;23(12):1499-1504.
6. Kira JI, Minato SI, Itoyama Y, Goto I, Kato M, Hasuo K. Leukoencephalopathy in HTLV-I-associated myelopathy: MRI and EEG data. *J Neurol Sci*. 1988;87(2-3):221-232.
7. Godoy AJ, Kira J, Hasuo K, Goto I. Characterization of cerebral white matter lesions of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis in comparison with multiple sclerosis and collagen-vasculitis: a semiquantitative MRI study. *J Neurol Sci*. 1995;133(1-2):102-111.
8. Mendes GB, Kalil RS, Rosadas C, de Freitas MRG, Puccioni-Sohler M. Temporal lesions and widespread involvement of white matter associated with multi-organ inflammatory disease in human T-lymphotropic virus type 1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *Int J Infect Dis*. 2014;25:1-3.

9. Silva MTT, Mattos P, Alfano A, Araújo AQ-C. Neuropsychological assessment in HTLV-1 infection: a comparative study among TSP/HAM, asymptomatic carriers, and healthy controls. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2003;74(8):1085-1089.
10. Ferraz AC, Gabbai AA, Abdala N, Nogueira RG. Ressonância magnetica na mielopatia associada ao HTLV-I: Leucoencefalopatia e atrofia medular. *Arq Neuropsiquiatr*. 1997;55(4):728-736.
11. Bennys K, Portet F, Touchon J, Rondouin G. Diagnostic value of event-related evoked potentials N200 and P300 subcomponents in early diagnosis of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *J Clin Neurophysiol*. 2007;24(5):405-412.
12. Polich J, Ehlers CL, Otis S, Mandell AJ, Bloom FE. P300 latency reflects the degree of cognitive decline in dementing illness. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1986;63(2):138-144.
13. Amin HU, Malik AS, Kamel N, Chooi W-T, Hussain M. P300 correlates with learning & memory abilities and fluid intelligence. *J Neuroeng Rehabil*. 2015;12(1):87.
14. Polich J, Criado JR. Neuropsychology and neuropharmacology of P3a and P3b. *Int J Psychophysiol*. 2006;60(2):172-185.
15. Matas CG, Matas SLD, de Oliveira CRS, Goncalves IC. Auditory evoked potentials and multiple sclerosis. *Arq Neuropsiquiatr*. 2010;68(4):528-534.
16. Covo A, Pinto FR, Matas CG. Long latency auditory evoked potentials in adults with HIV / Aids. 2007;19(4):352-356.
17. Cohen RA, Harezlak J, Gongvatana A, Buchthal S, Clark U, Schifitto G et al. Cerebral metabolite abnormalities in human immunodeficiency virus are associated with cortical and subcortical volumes. *J Neurovirol*. 2010;16(6):435-444.
18. 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(9):1199-1202.
19. Rudolph DL, Khabbaz RF, Folks TM, Lal RB. Detection of human T-lymphotropic virus type-I/II env antibodies by immunoassays using recombinant fusion proteins. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1993;17:35-39.
  20. 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*. 1992;30(6):1605-1607.
  21. Castro-costa CMDE, Araújo AQC, Barreto MM, TAITAYANAGUI OM, SOHLER MP, da SILVA ELM et al. Proposal for Diagnostic Criteria of Tropical Spastic Paraparesis/HTLV-I- Associated Myelopathy (HAM/TSP). *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2006;22(10):931-935.
  22. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983;33(11):1444-1452.
  23. Osame M, Igata A and MM. HTLV-1-associated myelopathy (HAM) treatment trials, retrospective survey and clinical and laboratorial findings. *Hematol Rev*. 1990;3:271-284.
  24. Castelo MS, Coelho-Filho JM, Carvalho AF, et al. Validity of the Brazilian version of the Geriatric Depression Scale (GDS) among primary care patients. *Int Psychogeriatr*. 2010;22(1):109-113.
  25. Fukushima T, Ikeda T, Uyama E, Uchino M, Okabe H, Ando M. Cognitive event-related potentials and brain magnetic resonance imaging in HTLV-1 associated myelopathy (HAM). *J Neurol Sci*. 1994;126(1):30-39.
  26. Malloy-Diniz LF, Lasmar VAP, Gazinelli L de SR, Fuentes D, Salgado JV. The Rey

- Auditory-Verbal Learning Test: applicability for the Brazilian elderly population. *Rev Bras Psiquiatr.* 2007;29(4):324-329.
27. Beato R, Amaral-Carvalho V, Guimarães HC, et al. Frontal assessment battery in a Brazilian sample of healthy controls: normative data. *Arq Neuropsiquiatr.* 2012;70(4):278-280.
  28. Rodríguez C, Jiménez J. Datos normativos para el Test de los Cinco Dígitos: desarrollo evolutivo de la flexibilidad en Educación Primaria. *Eur j educ psychol.* 2012;5:27-38.
  29. Porto CS, Fichman HC, Caramelli P, Bahia VS, Nitrini R. Brazilian version of the Mattis dementia rating scale: Diagnosis of mild dementia in Alzheimer's disease. *Arq Neuropsiquiatr.* 2003;61(2 B):339-345.
  30. Sacktor N, Wong M, Nakasujja N, Skolasky RL, Seines AO, Musisi S et al. The International HIV Dementia Scale: a new rapid screening test for HIV dementia. *AIDS.* 2005;19(13):1367-1374.
  31. Grice KO, Vogel KA, Le V, Mitchell A, Muniz S, Vollmer MA. Adult norms for a commercially available nine hole peg test for finger dexterity. *Am J Occup Ther.* 2003;57(5):570-573.
  32. Stenklev, N.C., & Laukli E. Cortical cognitive potential in elderly persons. *J Am Acad Audiol.* 2004;413(2004):401-413.
  33. Cartier R L, Gormaz W A. Demencia subcortical en paraparesia espástica tropical asociada a HTLV-I: Estudio de 43 casos. *Rev Med Chil.* 1999;127(4):444-450.
  34. Gascón MRP, Capitão CG, Casseb J, Nogueira-Martins MCF, Smid J, Penalva de Oliveira AC. Prevalence of anxiety, depression and quality of life in HTLV-1 infected patients. *Brazilian J Infect Dis.* 2011;15(6):578-582.
  35. Johnson RT. Emerging viral infections of the nervous system. *J Neurovirol.* 2003;9(2):140-147.

36. Cavrois M, Gessain A, Gout O, Wain-Hobson S, Wattel E. Common human T cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) integration sites in cerebrospinal fluid and blood lymphocytes of patients with HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis indicate that HTLV-1 crosses the blood-brain barrier via clonal HT. *J Infect Dis.* 2000;182(4):1044-1050.
37. Starling ALB, Coelho-Dos-Reis JGA, 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.
38. Starling ALB, Martins-Filho OA, Lambertucci JR, Labanca L, Souza-Pereira SR, Teixeira-Carvalho A, et al. Proviral load and the balance of serum cytokines in HTLV-1-asymptomatic infection and in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *Acta Trop.* 2013;125(1):75-81.
39. Lepoutre V, Jain P, Quann K, Wigdahl B, Khan ZK. Role of resident CNS cell populations in HTLV-1-associated neuroinflammatory disease. *Front Biosci (Landmark Ed.)* 2009;14(13):1152-1168.
40. Filley CM. The behavioral neurology of cerebral white matter. *Neurology.* 1998;50(6):1535-1540.
41. Silva Champs AP, de Azeredo Passos VM, Barreto SM, Caramelli P, de Melo CM, Carvalho G, et al. Encephalomyelopathy associated with HTLV-I: A primary disease or coexisting with multiple sclerosis? . *Dement e Neuropsychol.* 2013;7(4):439-443.
42. Puccioni-Sohler M, Yamano Y, Rios M, Carvalho SM, Vasconcelos CC, Papais-Alvarenga R, et al. Differentiation of HAM/TSP from patients with multiple sclerosis infected with HTLV-I. *Neurology.* 2007;68(3):206-213.
43. Woods SP, Moran LM, Carey CL, Dawson MS, Iudicello JE, Gibson S, et al. Prospective memory in HIV infection: Is “remembering to remember” a unique

- predictor of self-reported medication management? *Arch Clin Neuropsychol*. 2008;23(3):257-270.
44. Fjell AM, Walhovd KB, Fischl B, Reinvang I. Cognitive function, P3a/P3b brain potentials, and cortical thickness in aging. *Hum Brain Mapp*. 2007;28(11):1098-1116.
  45. de Paula JJ, Bertola L, Ávila RT, Moreira L, Coutinho G, de Moraes EN, et al. Clinical Applicability and Cutoff Values for an Unstructured Neuropsychological Assessment Protocol for Older Adults with Low Formal Education. *PLoS One*. 2013;8(9).
  46. Hamdan AC, Mara E, Hamdan LR. Effects of age and education level on the Trail Making Test in A healthy Brazilian sample. *Psychol Neurosci*. 2009;2(2):199-203.
  47. Tripathi R, Kumar K, Bharath S, Marimuthu P, Varghese M. Age, education and gender effects on neuropsychological functions in healthy Indian older adults. *Dement Neuropsychol*. 2014;8(2):148-154.
  48. Mehrabian S, Raycheva MR, Petrova EP, Tsankov NK, Traykov LD. Neurosyphilis presenting with dementia, chronic chorioretinitis and adverse reactions to treatment: a case report. *Cases J*. 2009;2:8334.
  49. Reis ACMB, Frizzo ACF, Isaac M de L, Garcia CFD, Funayama CAR, Iório MCM. P300 in individuals with sensorineural hearing loss. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2015;81(2):126-132.
  50. Oates PA, Kurtzberg D, Stapells DR. Effects of sensorineural hearing loss on cortical event-related potential and behavioral measures of speech-sound processing. *Ear Hear*. 2002;23(5):399-415.
  51. Potvin S, Charbonneau G, Juster R-P, Purdon S, Tourjman SV. Self-evaluation and objective assesment of cognition in major depression and attention deficit disorder: implications for clinical practice. *Compr Psychiatry*. 2016;70:53-64.
  52. Lee HS, Choo H Il, Lee DY, et al. Frontal dysfunction underlies depression in mild

- cognitive impairment: A FDG-PET study. *Psychiatry Investig.* 2010;7(3):208-214.
53. Teodoro V, Bragagnolo Jr M, Lucchesi L, Kondo M, Tufik S. [Evaluation of the event-related potential (ERP-P300) in patients with hepatic cirrhosis without encephalopathy]. *Arq Gastroenterol.* 2002;45(1):82-86.
  54. Cunha PJ, Novaes MA. Avaliação neurocognitiva no abuso e dependência do álcool: Implicações para o tratamento. *Rev Bras Psiquiatr.* 2004;26:23-27.
  55. Hill-Briggs F, Dial JG, Morere DA, Joyce A. Neuropsychological assessment of persons with physical disability, visual impairment or blindness, and hearing impairment or deafness. *Arch Clin Neuropsychol.* 2007;22(3):389-404.
  56. Chao LL, Lindgren JA, Flenniken DL, Weiner MW. ERP evidence of impaired central nervous system function in virally suppressed HIV patients on antiretroviral therapy. *Clin Neurophysiol.* 2004;115(7):1583-1591.

## 6 CONCLUSÕES

O G-VEMP contribuiu para a identificação de alteração funcional no trato vestibuloespinal na doença neurológica associada ao HTLV-1, iniciando com o aumento da latência de CL no grupo assintomático, o aumento da latência de CL e ML no grupo possível HAM/TSP até a ausência de CL e ML no grupo HAM/TSP.

