

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Instituto de Ciências Biológicas

Programa de Pós-graduação em Microbiologia

Adriano Santos Cloves

**PERFIL IMUNOLÓGICO DE INDIVÍDUOS SOROPOSITIVOS DE UMA FAMÍLIA
COM ALTA PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO PELO HTLV-1 E ALTA INCIDÊNCIA
DE DOENÇAS DERMATOLÓGICAS**

Belo Horizonte

2010

Adriano Santos Cloves

**PERFIL IMUNOLÓGICO DE INDIVÍDUOS SOROPOSITIVOS DE UMA FAMÍLIA
COM ALTA PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO PELO HTLV-1 E ALTA INCIDÊNCIA
DE DOENÇAS DERMATOLÓGICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia como requisito final para obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientadora: Prof^a Dr^a Edel Figueiredo Barbosa Stancioli

Belo Horizonte

2010

043

Cloves, Adriano Santos.

Perfil imunológico de indivíduos soropositivos de uma família com alta prevalência de infecção pelo HTLV-1 e alta incidência de doenças dermatológicas [manuscrito] / Adriano Santos Cloves. – 2010.

111 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Profª Drª Edel Figueiredo Barbosa Stancioli.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia.

1. Microbiologia. 2. Vírus Linfotrófico T Tipo 1 Humano. 3. Quimiocinas. 4. Paraparesia Espástica Tropical. 5. Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo. 6. Receptores do Fator de Necrose Tumoral. I. Stancioli, Edel Figueiredo Barbosa. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 579



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE ADRIANO SANTOS CLOVES

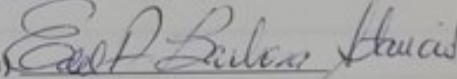
Nº REGISTRO: 2008685009

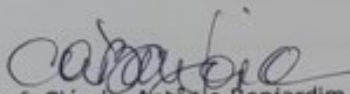
Relator e Suplente: Dr. Daniel Santos Mansur

Às 09:00 horas do dia 25 de fevereiro de 2010, reuniu-se, no Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, a Comissão Examinadora composta pelos Profs. Marcelo Grossi Araújo (Mestre Faculdade de Medicina/UFMG), Flávio Guimarães da Fonseca (Departamento de Microbiologia/ICB/UFMG) e a Profa. Edel Figueiredo Barbosa Stancioli - Orientadora, para julgar o trabalho final "Perfil imunológico de indivíduos soropositivos de uma família com alta prevalência de infecção pelo HTLV-1 e alta incidência de doenças dermatológicas", do aluno Adriano Santos Cloves, requisito final para a obtenção do Grau de **MESTRE EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: MICROBIOLOGIA**. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Cláudio Antônio Bonjardim - Coordenador do Programa, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra ao candidato, para a apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos Examinadores, com a respectiva defesa do candidato. Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do candidato e do público, para julgamento e expedição de resultado final. O candidato foi considerado **APROVADO**. O resultado final foi comunicado publicamente ao candidato pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 25 de fevereiro de 2010.

Prof. Marcelo Grossi Araújo 

Prof. Flávio Guimarães da Fonseca 

Profa. Edel Figueiredo Barbosa Stancioli (Orientadora) 


Prof. Cláudio Antônio Bonjardim
Coordenador

**À minha querida Aline, pelo incentivo, e à
minha pequena princesa, Anna Luísa pelo
amor incondicional.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e amor, que me sustentou durante estes anos.

À prof^a. Edel Figueiredo Barbosa Stancioli, pela dedicação e paciência durante toda a realização deste trabalho.

Aos meus pais e irmãos, pela confiança e apoio.

Aos coordenadores da Pós-graduação em Microbiologia, prof. Claudio Antônio Bonjardim e prof^a Maria Aparecida de Resende Stoianoff.

Ao prof. Antônio Lúcio Teixeira, pela presteza no ensaio de quimiocinas, grande colaborador deste trabalho.

À Dra. Marina Lobato (Fundação Hemominas) pela presteza na realização de coleta de dados e à Funcionária Regina, pela paciência durante a coleta de amostras clínicas.

Aos professores da pós-graduação em Microbiologia, em especial Jacques Nicoli, pelo treinamento e conselho nos momentos finais deste trabalho. E às professoras Fátima Noronha, Vera Lúcia e Regina Nardi.