A frequência de G-VEMP alterado foi de 42% no grupo assintomático, 69% no grupo com possível HAM/TSP e 100% no grupo com HAM/TSP definida. A alteração do G-VEMP no grupo assintomático indica um possível envolvimento subclínico da medula espinal relacionado à infecção pelo HTLV-1.

A acurácia do G-VEMP para identificação de alteração medular foi a seguinte: resposta de CL com sensibilidade de 76% e especificidade de 86% (AUC= 0,83) e resposta de ML com sensibilidade de 79% e especificidade de 85% (AUC= 0,86). Os pontos de corte estabelecidos foram 64 ms para CL e 122 ms para ML.

Os potenciais evocados auditivos de longa latência P300 e N200 e os testes neuropsicológicos RAVLT e NINE HOLE contribuíram para identificação de possível alteração nas habilidades cognitivas de memória verbal, aprendizagem, atenção, discriminação auditiva e capacidade motora em indivíduos infectados pelo HTLV-1.

O potencial evocado auditivo de longa latência P300 mostrou latência aumentada nos pacientes HTLV-1-assintomáticos, possível HAM/TSP e HAM/TSP quando comparados ao grupo controle e o teste neuropsicológico que avalia atenção e capacidade motora (NINE HOLE) apresentou pior resultado no grupo HTLV-1-assintomático, possível HAM/TSP e HAM/TSP quando comparado ao grupo controle.

P300 e NINE HOLE mostraram-se como ferramentas úteis para investigação do envolvimento subclínico dos danos na cognição em indivíduos infectados pelo HTLV-1.

Houve correlação entre a latência do P300 e NINE HOLE; P300 e RAVLT; N200 e NINE HOLE e N200 e RAVLT.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo evidenciou alterações nos potenciais eletrofisiológicos que avaliam a função medular relacionada a postura e cognição em indivíduos aparentemente assintomáticos para infecção pelo HTLV-1. Possivelmente aqueles indivíduos infectados pelo HTLV-1 classificados pelo exame neurológico como assintomáticos, mas com alterações no G-VEMP e/ou no P300 podem estar apresentando manifestações incipientes de comprometimento neurológico, o que aponta para a possibilidade de ser um grupo de risco para HAM/TSP. Estudos prospectivos poderão auxiliar na definição do real valor do G-VEMP e P300 como marcadores da evolução para HAM/TSP.

Com a finalidade de dar seguimento à pesquisa, os dados resultantes deste estudo estão sendo utilizados como o tempo zero de um estudo com delineamento prospectivo. Os pacientes realizarão novamente os exames G-VEMP e P300 a cada ano, durante três anos, e os resultados obtidos serão comparados e poderão auxiliar na identificação da incidência de alterações medulares e cognitivas entre os indivíduos infectados pelo HTLV-1.

Além disso, os estudos com o uso da GVS fizeram surgir a seguinte hipótese: “A GVS pode ser uma ferramenta útil na reabilitação vestibular para os casos de vestibulopatias periféricas e neuropatias vestibulares?” Diante dessa indagação e com o objetivo de ampliar os estudos da eletroneurofisiologia do sistema auditivo e vestibular, eu tenho a intenção de trabalhar junto à equipe *Biophysique Neurosensorielle UMR INSERM 1107 na Université D’Auvergne*.

Eu pretendo desenvolver o projeto de pesquisa intitulado “*A new functional, anatomical and physiological exploration in animal models of cochleovestibular neuropathies*”, sob supervisão dos professores franceses Paul Avan e Fabrice Giraudet e as professoras brasileiras Denise Utsch Gonçalves e Sirley Alves de Carvalho. Esse projeto faz parte de uma parceria entre a Université D’Auvergne e a Universidade Federal de Minas Gerais por meio do programa CAPES/COFECUB.

Esse estudo auxiliará no entendimento das estruturas anatômicas envolvidas na geração do VEMP e conseqüentemente poderá contribuir para o diagnóstico e o tratamento de pacientes com várias doenças que envolvem a neuropatia vestibular.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, O.P.; ALMEIDA, S.A. Confiabilidade da versão brasileira da Escala de Depressão Geriátrica (GDS) versão reduzida. *Arq Neuropsiquiatr*, v. 57, n. 2B, p. 421-426, 1999.

ANDRADE, D.O. Somatosensitive and motor evoked potentials in HTLV-I associated myelopathy *Arq Neuropsiquiatr*, v. 63, n. 3, p.652-655, 2005.

ANGELINI, A.L. et al. *Matrizes Progressivas Coloridas de Raven: Escala Especial*. Manual. São Paulo: CETEPP, 1999. 36 p.

BEATO, R. et al. Frontal assessment battery in a Brazilian sample of healthy controls: normative data. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, v. 70, n. 4, 278–280, 2012.

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.

BUELL K.G, et al. Effect of Pulsed Methylprednisolone on Pain, in Patients with HTLV-1-Associated Myelopathy. *PLoS One*. v.11, n.4, p. e0152557, 2016.

BRITTON, T.C. et al. Postural electromyographic responses in the arm and leg following galvanic vestibular stimulation in man. *Exp Brain Res*, v. 94, n. 1, p. 143-151, 1993.

CAPORALI, J. F. de 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 Neglected Tropical Diseases*, v. 10, n. 4, p. e0004672, 2016.

CARTIER, L.; GORMAZ, A. Demencia subcortical en paraparesia espástica tropical asociada a HTLV-I: estudio de 43 casos. *Revista médica de Chile*, v. 127, p. 444-450, 1999.

CASTELO, M.S. et al. Validity of the Brazilian version of the Geriatric Depression Scale (GDS) among primary care patients. *International Psychogeriatrics*, v. 22, n. 1, p. 109–113, 2010.

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, n. 10, p. 931–935, 2006.

CATALAN-SOARES, B.C.; CARNEIRO-PROIETTI, A. B. F.; PROIETTI, F. A. HTLV – I/II and blood donors determinants associated with seropositive in low risk population. *Rev Saúde Pública*, v. 37, p. 470-476, 2003.

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.

CAVROIS, M. et al. Common Human T Cell Leukemia Virus Type 1 (HTLV-1) Integration Sites in Cerebrospinal Fluid and Blood Lymphocytes of Patients with HTLV-1–Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis Indicate that HTLV-1 Crosses the Blood-Brain Barrier via Clonal HTLV-1–Infected Cells. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 182, n. 182, p. 1044–1050, 2000.

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.

CHAMPS, A.P.S. Encephalomyelopathy associated with HTLV-I - A primary disease or coexisting with multiple sclerosis? *Dement Neuropsychol*, v. 7, n. 4, p. 439-443, 2013.

CHAO, L et al. ERP evidence of impaired central nervous system function in virally suppressed HIV patients on antiretroviral therapy. *Clin Neurophysiol*, v. 115, p. 1583–1591, 2004.

COHEN, B.; YAKUSHIN, S.; HOLSTEIN, G. R. What does galvanic vestibular stimulation actually activate? *Front. Neur*, v. 2, n. 90, p. 1-2, 2012.

CUNHA, L.C.M et al. Vestibular evoked myogenic potential (VEMP) with galvanic stimulation in normal subjects. *Braz J Otorhinolaryngol*, v. 80, n. 1, p. 48-53, 2013.

CURTHOYS, I.S.; MACDOUGALL, H.G. What galvanic vestibular stimulation actually activates. *Front Neurol*, v. 20, n. 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, n. 3, p. 661-672, 1997.

DUBOIS, B et al.. The FAB: A frontal assessment battery at bedside. *Neurology*, v. 55, p. 1621-1626, 2000.

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. *The Spine Journal*, v. 12, p. 1362-1369, 2012.

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.

FERRAZ, A. C. Ressonância magnética na mielopatia associada ao HTLV-I: Leucoencefalopatia e atrofia medular. *Arq. Neuro-Psiquiatr*, v. 55, n. 4, p. 728-36, 1997.

FILLEY, C. M. The behavioral neurology of cerebral white matter. *Neurology*, v. 50, n. 6, p. 1535–1540, 1998.

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

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, n. 478, p. 363-72, 1994.

FUKUSHIMA, T. et al. Cognitive event-related potentials and brain magnetic resonance imaging in HTLV-1 associated myelopathy (HAM). *Journal of the Neurological Sciences*, v. 126, p. 31, 1994.

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. *Frontiers in Microbiology*, v. 3, p. 1-23, 2012.

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.

GRICE, K. O. et al. Adult norms for a commercially available nine hole peg test for finger dexterity. *American Journal of Occupational Therapy*, v. 57, n. 5, p. 570–573, 2003.

HALL, J. *New Handbook of Auditory Evoked Responses*. Boston: Pearson Education, 2007. 749 p.

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. *Journal of Clinical Microbiology*, 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, n. 7, p. 1584-1592, 2004.

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

IWANAGA, M. et al. Trends in the seroprevalence of HTLV-1 in Japanese blood donors in Nagasaki Prefecture, 2000-2006. *Int J Hematol*, v. 90, p. 186-190, 2009.

JARDIM DE PAULA et al. Clinical Applicability and Cutoff Values for an Unstructured Neuropsychological Assessment Protocol for Older Adults with Low Formal Education. *PLoS ONE*, v. 8, n. 9, p. e73167, 2013.

JARDIM DE PAULA, J et al. Automatic and Controlled Attentional Processes in Amnesic Mild Cognitive Impairment: The Use of a Mini-Verbal Test. *Psychology*, v. 3, n. 5, p. 379-383, 2012.

JASPER, H.H. The ten-twenty electrode system of the international federation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, v. 10, n. 2, p. 371-5, 1958.

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

KATADA, E.; SATO.; K.; OJIKI, K. E. U. R. Cognitive event-related potentials: useful clinical information in Alzheimer's disease. *Current Alzheimer Research*, v. 1, p. 63-69, 2004.

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, n. 3, p. 265-71, 2004.

KIRA, J. et al. Leukoencephalopathy in HTLV-1 associated myelopathy: MRI and EEG data. *J Neurol Sci*, v. 87. p. 221-232, 1988.

KURTZKE, J.F. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis : an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*, v. 33, n. 11, p. 1444-1452, 1983.

LABANCA, L. *Manifestações otoneurológicas em indivíduos infectados pelo HTLV-1 assintomáticos e com mielopatia: estudo comparativo*. 2012. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde: infectologia e medicina tropical) – Centro de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

LABANCA, L. et al. Electrophysiological analysis shows dizziness as the first symptom in Human T Cell Lymphotropic Virus Type-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis. *Aids Research and Human Retroviruses*, v. 31, p. 1-6, 2015.

LAI, C. L. et al. The role of event-related potentials in cognitive decline in Alzheimer's disease. *Clinical Neurophysiology*, v. 121, p. 194–199, 2010.

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. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 30, n. 2, p. 296-299, 1992.

LAPERCHE S., WORMS, B., PILLONEL, J. Blood safety strategies for human T-cell lymphotropic virus in Europe. *Vox Sanguinis*, v. 96, p. 104-110, 2009.

LIECHTI, M. et al. Vestibulospinal responses in motor incomplete spinal cord injury. *Clin Neurophysiol*, v. 119, n. 12, p. 2804-12, 2008.

MALLOY-DINIZ, L. F.. *Avaliação neuropsicológica*. Porto Alegre: Artmed, 2010.