Às companheiras de sempre, Camila e Jordana, pelo constante acompanhamento e auxílio em todas as fases deste trabalho.

À Jaqueline, pela importante revisão executada durante a redação de nosso trabalho;

À Camila, Luciana e Rodrigo, pelo auxílio nos experimentos finais.

Aos amigos do LABMIC e do departamento: Jordana, Camila, Jaqueline, Amanda, Luciana, Fábria, Rodrigo, Marina Parisi, Adriana, Matheus, Bernardo, Ludmila, Andréa, Jairo, Ana, Josiane, Tatiane, Mariela, Érica, Fernanda. E ao Millan e Serginho (Medicina).

Aos funcionários do Departamento e da Pós-graduação em Microbiologia, em especial, Douglas Nunes, Maria de Fátima, Tatiane e Gina.

Aos amigos da pós-graduação, em especial Rodolfo Braga e Caroline Barcelos, que me acompanharam nesta caminhada.

DEDICATÓRIA ESPECIAL

Ao meu anjo, para sempre!

Com sua vinda, mudou minha razão de viver e me fez prosseguir neste caminho.

Meu amor por ela: Incondicional, e me fortalece a cada dia.

Seu olhar me cativa nos momentos mais angustiantes

E me põe de pé diante das dificuldades.

Se o mundo me dá as costas, seu sorriso vem me receber...

Seu amor me faz viver...

Este trabalho é por ela:

Minha querida e amada filha...

Anna Luísa

e...

À minha esposa Aline...

Quem com dedicação e esperança em dias melhores, me fez vislumbrar aos olhos o universo da Microbiologia. Do sonho à realização, sempre se dedicou a mim com carinho e companheirismo, caminhando junta e me reerguendo nos momentos mais difíceis... e vivendo com muito amor os de grande alegria. A você, dedico grande parte deste trabalho.

“Ninguém é tão sábio que não tenha algo pra aprender e nem tão tolo que não tenha algo para ensinar”.

Blaise Pascal

RESUMO

O HTLV-1 (*Human T-lymphotropic virus 1*) é um retrovírus causador de um agressivo tipo de leucemia de células T denominado Leucemia/linfoma de Células T (ATLL), além de uma síndrome neurodegenerativa inflamatória denominada Mielopatia Associada ao HTLV/Paraparesia Espástica Tropical (HAM/TSP). Ainda, o vírus pode causar doenças dermatológicas de gravidade variada que podem se manifestar em alguns grupos de indivíduos soropositivos residentes em áreas endêmicas. No entanto, pouco se conhece sobre os mecanismos imunopatológicos que levam a esta diferenciação nas manifestações clínicas. Desta forma, neste trabalho foi avaliado o perfil imunológico de indivíduos de um agrupamento familiar com alta prevalência da infecção pelo HTLV-1 bem como com predominância de doenças dermatológicas. Para atingir este objetivo, o perfil de reatividade de IgG anti-antígenos do HTLV-1, utilizando proteínas de MT-2, foi avaliado por ensaios de Western *in house* e de Immunoblot e o perfil de reatividade de anti-Tax foi avaliado utilizando um ELISA *in house* tendo como suporte antigênico uma proteína Tax recombinante produzida em nosso laboratório. Adicionalmente, o perfil das respostas Th1 e Th2 foram avaliados através dos níveis séricos de quimiocinas e neurotrofinas dos pacientes do Agrupamento Familiar, juntamente com o da coorte GIPH. O perfil imunológico de reatividade a proteínas do HTLV-1, incluindo o perfil de reatividade a anti-Tax é distinto do perfil de pacientes HAM/TSP e portadores assintomáticos da coorte GIPH. A análise do perfil de quimiocinas dos pacientes infectados pelo HTLV-1 do agrupamento familiar e da coorte GIPH revelou uma resposta imune predominantemente Th1, com um aumento das quimiocinas CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CCL5/RANTES e dos receptores de TNF- α (sTNFR1 e sTNFR2) no grupo de indivíduos infectados de ambas as coortes. A neurotrofina BDNF mostrou-se elevada nos indivíduos infectados do agrupamento familiar, contrastando com a coorte GIPH, onde houve uma inversão deste perfil. Estes dados sugerem com os pacientes do Agrupamento Familiar com alta prevalência de manifestações dermatológicas apresenta um perfil imunológico distinto de pacientes assintomáticos e HAM/TSP da coorte GIPH, o que corrobora a hipótese que o pólo dermatológico representa um pólo divergente e único que compõe a variedade de manifestações associadas à infecção pelo HTLV-1.