MALLOY-DINIZ et al. Normalización de una batería de tests para evaluar las habilidades de comprensión del lenguaje, fluidez verbal y denominación en niños brasileños de 7 a 10 años: resultados preliminares. *Revista de Neurologia*, v. 44, n. 5, p. 275–280, 2007.

MATOS-CUNHA, L. C. et al. Contribution of galvanic vestibular stimulation for the diagnosis of HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Journal of Clinical*

*Neurology (Korea)*, v. 9, n. 4, p. 252–258, 2013.

MATHIOWETZ, V. et al. Adult Norms for the Nine Hole Peg Test of Finger Dexterity. *The Occupational Therapy Journal of Research*, v. 5, p. 24-33, 1985.

MATTSON, D.H, et al. Central-nervous-svstem lesions detected by magnetic resonance imaging in a HTLV-I antibody positive symptomless individual. *Lancet*, v. 4, p. 49, 1987.

MCPHERSON D. L. *Late potentials of the auditory system*. San Diego: Singular Publishing Group, 1996. 158 p.

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.

MORGAN, D. J.; et aL Brain magnetic resonance imaging white matter lesions are frequent in HTLV-I carriers and do not discriminate from HAM/TSP. *AIDS Res Hum Retroviruses*, v. 23, n. 12, p. 1499-1504, 2007.

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.

MUNHOZ M. S. L. et al. Respostas auditivas de longa latência. In: MUNHOZ, M. S. L. et al. *Audiologia clínica série otoneurologia*. São Paulo: Atheneu, 2000. p. 284.

OGATA, A. et al. MRI pathological correlate of brain lesions in a necropsy case of HTLV-I associated myelopath. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, v. 56, p. 194-196, 1993.

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

OSAME, M. Review of WHO Kagoshima meeting and diagnostic guidelines for HAM/TSP. In: BLATTNER, W (Ed.) *Human retrovirology: HTLV*. Raven, New-York, 1990. p. 191-197.

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.

POLICH, J. et al. P300 latency reflects the degree of cognitive decline in dementing illness. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, v. 63, p. 138-144, 1986.

PORTO, C. S. et al. Brazilian version of the Mattis Dementia Rating Scale. Diagnosis of mild dementia in Alzheimer's Disease. *Arq. Neuropsiquiatr*, v. 61, p. 339-345, 2003.

PROIETTI, A. B. F. C.; FUNDAÇÃO CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DE MINAS GERAIS. *HTLV. 5.* ed. Belo Horizonte: Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais, 2011. 350p. (Cadernos Hemomina, v. 15).

PUCCIONI-SOHLER, M.; YAMANO, Y.; RIOS, M. Differentiation of HAM/TSP from patients with multiple sclerosis infected with HTLV-I. *Neurology*, v. 68, p. 206-213, 2007.

REDONDO, M.C; LOPES FILHO, O.C. Testes básicos de avaliação auditiva. In: FERREIRA L. P. (Ed.). *Tratado de Fonoaudiologia*. São Paulo: Roca, 1996. p. 84-108.

RIBAS, J.G.R.; MELO, G.C.N. Mielopatia associada ao vírus linfotrópico humano de células T do tipo 1 (HTLV-1). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 35, n. 4, p. 377-384, 2002.

ROMANELLI, L.C.F.; CARAMELLI, P.; CARNEIRO-PROIETTI, A.B. O vírus linfotrópico de células t humanos tipo 1 (HTLV-1): quando suspeitar da infecção? *Rev Assoc Med Bras*, v. 56, n. 3, p. 340-347, 2010.

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.

SACKTOR, N.C. et al. The International HIV Dementia Scale: a new rapid screening test for HIV dementia. *AIDS*, v. 19, n. 13, p. 1367-1374, 2005.

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.

SEDÓ, M. *Test de los Cinco Dígitos*. Madrid: T.E.A. 2007.

SILVA, M. T. T. et al. Neuropsychological assessment in HTLV-1 infection: a comparative study among TSP/HAM, asymptomatic carriers, and healthy controls. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, v. 74, p.1085-1089, 2003.

SILVA, A.C.; PINTO, F.R.; MATAS, C.G.; Potenciais evocados auditivos de longa latência em adultos com HIV/Aids. *Pró-Fono Revista de Atualização Científica*, v. 19, p. 35235-6, 2007.

STARLING, A.L.B. et al. Proviral load and the balance of serum cytokines in HTLV-1-asymptomatic infection and in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *Acta Tropica*, v. 125, n. 1, p. 75-81, 2013.

STARLING A.L.B., 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, n. 6, p. 502-512, 2015.

STENKLEV, N.C; LAUKLI, E. Cortical Cognitive Potentials in Elderly Persons. *J Am Acad Audiol*, v. 15, n. 6. p. 401-13, 2004.

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 a/. Chronic progressive cervical myelopathy with HTLV-I infection: Variant form of HAM/TSP? *Neurology*, v. 12, n. 7, p. 1276-80, 2004.

WALHOVD, K.B.; FJELL, A.M. The relationship between P3 and neuropsychological function in an adult life span sample. *Biological Psychology*, v. 62, p. 65-87, 2002.

WATSON, S.R.D.; COLEBATCH, J.G. Vestibular-evoked electromyographic responses in soleus: a comparison between click and galvanic stimulation. *Exp Brain Res*, v. 119, n. 4, p. 504-10, 1998.

WELGAMPOLA, M. S.; COLEBATCH, J. G. Selective effects of ageing on vestibular-dependent lower limb responses following galvanic stimulation. *Clin Neurophysiol*, v. 113, p. 528-534, 2002.

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

YATA, S. et al. HTLV-1 carrier with unusual brain MR imaging findings. *Neuroradiology*, v. 46, p. 755-758, 2004.

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

ZORZI, G. et al. Childhood-onset HAM/TSP with progressive cognitive impairment. *Neurol Sci*, v. 31, p.209-212, 2010.

## APÊNDICE A: Termo de consentimento livre e esclarecido

### Termo de consentimento livre e esclarecido

*“Avaliação do potencial evocado miogênico vestibular (G-VEMP) e do potencial cognitivo (P300) no diagnóstico precoce da mielopatia associada ao HTLV-1”*

Grupo controle: doador da Fundação Hemominas

#### Carta de Informação

Prezado (a) participante,

o HTLV-1 é um vírus que não causa sintoma na grande maioria das pessoas que são portadoras, mas em algumas dessas pessoas ele pode causar problemas neurológicos. O objetivo dessa pesquisa é descobrir se os exames *G-VEMP* e *P300* 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.

Você está sendo convidado por ter sido considerado apto para doação de sangue e, portanto, não possui o vírus.

Caso você aceite o convite, sua participação na pesquisa consistirá em ser entrevistado e examinado por pesquisadores e então fazer os exames *G-VEMP* e *P300* no Hospital das Clínicas, em dia e horário agendado.

Os riscos dos exames são mínimos. No *G-VEMP*, você poderá sentir apenas um desconforto, 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. O *P300* é um exame que avalia a audição e seus reflexos no sistema nervoso central. Lhe será solicitado ouvir alguns sons durante algum tempo, com nenhum desconforto ou desconforto mínimo.

A participação é voluntária, e o(a) Sr(a). poderá desistir de participar a qualquer momento da pesquisa sem a perda de nenhum de seus benefícios. Durante toda a realização da pesquisa, o(a) Sr(a). tem o direito de esclarecer suas dúvidas sobre os procedimentos a que estará sendo submetido(a).

Os dados dessa pesquisa serão analisados e os resultados serão divulgados em revista científica da área de interesse, mas o seu nome sempre estará guardado em sigilo, não aparecendo em nenhum local.

Sendo assim, sua colaboração é fundamental, e desde já, contamos com sua participação.

Atenciosamente,

Professora Denise Utsch Gonçalves  
Otorrinolaringologista  
Orientadora do projeto

Ludimila Labanca  
Fonoaudióloga  
Pesquisadora

#### TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMADO

Eu, ----- (nome do participante), concordo em participar da pesquisa *“Avaliação do potencial evocado miogênico vestibular (G-VEMP) e do potencial cognitivo (P300) no diagnóstico precoce da mielopatia associada ao HTLV-1”*, sabendo que meus dados serão guardados em total sigilo, que serão publicados em revista científica e que poderei deixar de participar do estudo em qualquer momento sem a perda de nenhum de meus benefícios.

Belo Horizonte, \_\_\_\_\_, de \_\_\_\_\_ 201\_\_.

Nome completo e assinatura do participante

#### **Pesquisadores:**

Dra. Denise Utsch Gonçalves – Professora adjunta do Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia da Universidade Federal de Minas Gerais. Tel. (31) 3409-9791

Ludimila Labanca – Mestre em Ciências da Saúde - UFMG; Graduada em Fonoaudiologia pela UFMG. Tel. (31) 998360781

#### **COEP - Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG**

Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II - 2º andar Campus Pampulha  
Belo Horizonte, MG – Brasil 31270-901, [coep@prpq.ufmg.br](mailto:coep@prpq.ufmg.br), Tel: 31 34094592. Aprovação: CEP 342/2012

#### **CEP – Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hemominas**

Alameda Ezequiel Dias, 321, Centro. Belo Horizonte, MG, Tel: 32484500. Aprovação: 733/2012

**Termo de consentimento livre e esclarecido**

*“Avaliação do potencial evocado miogênico vestibular (G-VEMP) e do potencial cognitivo (P300) no diagnóstico precoce da mielopatia associada ao HTLV-1”*

Participantes do GIPH

**Carta de Informação**

Prezado (a) participante,

o HTLV-1 é um vírus que não causa sintoma na grande maioria das pessoas que são portadoras, mas em algumas dessas pessoas ele pode causar problemas neurológicos. O objetivo dessa pesquisa é descobrir se os exames *G-VEMP* e *P300* 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.

Você está sendo convidado por participar do GIPH.

Caso você aceite o convite, sua participação na pesquisa consistirá em ser entrevistado e examinado por pesquisadores e então fazer os exames *G-VEMP* e *P300* no Hospital das Clínicas, em dia e horário agendado.

Os riscos dos exames são mínimos. No *G-VEMP*, você poderá sentir apenas um desconforto, 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. O *P300* é um exame que avalia a audição e seus reflexos no sistema nervoso central. Lhe será solicitado ouvir alguns sons durante algum tempo, com nenhum desconforto ou desconforto mínimo.

A sua participação é voluntária, e o(a) Sr(a). poderá desistir de participar a qualquer momento da pesquisa sem a perda de nenhum de seus benefícios. Durante toda a realização da pesquisa, o(a) Sr(a). tem o direito de esclarecer suas dúvidas sobre os procedimentos a que estará sendo submetido(a).

Os dados dessa pesquisa serão analisados e os resultados serão divulgados em revista científica da área de interesse, mas o seu nome sempre estará guardado em sigilo, não aparecendo em nenhum local.

Sendo assim, sua colaboração é fundamental, e desde já, contamos com sua participação.

Atenciosamente,

Professora Denise Utsch Gonçalves  
Otorrinolaringologista  
Orientadora do projeto

Ludimila Labanca  
Fonoaudióloga  
Pesquisadora

**TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMADO**

Eu, ----- (nome do participante), concordo em participar da pesquisa *“Avaliação do potencial evocado miogênico vestibular (G-VEMP) e do potencial cognitivo (P300) no diagnóstico precoce da mielopatia associada ao HTLV-1”*, sabendo que meus dados serão guardados em total sigilo, que serão publicados em revista científica e que poderei deixar de participar do estudo em qualquer momento sem a perda de nenhum de meus benefícios.

Belo Horizonte, \_\_\_\_\_, de \_\_\_\_\_ 201\_\_.

\_\_\_\_\_  
Nome completo e assinatura do participante

**Pesquisadores:**

Dra. Denise Utsch Gonçalves – Professora adjunta do Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia da Universidade Federal de Minas Gerais. Tel. (31) 3409-9791

Ludimila Labanca – Mestre em Ciências da Saúde - UFMG; Graduada em Fonoaudiologia pela UFMG. Tel. (31) 998360781

**COEP - Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG**

Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II - 2º andar Campus Pampulha  
Belo Horizonte, MG – Brasil 31270-901, [coep@prpq.ufmg.br](mailto:coep@prpq.ufmg.br), Tel: 31 34094592. Aprovação: CEP 342/2012

**CEP – Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hemominas**

Alameda Ezequiel Dias, 321, Centro. Belo Horizonte, MG, Tel: 32484500. Aprovação: 733/2012

## APÊNDICE B: Protocolo de pesquisa

### PROTOCOLO DE PESQUISA

#### IDENTIFICAÇÃO

IDHEMOMINAS \_\_\_\_\_  
 IDPESQUISA \_\_\_\_\_  
 DATA DO EXAME \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
 SEXO \_\_\_\_ 1-Feminino 2-Masculino  
 NATURALIDADE \_\_\_\_\_  
 DATA DE NASCIMENTO \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
 IDADE \_\_\_\_\_  
 ESCOLARIDADE ANOS \_\_\_\_\_  
 ESCOLARIDADE CATEGORIA \_\_\_\_\_ 0-Analfabeto 1-Fundamental incompleto  
 2-Fundamental completo 3-médio incompleto 4-Médio completo 5-Superior incompleto 6-Superior  
 completo 7-Pós-graduação  
 PROFISSÃO \_\_\_\_\_  
 CRITÉRIO BRASIL \_\_\_\_\_  
 SIT SOCIO ECO CATEGORIA \_\_\_\_ 1-E 2-D 3-C2 4-C1 5-B2 6-B1 7-A2 8-A1  
 ESTADO CIVIL \_\_\_\_ 0-Solteiro 1-Casado 2- Viúvo 3-Separado 4-Divorciado 5-Amasiado  
 PESO \_\_\_\_\_  
 ALTURA \_\_\_\_\_  
 PA SISTÓLICA \_\_\_\_\_  
 PA DIASTÓLICA \_\_\_\_\_  
 FC \_\_\_\_\_ bpm  
 HORAS DE SONO NA NOITE ANTERIOR \_\_\_\_  
 MÃO DOMINANTE \_\_\_\_ 1-Direita 2-Esquerda  
 GRUPO \_\_\_\_ 1-HTLV 2-CONTROLE 5-OUTRO

#### SAÚDE GERAL

MEDICAMENTO \_\_\_\_\_

SE SIM,

QUAL \_\_\_\_\_

SINTOMA NA CABEÇA \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim

SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_

SINTOMA NOS OLHOS \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim

SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_

PERDA AUDITIVA \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim

SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_

ZUMBIDO \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim

SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_

TONTURA \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim

SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_

CONVULSÃO \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim

SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_

SINTOMA NO INTESTINO \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim

SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_

SINTOMA SISTEMA URINÁRIO \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim

SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_

SINTOMA SISTEMA GENITAL FEMININO \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim 9-não se aplica

SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_

SINTOMA SISTEMA GENITAL MASCULINO \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim 9-não se aplica

SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_

SINTOMA RESPIRATÓRIO \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim

SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_

SINTOMA HEMATOLÓGICO \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim

SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_

SINTOMA METABÓLICO \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim

SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_

SINTOMA SISTEMA CARDIOVASCULAR \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim

SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_

SINTOMA NO INTESTINO \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim

SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_

CONVULSÃO \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim  
 SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_  
 SINTOMA NO CORPO \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim  
 SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_  
 SINTOMA NOS BRAÇOS \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim  
 SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_  
 SINTOMA NAS PERNAS \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim  
 SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_  
 CIRURGIA \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim  
 SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_  
 VERMES \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim  
 SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_  
 COINFECÇÃO \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim  
 SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_  
 TABAGISTA \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim 3-Ex-tabagista  
 SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_  
 ETILISTA \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim 3-Ex-etilista  
 SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_  
 USO DE DROGAS ILÍCITAS \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim  
 SE SIM, DESCREVA \_\_\_\_\_  
 PALPAÇÃO LINFONODOS \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 SE ALTERADO, DESCREVA \_\_\_\_\_  
 ABDOMEN \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 SE ALTERADO, DESCREVA \_\_\_\_\_  
 GDS \_\_\_\_\_  
 SUSPEITA DE SINTOMA DEPRESSIVO \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim  
 AVD \_\_\_\_\_  
 SITUAÇÃO AVD \_\_\_\_\_ 0- Independente 1-Parcialmente dependente 2- Dependente

#### EXAME NEUROLÓGICO

FALA \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 DESCREVA \_\_\_\_\_  
 NERVOS CRÂNIANOS \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 DESCREVA \_\_\_\_\_  
 SENSIBILIDADE \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 DESCREVA \_\_\_\_\_  
 REF CUTÂNEO ABDOMINAL \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 DESCREVA \_\_\_\_\_  
 REF TENDÍNEOS BICIPITAL \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 DESCREVA \_\_\_\_\_  
 REF TENDÍNEOS TRICIPITAL \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 DESCREVA \_\_\_\_\_  
 REF TENDÍNEO RADIAL \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 DESCREVA \_\_\_\_\_  
 REF TENDÍNEO PATELAR \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 DESCREVA \_\_\_\_\_  
 REF TENDÍNEOS AQUILEU \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 DESCREVA \_\_\_\_\_  
 FORÇA MUSCULAR MS PROXIMAL \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 DESCREVA \_\_\_\_\_  
 FORÇA MUSCULAR MS DISTAL \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 DESCREVA \_\_\_\_\_  
 FORÇA MUSCULAR MI PROXIMAL \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 DESCREVA \_\_\_\_\_  
 FORÇA MUSCULAR MI DISTAL \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 DESCREVA \_\_\_\_\_  
 ATROFIA \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 DESCREVA \_\_\_\_\_  
 MARCHA \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 DESCREVA \_\_\_\_\_  
 COORDENAÇÃO \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 DESCREVA \_\_\_\_\_  
 ROMBERG \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 DESCREVA \_\_\_\_\_  
 MOVIMENTOS ANORMAIS \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 DESCREVA \_\_\_\_\_  
 EDSS \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_  
 OSAME \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_  
 RESULTADO EXAME NEUROLÓGICO \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado  
 CLASSIFICAÇÃO NEUROLÓGICA \_\_\_\_\_ 1-controle 2-assintomático 3-Possível HAM/TSP 4- HAM/TSP  
 provável ou definida

**AUDIOMETRIA**

REALIZOU \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim

OD 500Hz \_\_\_\_\_ dB  
 OD 1000Hz \_\_\_\_\_ dB  
 OD 2000Hz \_\_\_\_\_ dB  
 OD 4000Hz \_\_\_\_\_ dB

OE 500Hz \_\_\_\_\_ dB  
 OE 1000Hz \_\_\_\_\_ dB  
 OE 2000Hz \_\_\_\_\_ dB  
 OE 4000Hz \_\_\_\_\_ dB

RESULTADO OD \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado

RESULTADO OE \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado

**PEATE**

REALIZOU \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim

OD INTENSIDADE \_\_\_\_\_ dB

OD L ONDA I \_\_\_\_\_ ms

OD L ONDA III \_\_\_\_\_ ms

OD L ONDA V \_\_\_\_\_ ms

OD I I-III \_\_\_\_\_ ms

OD L III-V \_\_\_\_\_ ms

OD L I-V \_\_\_\_\_ ms

RESULTADO \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado

DESCREVA \_\_\_\_\_

REALIZOU \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim

OE INTENSIDADE \_\_\_\_\_ dB

OE L ONDA I \_\_\_\_\_ ms

OE L ONDA III \_\_\_\_\_ ms

OE L ONDA V \_\_\_\_\_ ms

OE I I-III \_\_\_\_\_ ms

OE L III-V \_\_\_\_\_ ms

OE L I-V \_\_\_\_\_ ms

RESULTADO \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado

DESCREVA \_\_\_\_\_

**P300**

REALIZOU \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim

INTENSIDADE \_\_\_\_\_ dB

EXAMINADOR \_\_\_\_\_

1L N1 \_\_\_\_\_ ms

1L P2 \_\_\_\_\_ ms

1L N2 \_\_\_\_\_ ms

1L P300 \_\_\_\_\_ ms

1A N1-P2 \_\_\_\_\_ ms

1A N2-P300 \_\_\_\_\_ ms

1RESULTADO \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado

1DESCREVA \_\_\_\_\_

REALIZOU \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim

INTENSIDADE \_\_\_\_\_ dB

EXAMINADOR \_\_\_\_\_

2L N1 \_\_\_\_\_ ms

2L P2 \_\_\_\_\_ ms

2L N2 \_\_\_\_\_ ms

2L P300 \_\_\_\_\_ ms

2A N1-P2 \_\_\_\_\_ ms

2A N2-P300 \_\_\_\_\_ ms

2RESULTADO \_\_\_\_\_ 0-normal 1-alterado

2DESCREVA \_\_\_\_\_

**VEMP-G**

REALIZOU \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim

EXAMINADOR \_\_\_\_\_

1LPECL1 \_\_\_\_\_

1LPEML1 \_\_\_\_\_  
 1LPECL2 \_\_\_\_\_  
 1LPEML2 \_\_\_\_\_  
 1DESCREVA \_\_\_\_\_

1LPDCL1 \_\_\_\_\_  
 1LPDML1 \_\_\_\_\_  
 1LPDCL2 \_\_\_\_\_  
 1LPDML2 \_\_\_\_\_  
 1DESCREVA \_\_\_\_\_

1APECL1 \_\_\_\_\_  
 1APEML1 \_\_\_\_\_  
 1APECL2 \_\_\_\_\_  
 1APEML2 \_\_\_\_\_  
 1DESCREVA \_\_\_\_\_

1APDCL1 \_\_\_\_\_  
 1APDML1 \_\_\_\_\_  
 1APDCL2 \_\_\_\_\_  
 1APDML2 \_\_\_\_\_  
 1DESCREVA \_\_\_\_\_

EXAMINADOR \_\_\_\_\_  
 2LPECL1 \_\_\_\_\_  
 2LPEML1 \_\_\_\_\_  
 2LPECL2 \_\_\_\_\_  
 2LPEML2 \_\_\_\_\_  
 2DESCREVA \_\_\_\_\_

2LPDCL1 \_\_\_\_\_  
 2LPDML1 \_\_\_\_\_  
 2LPDCL2 \_\_\_\_\_  
 2LPDML2 \_\_\_\_\_  
 2DESCREVA \_\_\_\_\_

2APECL1 \_\_\_\_\_  
 2APEML1 \_\_\_\_\_  
 2APECL2 \_\_\_\_\_  
 2APEML2 \_\_\_\_\_  
 2DESCREVA \_\_\_\_\_

2APDCL1 \_\_\_\_\_  
 2APDML1 \_\_\_\_\_  
 2APDCL2 \_\_\_\_\_  
 2APDML2 \_\_\_\_\_  
 2DESCREVA \_\_\_\_\_

### NEUROPSICOLÓGICO

REALIZOU \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim  
 APLICADOR \_\_\_\_\_  
 DATA DO EXAME \_\_\_\_\_