Palavras-chave: HTLV-1, Agrupamento Familiar, HAM/TSP, manifestações dermatológicas, quimiocinas, BDNF e sTNF.

ABSTRACT

The HTLV-1 (*Human T-lymphotropic virus 1*) is a retrovirus that causes an aggressive type of leukemia, the Adult T Leukemia/Lymphoma and a neurodegenerative inflammatory syndrome entitled HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis (HAM/TSP). The virus can also cause dermatological clinical disorders, particularly on HTLV-1 seropositive persons from endemic areas. Nevertheless, the immunopathogenic mechanisms underlying this different pattern of disorders are not fully understood. Thus, in this present study, the immunological profile of persons from a familiar cluster with high prevalence of infection and dermatological disorders was evaluated. To achieve our goal, the reactivity against HTLV-1 antigens from MT-2 cells was evaluated by a in house Western assay and a Immunoblot assay. The anti-Tax reactivity was evaluated by an in-house ELISA with a recombinant Tax produced in our laboratory. Additionally, the Th1 and Th2 responses were evaluated by assessment of chemokines, and a neurotrophin levels on sera samples from the familiar cluster and the GIPH cohort performed. The results revealed a distinct reactivity profile against HTLV-1 antigens for persons from the familiar cluster when compared to asymptomatic carriers and HAM/TSP patients from GIPH cohort. The analysis of Th1 and Th2 responses demonstrated that the GIPH cohort and the familiar cluster present a Th1-predominant response with higher levels of CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CCL5/RANTES and TNF- α receptors (sTNFR1 and sTNFR2). The BDNF presented higher levels on sera samples from the familiar cluster, contrasting to HAM/TSP patients from GIPH cohort which presented lower BDNF levels. On the whole, these results strongly suggest that the familiar cluster presents a distinctive immunological profile, different from asymptomatic carriers and HAM/TSP from GIPH cohort, corroborating the hypothesis that the dermatological disorders represent a divergent and singular pole among the many HTLV-1 associated diseases.

Key words: HTLV-1, Familiar cluster, HAM/TSP, dermatological disorders, chemokines, BDNF and sTNF.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática do HTLV-1.....	23
Figura 2 - Representação da Estrutura Genômica do HTLV-1.....	24
Figura 3 - Representação Esquemática do Ciclo do HTLV-1.....	27
Figura 4 - Células típicas da leucemia Linfoma de Células T.....	31
Figura 5 - Crianças portadoras de Dermatite Infeciosa associada ao HTLV-1 (IDH).....	33
Figura 6 - Lesões cutâneas na ATL.....	35
Figura 7 – Dermatomicoses.....	36
Figura 8 - Ictiose adquirida.....	37
Figura 9 - Heredograma do Agrupamento Familiar estudado.....	53
Figura 10 - Ensaio de Imunoblot proteínas do HTLV-1 em 15 indivíduos soropositivos.....	60
Figura 11 - Análise densitométrica da reatividade sérica às proteínas Env.....	61
Figura 12 - Análise densitométrica da reatividade sérica às proteínas Gag.....	62
Figura 13 - Reatividade IgG anti-Tax em indivíduos infectados pelo HTLV-1.....	63
Figura 14 - Avaliação dos níveis séricos de CXCL9/Mig.....	64
Figura 15 - Avaliação dos níveis séricos de CXCL10/IP-10.....	65
Figura 16 - Avaliação dos níveis séricos de CCL5/RANTES.....	66
Figura 17 - Avaliação dos níveis séricos de CXCL8/IL-8.....	67
Figura 18 - Avaliação dos níveis séricos de CCL3/MIP-1 α	68
Figura 19 - Avaliação dos níveis séricos de CCL2/MCP-1.....	69
Figura 20 - Avaliação dos níveis séricos de CCL11/Eotaxina-1 e CCL24/Eotaxina-2.....	71
Figura 21 - Avaliação dos níveis séricos de sTNFr1/CD120a e sTNFr2/CD120b.....	73
Figura 22 - Avaliação dos níveis séricos de BDNF.....	77
Figura 23 - Médias dos níveis séricos de BDNF em uma paciente do Agrupamento Familiar.....	77
Figura 24 - Correlação entre a reatividade IgG anti-Tax e os níveis séricos de BDNF.....	78