#### MATRIZES COLORIDAS DE RAVEN

REALIZOU \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim  
 RAVEN A \_\_\_\_\_  
 RAVEN AB \_\_\_\_\_  
 RAVEN TOTAL \_\_\_\_\_  
 DESCREVA \_\_\_\_\_

#### MATTIS

REALIZOU \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim  
 MATTISATENÇÃO \_\_\_\_\_  
 MATTISINICIAÇÃO E PERSEVERAÇÃO \_\_\_\_\_  
 MATTISCONSTRUÇÃO \_\_\_\_\_  
 MATTISCONCEITUAÇÃO \_\_\_\_\_  
 MATTISMEMÓRIA \_\_\_\_\_  
 MATTISTOTAL \_\_\_\_\_  
 DESCREVA \_\_\_\_\_

## RAVLT

REALIZOU \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim  
 RAVLTA1 \_\_\_\_\_  
 RAVLTA2 \_\_\_\_\_  
 RAVLTA3 \_\_\_\_\_  
 RAVLTA4 \_\_\_\_\_  
 RAVLTA5 \_\_\_\_\_  
 RAVLTB1 \_\_\_\_\_  
 RAVLTA6 \_\_\_\_\_  
 RAVLTA7 \_\_\_\_\_  
 RAVLTTOTAL 1A5 \_\_\_\_\_  
 RAVLT REC TOTAL35 \_\_\_\_\_  
 DESCREVA \_\_\_\_\_

## CINCO DÍGITOS

REALIZOU \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim  
 LEITURA \_\_\_\_\_ s  
 ERROS \_\_\_\_\_  
 CONTAGEM \_\_\_\_\_ s  
 ERROS \_\_\_\_\_  
 CONTROLE \_\_\_\_\_ s  
 ERROS \_\_\_\_\_  
 FLEXIBILIDADE \_\_\_\_\_ s  
 ERROS \_\_\_\_\_  
 DESCREVA \_\_\_\_\_

## NINE HOLE

REALIZOU \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim  
 D1 \_\_\_\_\_  
 ND1 \_\_\_\_\_  
 D2 \_\_\_\_\_  
 ND2 \_\_\_\_\_  
 DESCREVA \_\_\_\_\_

## FAB

REALIZOU \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim  
 FAB SEMELHANÇA \_\_\_\_\_  
 FAB FLUÊNCIA \_\_\_\_\_  
 FAB LURIA \_\_\_\_\_  
 FAB CONFLITO \_\_\_\_\_  
 FAB GO NO GO \_\_\_\_\_  
 FAB PREENSÃO \_\_\_\_\_  
 FAB TOTAL \_\_\_\_\_  
 DESCREVA \_\_\_\_\_

## IHDS

REALIZOU \_\_\_\_\_ 0-não 1-sim  
 IHDS1 \_\_\_\_\_  
 IHDS2 \_\_\_\_\_  
 IHDS3 \_\_\_\_\_  
 IHDS TOTAL \_\_\_\_\_  
 DESCREVA \_\_\_\_\_

## ANEXO A: Artigo publicado

AIDS RESEARCH AND HUMAN RETROVIRUSES  
Volume 31, Number 00, 2015  
Mary Ann Liebert, Inc.  
DOI: 10.1089/aid.2014.0153

## Electrophysiological Analysis Shows Dizziness as the First Symptom in Human T Cell Lymphotropic Virus Type-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis

Ludimila Labanca,<sup>1,2</sup> Ana Lúcia Borges Starling,<sup>1-3</sup> Silvio Roberto de Sousa-Pereira,<sup>1</sup>  
Luiz Cláudio Ferreira Romanelli,<sup>2,3</sup> Anna Bárbara de Freitas Carneiro-Proietti,<sup>2,3</sup>  
Lucas Novaes Carvalho,<sup>1</sup> Daniele Rosa Fernandes,<sup>1</sup> and Denise Utsch Gonçalves<sup>1,2</sup>

### Abstract

Dizziness is a symptom in human T cell lymphotropic virus type-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) and may occur due to vestibulospinal tract dysfunction. This tract can be assessed by an electrophysiological test called vestibular-evoked myogenic potential (VEMP). The aim was to correlate the result of VEMP generated by acoustic stimuli and dizziness in individuals with human T cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-asymptomatic infection and HAM/TSP. VEMP was recorded from the sternocleidomastoid muscle of 60 HTLV-1-negative adults ( $60 \pm 8$  years) and 60 individuals infected with HTLV-1, 30 being asymptomatic ( $59 \pm 8$  years) and 30 with HAM/TSP ( $59 \pm 8$  years). In all groups, 90% of the participants were women. VEMP was generated by acoustic stimuli (short tone bursts), with an intensity of 118 dBHL and band-pass filter from 10 Hz to 1,500 Hz, and presented 200 stimuli at a frequency of 1,000 Hz with a record time of 60 ms. Of 60 HTLV-1-negative individuals, 14 (23%) reported dizziness; VEMP was normal in all. In the HTLV-1-asymptomatic group, 11 (37%) complained of dizziness ( $p=0.31$ ); VEMP was altered in four (40%) subjects with dizziness and in one (5%) without dizziness ( $p=0.00$ ). In the group with HAM/TSP, dizziness was reported by 17 (57%) subjects ( $p=0.002$ ); VEMP was altered in 11 (64%) with dizziness and in 5 (38%) without dizziness ( $p=0.15$ ). Dizziness without an apparent etiology in HTLV-1-asymptomatic carriers deserves attention in terms of a possible subclinical spinal cord involvement that can be clarified through spinal electrophysiological tests. Damage of the vestibulospinal tract seems to occur in the early stages of HAM/TSP.

### Introduction

**H**UMAN T CELL LYMPHOTROPIC VIRUS type 1 (HTLV-1) causes inflammatory changes in the spine.<sup>1-3</sup> HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) is a disease of slow and progressive evolution that predominantly affects the anterior thoracic spinal cord, although the entire neuraxis can be damaged, including fibers that influence the control of muscle tone, such as the cerebellum, brainstem, and vestibulospinal tracts.<sup>4,5</sup> Thus, it is expected that the reflexes related to body balance may be altered in HAM/TSP.<sup>4</sup> Actually, frequent complaints of dizziness among individuals with HAM/TSP has been re-

ported<sup>6,7</sup> and damage of the vestibulospinal pathway was identified through vestibular-evoked myogenic potential (VEMP) as a precocious electrophysiological alteration of individuals who afterward developed HAM/TSP.<sup>6,8,9</sup> However, dizziness as a clinical manifestation has not yet been correlated with the electrophysiological alterations of the vestibulospinal pathway and had not yet been analyzed as a prognostic marker of HAM/TSP.

The aim of the present study was to compare the complaints of dizziness with the results of VEMP generated by acoustic stimuli in individuals with HTLV-1-asymptomatic infection and individuals with HAM/TSP, using a matched group by age and gender of healthy and HTLV-1-seronegative individuals.

<sup>1</sup>Tropical Medicine Post Graduate Program, Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

<sup>2</sup>Interdisciplinary HTLV Research Group (GIPH), Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

<sup>3</sup>Minas Gerais State Center of Hematology and Blood Transfusion (Fundação Hemominas), Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

## Materials and Methods

### Ethical aspects

Approval was obtained by the Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais, number 0437.0.203.000-10, and the Ethics Committee of the Hemominas Foundation, number 290. All participants gave voluntary written consent and declared they were aware of the procedures and their freedom to participate.

### Subjects

The Interdisciplinary HTLV Research Group (GIPH) studies the natural history, the clinical manifestations, and the epidemiological aspects of HTLV infection.<sup>10,11</sup> This group has been following individuals infected with HTLV since 1997 in the state of Minas Gerais, Brazil, in an open cohort. As part of the cohort, over 637 HTLV-infected and 232 noninfected individuals were enrolled.<sup>11</sup>

The present study is a transversal evaluation of 120 participants in the GIPH cohort.<sup>2,11</sup> The participants were randomly selected from the list of individuals enrolled in the cohort. The HTLV-1-seropositive participants fulfilled the criteria of either being asymptomatic carriers or having HAM/TSP.<sup>12</sup> The individuals were invited to participate by telephone for the HTLV-1-seropositive group and by personal contact before blood donation for the HTLV-1-seronegative group.

The participants were 60 healthy blood donors and 60 infected with HTLV-1. The latter group consisted of two subgroups, according to the Expanded Disability Status Scale (EDSS)<sup>13</sup> and OSAME scale<sup>14</sup>: 30 HTLV-1-asymptomatic carriers, from a neurological point of view (EDSS and OSAME = 0 in both scales) and 30 with a definite diagnosis of HAM/TSP (EDSS and OSAME greater than 2 on both scales). The 60 individuals noninfected with HTLV-1 were matched by gender and age with the individuals of the groups infected with HTLV-1.

### HTLV-1 diagnosis

All the participants were submitted to serological screening for blood-borne pathogens, regularly applied in blood centers. The HTLV-1 infection in blood was based on two positive examinations using different samples. The individuals with a reactive HTLV screening test (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA, Bio-Rad, USA) were tested by Western blot (WB-MP Diagnostics, Singapore); those with any other positive results in the screening tests were excluded.<sup>10</sup>

### Study design

The study was a sectional analysis of the GIPH cohort. The risk factor was HTLV-1 infection and the dependent variables were manifestations of dizziness and VEMP analysis. All participants underwent a medical interview concerning their general health status and otoneurological manifestations and were evaluated by the otolaryngologist, neurologist, and audiologist and submitted to specific tests to exclude any clinical cause of dizziness.<sup>15-17</sup>

All the participants underwent VEMP and all the individuals with dizziness were submitted to a clinical and

otoneurological examination along with specific examinations in order to clarify the causes related to peripheral labyrinth disease and related to neurological, psychiatric, cardiovascular, endocrinological, and orthopedic diseases that may present dizziness.<sup>16</sup>

### Vestibular-evoked myogenic potential

VEMP testing has been used to evaluate diseases related to the peripheral vestibular system, mainly the saccule and its afferents.<sup>18</sup> This evoked potential is activated by either sound or galvanic stimulation and both stimuli trigger the vestibulo-spinal myogenic reflex.<sup>9,18</sup> The pathways of VEMP activated by sound are the saccular macula in the internal ear, the inferior vestibular nerve, the medial vestibular nucleus in the brainstem, the vestibular spinal descending pathways, and finally the motor neurons of the ipsilateral sternocleidomastoid muscle.<sup>19</sup> As the neural pathway includes the vestibulo-spinal tract, this testing can also be used to evaluate the integrity of the spinal cord.<sup>20</sup>

The VEMP response consists of two waves of reversal polarity at 13 ms and 23 ms.<sup>21</sup> The first wave is positive (P13) followed by a second negative wave (N23).<sup>21</sup> The changes of the amplitude are the most reliable measure to evaluate diseases of the internal ear<sup>22</sup> and the prolonged latency, mainly of P13, can be found in central disturbances.<sup>23</sup>

The use of VEMP in the evaluation of patients with HAM/TSP has previously been described.<sup>6,8,9</sup> In the present study, high-intensity sound was used to activate the reflex, and the response was recorded by surface electromyography electrodes on the sternocleidomastoid muscle.<sup>18,19,21</sup> The electromyographic (EMG) activity was recorded from the upper half of the sternocleidomastoid (SCM) muscle using surface electrodes, with a reference on the upper sternum and a ground electrode on the forehead.<sup>9,20</sup> During each recording session, in seated position, the subject was instructed to rotate the head toward the contralateral side of the tested ear to keep the SCM muscle under tension (Fig. 1). VEMP was generated by acoustic stimuli (short tone bursts), with an intensity of 118 dBHL and band-pass filter from 10 Hz to 1,500 Hz, was presented 200 stimuli at a frequency of 1,000 Hz with a record time of 60 ms, and the electromyographic signals were amplified (model MASBE/ActPlus, Contronic, BR). The response was recorded from the SCM muscle on each side. The examination was replicated to confirm the electrophysiological origin.