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 – Parâmetros para o diagnóstico diferencial de dermatite infecciosa.....	33
Quadro 2 - Achados clínicos, sorológicos e anatomopatológicos.....	54
Quadro 3: Representação das médias das concentrações séricas.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS

- AgF – Agrupamento Familiar
- ANOVA – análise de variância
- AS – Portador assintomático do HTLV-1
- ASIA - American Spinal Injury Association
- ATLL – Leucemia-linfoma de células T do adulto
- AVD – Atividades de vida diária
- BDNF – Fator neurotrófico derivado do cérebro
- CCL11/Eotaxina – proteína quimiotática para linfócitos T e eosinófilos
- CCL2/MCP-1 – Proteína quimiotática para macrófagos
- CCL24/Eotaxina-2 – proteína quimiotática para linfócitos T e Eosinófilos
- CCL3/MIP-1 α – Proteína inflamatório de monócitos
- CCL5/RANTES – Regulated upon Activation, Normal T-cell Expressed, and Secreted
- CCR () – Receptor de quimiocina
- CD – grupos de diferenciação
- CREB – Elemento de ligação ao AMP cíclico
- CTCL – Leucemia-linfoma cutâneo de células T
- CXCL10/IP-10 – Proteína 10 induzida pelo interferon
- CXCL8/IL-8 - Interleucina 8
- CXCL9/Mig – Molécula induzida pelo Interferon
- D.O. – Densidade óptica
- DNA – Ácido desoxirribonucléico
- EDTA – Anticoagulante ácido etilendiamino tetracético
- ELISA – Ensaio imunoenzimático ligado à enzima
- GDNF - Fator neurotrófico derivado das células gliais
- GIPH – grupo Interdisciplinar de Pesquisas em HTLV ½
- GM-CSF –Fator estimulador de colônias de macrófagos e granulócitos

HAM/TSP – Mielopatia associada ao HTLV/Paraparesia espástica tropical

HBz - HTLV-1 basic leucine-zipper factor

HIV – Vírus da imunodeficiência humana

HLA – Antígeno Leucocitário Humano

hnRNP A1 - Ribonucleoproteína humana A1

HT – HAM/TSP

IDH – Dermatite infecciosa associada ao HTLV-1

IFN -Interferon

IL () – Interleucina

IN/INF – Indivíduo infectado pelo HTLV-1

LTR – Regiões terminais longas repetidas

NFκB – fator nuclear kappa B,

NGF - Fator de crescimento neuronal a (),

NI – Indivíduo não-infectado

NT – Fator neurotrófico

OL – Oligossintomáticos

ORF – Janela aberta de leitura

PCR –Reação em cadeia da polimerase

RdDp - DNA polimerase dependente de RNA/Transcriptase reversa

RNA – Ácido ribonucléico

RNAm – RNA mensageiro

RT-PCR – PCR em tempo real

RxRE – Elemento responsivo à proteína Rex

SNC – sistema nervoso central

sTNFr1/CD120a – Receptor de TNF

sTNFr2/CD120b – Receptor de TNF

TNF – Fator de necrose tumoral

WB – Western Blot

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
1.1. Histórico	18
1.2. Epidemiologia	18
1.2.1. Epidemiologia Global da Infecção pelo HTLV-1	18
1.2.2. Epidemiologia da Infecção no Brasil	20
1.2.3. A formação de agrupamentos familiares de indivíduos infectados pelo HTLV-1.	20
1.3. Biologia do HTLV-1	23
1.3.1. Estrutura gênica do HTLV-1	23
1.3.1.1. Proteínas estruturais.....	24
1.4. Infecção e Multiplicação Viral	26
1.4.1. Carga Proviral	27
1.5. Vias de Transmissão.....	28
1.6. Diagnóstico Laboratorial da Infecção pelo HTLV-1	28
1.7. Doenças Associadas ao HTLV-1	29
1.7.1. Mielopatia Associada ao HTLV-1/Paraparesia Espástica Tropical (HAM/TSP).....	29
1.7.2. Leucemia/Linfoma de Células T do Adulto (ATLL)	30
1.7.3. Manifestações Dermatológicas	31
1.7.4. Doenças infectoparasitárias associadas ao HTLV-1	37
1.8. Aspectos Imunológicos da Infecção pelo HTLV-1.....	38
1.9. Quimiciocinas, citocinas e seus receptores no contexto da infecção pelo HTLV-1.	41
1.9.1. Eotaxinas.....	43
1.9.2 Receptores solúveis de TNF: sTNFr1 e sTNFr2.....	43
1.9.3. BDNF (Fator neurotrófico derivado do cérebro)	45
2. JUSTIFICATIVA	47
3. OBJETIVOS	50
3.1 Objetivo Geral.....	50
3.2. Objetivos Específicos.....	50
3.2.5. Reatividade anti-Tax em soro, utilizando um ensaio de ELISA <i>in house</i>	50
4. METODOLOGIA	51
4.1. Indivíduos da Coorte	51
4.2. Critérios de Inclusão.....	51