### Data analysis

The analysis of VEMP results was masked and was done by two examiners in a blind way. The measured parameters were the peak latency of the two waves P13-N23.<sup>19,21</sup> The accepted variation of normality was two standard deviations of P13-N23 values of the uninfected group, which was latency  $\leq 15$  ms for P13 and  $\leq 26$  ms for N23.

The results of VEMP were classified as normal (Fig. 2A) or abnormal (Fig. 2B and C). The abnormal VEMP showed either prolonged latency (Fig. 2B) or undetectable response (Fig. 2C). The results of VEMP were compared with the complaint of dizziness for each group (HTLV-1 asymptomatic, HAM/TSP, and healthy individuals).

The statistical analysis was performed using the Statistical Package for Social Sciences, version 18.0 for Windows, SPSS

**FIG. 1.** Technical execution of vestibular-evoked myogenic potential (VEMP): ear phones and electrode position. GE, ground electrode; AE, activity electrode on sternocleidomastoid muscle; R, reference electrode on sternum.



(Chicago, IL). The between-groups comparisons for continuous variables were made through the Mann-Whitney test or *t*-test. The between-groups comparisons for categorical variables were made through the Qui-square Pearson test or Fisher test when samples with small frequencies were used. In the cross-analysis of correlations, a significance level of 5% (error type I) was considered and a power of 80% (type II error). Aiming at the magnitude of the association between exposure to the risk factor and the dependent variables, the prevalence ratio (PR) was calculated. The confidence interval (95%) was calculated in order to evaluate the sample variability.

## Results

Among the 60 individuals uninfected with HTLV-1 (controls), the mean age was  $60 \pm 8$  (SD) years. Among the HTLV-1-infected individuals, the mean age was  $59 \pm 8$  years for the 30 asymptomatic carriers and  $59 \pm 8$  years for the 30 with HAM/TSP ( $p=0.733$ ). In all groups, 90% of the participants were women.

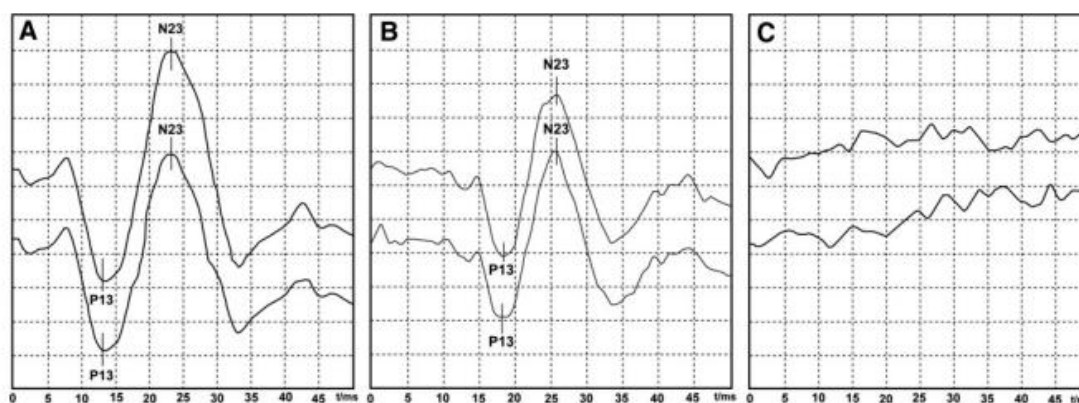
In the uninfected group, VEMP was found to have the same pattern of wave for all individuals (Fig. 2A). In the

HTLV-1-infected group, the most common pattern was prolonged latency for the asymptomatic group and undetectable response and prolonged latency for the HAM/TSP group.

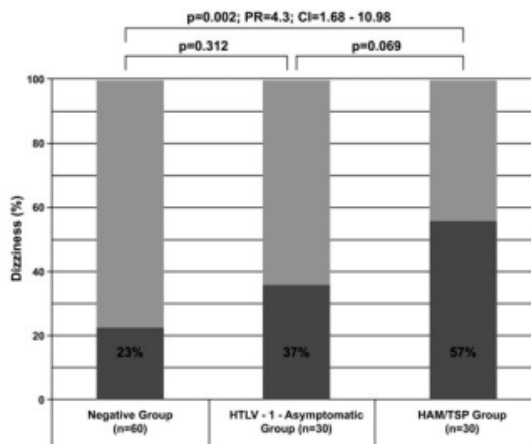
In the HTLV-1 asymptomatic group, VEMP was abnormal in 5/30 (17%) participants. The characteristic of abnormal response was prolonged latency. In the HAM/TSP group, VEMP was abnormal in 16/30 (53%) participants. A prolonged response was observed in 12/16 (75%) participants and an undetectable response in 4/16 (25%) participants.

Figure 3 shows the frequency of dizziness in each group. Of 60 HTLV-1-uninfected individuals, 14 (23%) reported dizziness; VEMP was normal in all. In the HTLV-1-asymptomatic group, 11/30 (37%) complained of dizziness ( $p=0.31$ ); VEMP was altered in 4/11 (40%) subjects with dizziness and in 1/19 (5%) subjects without dizziness ( $p=0.00$ ). In the group with HAM/TSP, dizziness was reported by 17/30 (57%) subjects ( $p=0.002$ ); VEMP was altered in 11/17 (65%) subjects with dizziness and in 5/13 (38%) subjects without dizziness ( $p=0.15$ ).

Figure 4 shows the comparison of VEMP latency among the groups with and without dizziness. The participants with



**FIG. 2.** Examples of tracings obtained by vestibular-evoked myogenic potential (VEMP) recorded from the sternocleidomastoid muscle. (A) VEMP with normal latency of an uninfected individual. (B) VEMP with prolonged latency of an individual with an apparent asymptomatic human T cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) infection. (C) VEMP with undetectable response of an individual with HAM/TSP. t, time; ms, milliseconds



**FIG. 3.** Dizziness among the groups: HTLV-1-asymptomatic carrier, HAM/TSP, and uninfected individuals.  $N=120$ . Light gray box, absence of dizziness; dark gray box, presence of dizziness;  $n$ , number of participants; PR, prevalence ratio; CI, confidence interval;  $p$ ,  $p$ -value (Chi-Square test or Fisher's Exact test).

undetectable response were not plot in the figure and the statistical significance was reached considering the results in which latency was record. The results show that the latency of VEMP was higher in HTLV-1-asymptomatic ( $p=0.02$ ) and HAM/TSP groups with dizziness ( $p=0.03$ ).

### Discussion

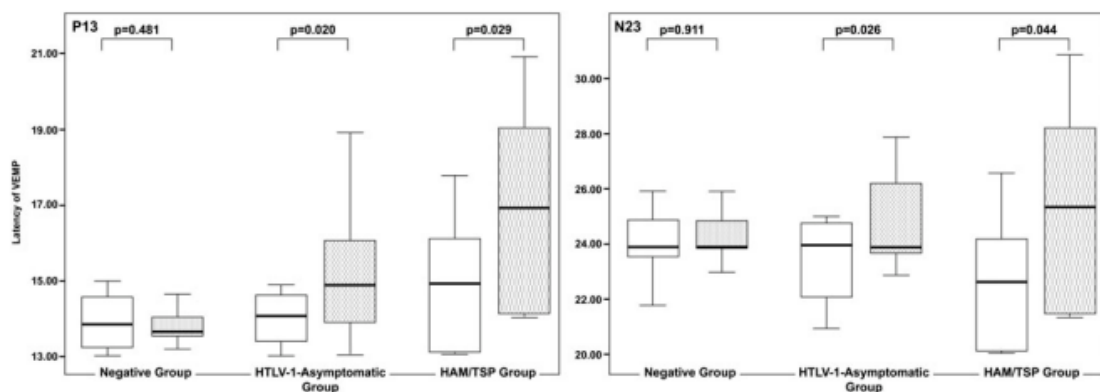
In HTLV-1-endemic areas, HTLV-1 seroprevalence increases with age and is higher in women than in men.<sup>11,24</sup> The increase of prevalence with age may be explained by the accumulation of seroconversions over the lifetime; the higher prevalence in females may be due to a more efficient male-to-female transmission during sexual intercourse. Hormonal effects may also play a role in female susceptibility.<sup>24</sup>

In the present study, the frequency of dizziness was approximately four times higher in those with HAM/TSP compared to the HTLV-1-seronegative individual. Interestingly, for the HTLV-1-asymptomatic carriers, the complaint of dizziness was similar in frequency when compared to the general population in which this symptom is mentioned by 20% to 30% of individuals aged 60 years.<sup>25</sup>

The normal balance takes for granted the correct interaction of the vestibular mechanisms with the visual perception and with the proprioception.<sup>20</sup> The lesion or dysfunction of any of these mechanisms can trigger disturbances in balance control.<sup>16,17</sup> Dizziness presented as vertigo is usually related to the impairment of unilateral peripheral vestibular pathways while instability is more commonly related to direct or indirect damage of CNS vestibular projections, including the vestibulospinal tracts.<sup>17</sup> Characteristically, HAM/TSP affects the motor tracts and tracts nearby, including the vestibulospinal and reticulospinal tracts.<sup>26</sup>

The complaint of dizziness was shown to be mentioned early in the spectrum of the neurological symptoms related to HAM/TSP.<sup>7</sup> In the present study, the electrophysiological examination of the vestibulospinal tract through VEMP showed altered responses in the HTLV-1-infected individuals with dizziness either with HAM/TSP or asymptomatic carriers. The stronger statistical association between the complaint of dizziness and the altered VEMP in the group of HTLV-1-asymptomatic carriers emphasizes the value of this symptom as a possible neurological manifestation related to incipient damage of the vestibulospinal tract.

Individuals with HAM/TSP complain more frequently of dizziness than individuals with other nontraumatic myelopathies, as, for example, in schistosomiasis myeloradiculopathy.<sup>27</sup> The difference in the pathophysiology explains the higher occurrence of dizziness in HAM/TSP, while the damage of the motor tract in the schistosomiasis myeloradiculopathy is due to the parasite's eggs obstruction of the inferior spinal vascular system, which causes a well-delimited inflammation.<sup>28</sup> In HAM/TSP, the damage of the spinal cord is due to the predominance of inflammatory cytokines and chemokines in the spinal cord causing damage to the motor tract and nearby areas.<sup>24</sup>



**FIG. 4.** Comparison of the vestibular-evoked myogenic potential (VEMP) latency among the groups: HTLV-1 uninfected, HTLV-1-asymptomatic carrier, and with HAM/TSP.  $N=120$ . Blank box, individuals without dizziness; dashed box, individuals with dizziness;  $p$ ,  $p$ -value (Mann-Whitney test).

Although the focus of the damage is the inferior spinal cord, all the neuroaxis is affected.<sup>23</sup>

The morphological alterations related to HAM/TSP allow speculative explanations about the cause of the dizziness.<sup>5,24</sup> HAM/TSP is an inflammatory myelopathy that predominates at the descending spinal pathways. The damage of the reticulospinal and the vestibulospinal tracts, both related to balance control, may explain the high frequency of dizziness in individuals with HAM/TSP.<sup>6</sup> Subclinical alterations can occur in apparently asymptomatic HTLV-1-infected populations.<sup>9</sup> This finding was confirmed by the present study.

VEMP has previously been shown to be more altered in patients with HAM/TSP when compared to the HTLV-1-asymptomatic carriers, although the correlation with dizziness had not been set.<sup>8,9</sup> The delay in the vestibulospinal reflex may be the explanation for this finding. The integrity of corticospinal tract in individuals with HAM/TSP was scrutinized using the motor-evoked potentials elicited by transcranial magnetic stimulation and the results were consistent with a delay in the motor responses.<sup>29</sup> VEMP is an objective test and the association of altered results with the complaint of dizziness may be an indication of early neurological damage caused by HTLV-1.<sup>6,8,9</sup> The next question to be answered concerns the value of an altered VEMP in an HTLV-1-asymptomatic carrier as a prognostic sign of HAM/TSP development.

About 5% of the individuals infected with HTLV-1 develop HAM/TSP, usually after the fourth decade. Numerous studies have been looking for an immunological or clinical prognosis biomarker.<sup>2,30</sup> The HAM/TSP diagnosis has usually been late and has been made when the person gradually evolves to symmetrical paraparesis of the lower limbs with signs of pyramidal tract involvement.<sup>3</sup> The first symptoms have been related to urinary and sexual problems.<sup>12</sup> Based on the present study, dizziness may precede the described initial symptoms.

### Conclusions

Dizziness without an apparent etiology in HTLV-1-asymptomatic carriers deserves attention in terms of a possible subclinical spinal cord involvement and should be clarified through spinal electrophysiological tests. Damage to the vestibulospinal tract seems to occur in the early stages of HAM/TSP.

### Acknowledgments

This work was supported by the CNPQ, FAPEMIG, Fundação Hemominas, Faculdade de Medicina—Programa de Pós Graduação em Infectologia e Medicina Tropical da FM/UFMG, CAPES. The authors would also like to thank the remaining participants of the GIPH cohort study for their support.

### Author Disclosure Statement

No competing financial interests exist.

### References

1. Cervilla JO, Cartier LR, and Garcia LF: Brain and spinal cord magnetic resonance imaging in spastic paraparesis

- associated to human T-lymphotropic virus. *Rev Méd Chile* 2006;134:1010–1018.
2. Romanelli LCF, Caramelli P, Martins ML, *et al.*: Incidence of HTLV-1 associated myelopathy (HAM/TSP) in a long-term prospective cohort study of initially asymptomatic individuals in Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2013;29(9):1199–1202.
3. Iwasaki Y: Human T cell leukemia virus type 1 infection and chronic myelopathy. *Brain Pathol* 2011;3:1–10.
4. Araujo AQ and Silva MT: The HTLV-1 neurological complex. *Lancet Neurol* 2006;5:1068–1076.
5. Akizuki S, Nakazato O, Higuchi Y, *et al.*: Necropsy findings in HTLV-1 associated myelopathy. *Lancet* 1987;1:156–157.
6. Cunha LCM, Tavares MC, Tierra-Criollo CJ, *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.
7. Labanca L, Starling ALB, Carvalho SA, and Gonçalves DU: Dizziness, tinnitus and hearing loss related to HTLV-1 infection. Paper presented at the 30th International Congress of Audiology, March 28–April 1, 2010, São Paulo, Brazil.
8. Felipe L, Gonçalves DU, Santos MA, *et al.*: Vestibular-evoked myogenic potential (VEMP) to evaluate cervical myelopathy in human T-cell lymphotropic virus type 1 infection. *Spine* 2008;33:1180–1184.
9. Felipe L, Kingma H, Lambertucci JR, *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* 2012;12:1362–1369.
10. Proietti FA, Carneiro-Proietti ABF, Catalan-Soares BC, and Murphy EL: Global epidemiology of HTLV-1 infection and associated diseases. *Oncogene* 2005;24:6058–6068.
11. Allain JP, Stramer SL, Carneiro-Proietti ABF, *et al.*: Transfusion-transmitted infectious diseases. *Biologicals* 2009;37(2):71–77.
12. Castro-Costa CM, Araújo AQC, Barreto MM, *et al.*: Proposal for diagnostic criteria of tropical spastic paraparesis/HTLV-1-associated myelopathy (TSP/HAM). *AIDS Res Hum Retroviruses* 2006;22:931–935.
13. Kurtzke JF: Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: An expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983;33:1444–1452.
14. Osame M: Review of WHO Kagoshima meeting and diagnostic guidelines for HAM/TSP. In: *Human Retrovirology: HTLV* (Blattner WA, ed.). Raven, New York, 1990, pp.191–197.
15. Munhoz MSL and Silva MLG: A avaliação audiológica no exame otoneurológico. In: *Princípios de Otoneurológica* (Ganança MM, Vieira RM, and Caovilla HH, eds.). Atheneu, São Paulo, 2000, pp. 7–22.
16. Maarsingh OR, Dros J, Weert HC, *et al.*: Development of a diagnostic protocol for dizziness in elderly patients in general practice: A Delphi procedure. *BMC Fam Pract* 2009;10:12.
17. Bronstein A and Thomas L: *Tonturas—Diagnóstico e Tratamento—Uma Abordagem Prática*. Revinter, Rio de Janeiro, 2009.
18. Rosengren SM, Welgampola MS, and Colebatch JG: Vestibular evoked myogenic potentials: Past, present and future. *Clin Neurophysiol* 2010;121:636–651.
19. Colebatch JG and Halmagyi GM: Vestibular evoked potentials in human neck muscles before and after unilateral vestibular deafferentation. *Neurology* 1992;42:1635–1636.

20. Iles JF, Ali AS, and Savic G: Vestibular-evoked muscle responses in patients with spinal cord injury. *Brain* 2004; 127(7):1584–1592.
21. Felipe L, Kingma H, and Gonçalves DU: Potencial Evocado Mio gênico Vestibular. *Arquivos internacionais de otorrinolaringologia (Online)* 2012; 16:103–107.
22. Isaradisaikul S, Strong DA, Moushey JM, *et al.*: Reliability of vestibular evoked myogenic potentials in healthy subjects. *Otol Neurotol* 2008;29:542–544.
23. Murofushi T, Shimizu K, Takegoshi H, and Cheng PW: Diagnostic value of prolonged latencies in the vestibular evoked myogenic potential. *Arch Oto-laryngol Head Neck Surg* 2001;127:1069–1072.
24. Gonçalves DU, Proietti FA, Barbosa-Stancioli, *et al.*: HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) inflammatory network. *Inflamm. Allergy Drug Targets* 2008;7:98–107.
25. Neuhauser HK, Von BM, Radtke A, *et al.*: Epidemiology of vestibular vertigo: A neurotologic survey of the general population. *Neurology* 2005;65:898–904.
26. Muto N, Shinomiya K, Komori H, *et al.*: Spinal cord monitoring of the ventral funiculus function. Analysis of spinal field potentials after galvanic vestibular stimulation. *Spine* 1995;20:2429–2434.
27. Felipe L, Gonçalves DU, Tavares MC, *et al.*: Vestibular evoked myogenic potential (VEMP) in the evaluation of schistosomal myeloradiculopathy. *Am J Trop Med Hyg* 2009;81:551–554.
28. Lambertucci JR, Silva LC, Andrade LM, *et al.*: Imaging techniques in the evaluation of morbidity in *Schistosomiasis mansoni*. *Acta Trop* 2008;108:209–217.
29. Hashimoto T, Uozumi T, and Tsuji S: Paraspinal motor evoked potentials by magnetic stimulation of the motor cortex. *Neurology* 2000;55:885–888.
30. Kaplan JE, Osame M, Kubota H, *et al.*: The risk of development of HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis among persons infected with HTLV-1. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1990;3:1096–1101.

Address correspondence to:

Denise Utsch Gonçalves  
 Programa de Pós-Graduação  
 em Infectologia e Medicina Tropical  
 Faculdade de Medicina da UFMG  
 Av. Prof. Alfredo Balena, no. 190, sala 199  
 Belo Horizonte, Minas Gerais, CEP 30130-100  
 Brazil

E-mail: deniseg@medicina.ufmg.br

## ANEXO B: Prêmio de excelência em fonoaudiologia – Outubro / 2015



## CERTIFICADO

O Departamento de Audição e Equilíbrio da Sociedade Brasileira de Fonoaudiologia confere à

**AUTOR/APRESENTADOR: Ludimila Labanca**

**CO-AUTORES: Bárbara Oliveira Souza; Julia Caporali; João Luiz Cioglia Pereira Diniz; Sirley Alves da Silva Carvalho; José Roberto Lambertucci; Denise Utsch Gonçalves**

certificado de

**PRÊMIO EXCELÊNCIA EM FONOAUDILOGIA** pelo trabalho

**Contribuição do G-VEMP na identificação precoce da mielopatia associada ao HTLV-1**

*Hilton Justino da Silva*

**Hilton Justino da Silva**  
1º Diretor Científico


*Marileda C. Tomé*

**Marileda C. Tomé**  
2ª Diretora Científico

*Irene Queiroz Marchesan*

**Irene Queiroz Marchesan**  
Presidente SBFa

## ANEXO C: Prêmio de excelência em fonoaudiologia – Maio / 2016



**2º Congresso de Fonoaudiologia**  
da Faculdade de Medicina UFMG

CIÊNCIA E TECNOLOGIA PARA O DESENVOLVIMENTO PROFISSIONAL

## Certificado

**Certificamos que o trabalho** P-300: um exame auxiliar na identificação precoce de alterações cognitivas relacionadas à infecção pelo HTLV-1. **de autoria de** Labanca L; Caporali JFM, Diniz J.CP; Souza BC; Starling ALB; Carvalho SAS; Lambertucci JR; Gonçalves D., **foi premiado na Sessão de Temas Livres com "Prêmio Excelência em Fonoaudiologia", no 2º Congresso de Fonoaudiologia da Faculdade de Medicina da UFMG, realizado de 19 a 21 de maio de 2016, em Belo Horizonte/MG.**

**Belo Horizonte, 21 de maio de 2016**

*Ana*  
Ana Cristina Cortes Gama  
Chefe do Departamento de Fonoaudiologia

*Tarcizo*  
Tarcizo Afonso Nunes  
Diretor da Faculdade de Medicina

**ANEXO D: Aprovação do comitê de ética em pesquisa da UFMG**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP**

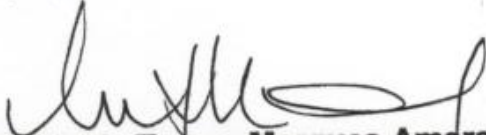
**Projeto: CAAE – 0732.0.203.000-12**

**Interessado(a): Profa. Denise Utsch Gonçalves  
Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia  
Faculdade de Medicina - UFMG**

**DECISÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 04 de maio de 2012, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado "**Avaliação do processamento auditivo central – P300 em indivíduos infectados pelo HTLV-1**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

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

  
**Prof. Maria Teresa Marques Amaral  
Coordenadora do COEP-UFMG**

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

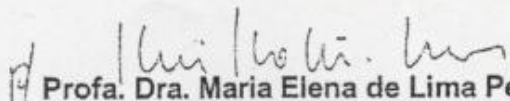
Parecer nº. ETIC 266/05

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.

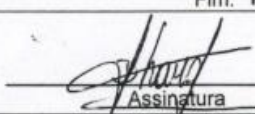
  
Prof. Dra. Maria Elena de Lima Perez Garcia  
Presidente do COEP/UFMG

## ANEXO E: Aprovação do comitê de ética em pesquisa da Fundação Hemominas



## Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hemominas

## CARTA DE ANUÊNCIA 01/342

1. Projeto de Pesquisa: Avaliação do Processamento auditivo Central – P300 em indivíduos infectados pelo HTLV-1		
<b>SUJEITOS DA PESQUISA</b>		
2. Número de sujeitos No Centro: 120 Total: 120	3. Grupos Especiais: ( ) Menor de 18 anos; ( ) Portador de deficiência mental ( ) Embrião/feto; ( ) Relação de dependência (militares, presidiários...) ( ) Outros; (X) Não se aplica	
<b>PESQUISADOR RESPONSÁVEL</b>		
4. Nome: Denise Utsch Gonçalves		
5. Instituição a que pertence: Universidade Federal de Minas Gerais		
<b>INSTITUIÇÃO (ÕES) ONDE SERÁ REALIZADO</b>		
6. Nome: Fundação Hemominas		
7. Unidade/Órgão: Hemocentro de Belo Horizonte		
8. Participação Estrangeira: Sim ( ) Não (X)		
9. Projeto Multicêntrico: Sim ( ) Não (X) Nacional ( ) Internacional ( )		
<b>PATROCINADOR</b> Não se aplica (X)		
10. Nome:		
<b>COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP</b>		
11. Registro no CEP: 342		
12. Objetivos: Avaliar a resposta auditiva evocada de longa latência (P300) em indivíduos infectados pelo HTLV-1; Objetivos Específicos: Avaliar e descrever a prevalência de alterações no P300 e nos testes subjetivos (neuropsicológicos) em indivíduos infectados pelo HTLV-1; Comparar os resultados do P300 e testes subjetivos entre os grupos (indivíduos infectados pelo HTLV-1 assintomáticos, com HAM/TSP e não infectados pelo HTLV-1; Comparar os resultados do P300 com o desempenho nos testes subjetivos		
13. Sumário do Projeto: O projeto apresentado propõe a avaliação da cognição de indivíduos adultos infectados pelo HTLV-1 através do estudo do processamento auditivo central, utilizando-se de teste objetivo (potencial auditivo de longa latência – P300) e subjetivo (testes neuropsicológicos). Serão testados 80 indivíduos infectados pelo HTLV-1 e 40 indivíduos não infectados como grupo controle. Pretende-se testar se a infecção pelo HTLV-1 causa lesão cortical com alteração na cognição. Trata-se de projeto de pesquisa já aprovado no CEP UFMG. É apresentada carta solicitando da Fundação Hemominas consentimento para que o estudo se realize em suas dependências, funcionando a Fundação Hemominas como co-participante.		
14. Comentário dos Relatores: O estudo apresenta-se de acordo com a Resolução 196/96, sendo considerado aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa.		
15. Parecer: Aprovado (X) Pendência ( ) Não Aprovado ( ) Data: 14/06/12 Data: Data:		
16. Cronograma de execução: Início: JUNHO /2012 Fim: FEVEREIRO /2015		
17. Coordenador  Assinatura Coordenador do Comitê de Ética em pesquisa Fundação 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 F: Escala EDSS adaptada\*

### ESCALAS DE INCAPACIDADE FUNCIONAL EDSS e OSAME (REVISADA)

#### ESCALA DE INCAPACIDADE FUNCIONAL AMPLIADA (EDSS) (KURTZKE, 1965; KURTZKE, 1983)

0. Exame neurológico normal (grau 0) em todas as avaliações do sistema funcional - SF.
- 1.0. Nenhuma incapacidade; sinais mínimos em um SF (ou seja grau 1).
- 1.5. Nenhuma incapacidade; sinais mínimos em mais de um SF (mais de um SF grau 1).
- 2.0. Incapacidade mínima em um SF (um SF grau 2; outros graus 0 ou 1).
- 2.5. Incapacidade em dois SF (dois SF grau 2; outros graus 0 ou 1).
- 3.0. Incapacidade moderada em um SF (um SF grau 3, outros grau 0 ou 1), ou discreta incapacidade em três ou quatro SF (três ou quatro SF grau 2; outros 0 ou 1) embora completamente ambulatorial.
- 3.5. Deambulação plena, com incapacidade moderada em um SF (um SF grau 3) e um ou dois SF grau 2; ou dois SF grau 3; ou cinco SF grau 2 (outros 0 ou 1).
- 4.0. Deambulação plena sem ajuda; auto-suficiente; ativo por cerca de 12 horas por dia, apesar da incapacidade relativamente grave consistindo de um SF grau 4 (outros 0 ou 1), ou combinações de graus menores excedendo os limites das etapas anteriores capaz de caminhar cerca de 500 metros sem ajuda ou descanso.
- 4.5. Deambulação plena sem ajuda; ativo durante grande parte do dia; capaz de trabalhar por um dia inteiro; porém, pode apresentar alguma limitação da atividade completa ou precisar de um pouco de ajuda; caracteriza-se por incapacidade relativamente grave, geralmente consistindo de um SF grau 4 (outros 0 ou 1), ou combinações de graus menores excedendo os limites das etapas anteriores; capaz de caminhar cerca de 300 metros sem ajuda ou descanso.
- 5.0. Deambulação sem ajuda ou descanso para caminhar cerca de 200 metros; incapacidade grave o suficiente para comprometer as atividades diárias (por exemplo, trabalhar o dia inteiro sem dispositivos especiais); os equivalentes comuns do SF são de grau 5, isoladamente (outros 0 ou 1), ou combinações de graus menores, geralmente excedendo os limites da etapa 4.0.
- 5.5. Deambulação sem ajuda ou descanso para caminhar por 100 metros; incapacidade grave o suficiente para impedir a realização de atividades diárias; os equivalentes comuns do SF são de grau 5, isoladamente (outros 0 ou 1), ou combinações de graus menores, geralmente excedendo os limites da etapa 4.0.
- 6.0. Assistência intermitente ou com auxílio unilateral constante (bengala, muleta ou suporte) para caminhar cerca de 100 metros com ou sem descanso; os equivalentes comuns do SF são combinações com mais de 2 SF grau 3+.

[http://www.bibliotecadigital.ufba.br/tde\\_busca/arquivo.php?codArquivo=465](http://www.bibliotecadigital.ufba.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=465).

- 6,5. Assistência bilateral constante (bengala, muleta, suporte) para caminhar cerca de 20 metros sem descanso; os equivalentes comuns do SF são combinações com mais de dois SF grau 3 +.
- 7.0. Incapacidade para caminhar além de cerca de 5 metros, mesmo com auxílio; restrito a cadeira de rodas; capaz de conduzir a cadeira de rodas comum sem auxílio, além de entrar e sair da cadeira sem ajuda; consegue permanecer em atividade, na cadeira de rodas, por cerca de 12 horas por dia; os equivalentes comuns do SF são combinações com mais de um SF grau 4+; muito raramente, função piramidal grau 5 isoladamente.
- 7,5. Incapacidade para dar mais do que alguns passos; confinamento à cadeira de rodas; pode precisar de ajuda para sair e sentar na cadeira; capaz de conduzir a cadeira sem ajuda, mas não consegue permanecer na cadeira de rodas comum o dia inteiro; precisa de cadeira de rodas motorizada; os equivalentes comuns do SF são combinações com mais de um SF grau 4+.
- 8.0. Restrito ao leito ou a cadeira, ou consegue se locomover com a cadeira de rodas, porém não consegue ficar fora da cama por muito tempo; consegue realizar algumas funções para cuidar da sua própria higiene e mantém o uso dos braços; os equivalentes comuns do SF são combinações com grau 4+ em diferentes sistemas.
- 8,5. Essencialmente confinado a cama na maior parte do dia; consegue realizar algumas funções para cuidar de sua própria higiene e mantém algum uso dos braços; os equivalentes comuns do SF são combinações com grau 4+ em diferentes sistemas.
- 9.0. Paciente acamado e desamparado; consegue se comunicar e comer; os equivalentes comuns do SF são combinações, em sua maioria, do grau 4+
- 9,5. Paciente totalmente desamparado e acamado; incapaz de se comunicar com eficácia ou comer/engolir; os equivalentes comuns do SF são combinações, quase todos do grau 4+.
10. Morte devida a complicações da EM.

[http://www.bibliotecadigital.ufba.br/tde\\_busca/arquivo.php?codArquivo=465](http://www.bibliotecadigital.ufba.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=465).

\*O item 10 não foi considerado na pesquisa.

## ANEXO G: Escala de OSAME

**BASELINE**  
**ESCALA DE INCAPACIDADE MOTORA REVISADA DE OSAME**  
 IZUMO *et al.*, 1996

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

## ANEXO H: Escala GDS

### ESCALA DE DEPRESSÃO GERIÁTRICA - GDS

1. Está satisfeito (a) com sua vida? (não =1) (sim = 0)
2. Diminuiu a maior parte de suas atividades e interesses? (sim = 1) (não = 0)
3. Sente que a vida está vazia? (sim=1) (não = 0)
4. Aborrece-se com frequência? (sim=1) (não = 0)
5. Sente-se de bem com a vida na maior parte do tempo? (não=1) (sim = 0)
6. Teme que algo ruim possa lhe acontecer? (sim=1) (não = 0)
7. Sente-se feliz a maior parte do tempo? (não=1) (sim = 0)
8. Sente-se freqüentemente desamparado (a)? (sim=1) (não = 0)
9. Prefere ficar em casa a sair e fazer coisas novas? (sim=1) (não = 0)
10. Acha que tem mais problemas de memória que a maioria? (sim=1) (não = 0)
11. Acha que é maravilhoso estar vivo agora? (não=1) (sim = 0)
12. Vale a pena viver como vive agora? (não=1) (sim = 0)
13. Sente-se cheio(a) de energia? (não=1) (sim = 0)
14. Acha que sua situação tem solução? (não=1) (sim = 0)
15. Acha que tem muita gente em situação melhor? (sim=1) (não = 0)

#### Avaliação:

<b>0 = Quando a resposta for diferente do exemplo entre parênteses.</b>
---

<b>1= Quando a resposta for igual ao exemplo entre parênteses.</b>
--

<b>Total &gt; 5 = suspeita de depressão</b>
---

Yesavage JA, Brink TL, Rose TL et al. Development and validation of a geriatric depression screening scale: a preliminary report. J Psychiat Res 1983;17:37-49.

Almeida OP, Almeida SA. Confiabilidade da versão brasileira da Escala de Depressão Geriátrica (GDS) versão reduzida. Arquivos de Neuro-Psiquiatria, 1999, 57(2)-B:421-426.

Paradela EMP, Lourenço RA, Veras RP. Validação da escala de depressão geriátria em um ambulatório geral. Revista de Saúde Pública, 2005, 39(6):918-923.

Tabela para apresentação dos resultados do GDS

DATA	RESPOSTA SIM	RESPOSTA NÃO	PONTUAÇÃO TOTAL	CLASSIFICAÇÃO