4.3. Amostras dos Indivíduos do Agrupamento Familiar	52
4.4. Coleta do Material Biológico.....	56
4.5. Reatividade de IgG a proteínas específicas do HTLV-1 pelo teste de Imunoblot.....	56
4.5.1. Preparo de reagentes e soluções de uso	56
4.5.2. Imunoblot.....	56
4.6. Quantificação dos níveis séricos de quimiocinas, receptores de TNF e da Neurotrofina BDNF por ensaios de ELISA.	57
4.7. Verificação da reatividade sérica anti-Tax dos indivíduos do Agrupamento Familiar por ensaios de ELISA in house.....	58
4.8. Análise Estatística	59
5. RESULTADOS	59
5.1. Avaliação da reatividade de IgG anti-HTLV-1 dos pacientes pertencentes ao agrupamento familiar por ensaio de Western blot (kit HTLV blot 2.4® MP Diagnostics, Genelabs, Singapore).	59
5.1.1. Reatividade sérica dos grupos clínicos AgF, AS e HT às proteínas Env (gp46, gp21 e GD21).....	60
5.1.2. Reatividade sérica dos grupos clínicos AgF, AS e HT às proteínas Gag.....	61
5.2. Reatividade de IgG anti-Tax em indivíduos do agrupamento familiar e da coorte GIPH.	62
5.3. Quantificações dos níveis séricos de quimiocinas, receptores de TNF e da Neurotrofina BDNF por ensaio de ELISA.....	63
5.4. Quimiocinas associadas à resposta do tipo Th ₁	64
5.4.1. Avaliação dos níveis séricos de CXCL9/MIG em soros de indivíduos soronegativos e de soropositivos para o HTLV-1.....	64
5.4.2. Avaliação de CXCL10/IP-10 em soros de indivíduos soronegativos e de soropositivos para o HTLV-1.	65
5.4.3. Avaliação dos níveis séricos de CCL5/RANTES em soros de indivíduos soronegativos e de soropositivos para o HTLV-1.	66
5.5. Quimiocinas Associadas à resposta do tipo Th ₂	67
5.5.1. Avaliação dos níveis séricos de CXCL8/IL-8 em soros de indivíduos soronegativos e de soropositivos para o HTLV-1.....	67
5.5.2. Avaliação dos níveis séricos de CCL3/MIP-1 α em soros de indivíduos soronegativos e de soropositivos para o HTLV-1.	68

5.5.3. Avaliação dos níveis séricos de CCL2/MCP-1 em soros de indivíduos soronegativos e de soropositivos para o HTLV-1.....	69
5.5.4. Avaliação dos níveis séricos de CCL11/Eotaxina-1 e CCL24/Eotaxina-2 em soros de indivíduos soronegativos e de soropositivos para o HTLV-1.	70
5.5.5. Avaliação dos níveis séricos dos receptores solúveis sTNFr1 e sTNFr2 em soro de indivíduos soronegativos e de soropositivos para o HTLV-1.	72
5.5.6. Avaliação dos níveis da Neurotrofina BDNF no soro de indivíduos infectados e não infectados pelo HTLV-1.....	76
5.6. Correlação entre Reatividade de IgG anti-Tax e produção de Quimiocinas, Citocinas e Neurotrofina.	78
6. DISCUSSÃO	79
6.1. Resultados da imunidade humoral	79
6.2. Resultados da imunidade celular	81
7. CONCLUSÕES	90
8. REFERÊNCIAS.....	93

1. INTRODUÇÃO

1.1. Histórico

O HTLV-1 foi o primeiro retrovírus humano a ser associado à indução de doenças. Sua identificação se deu pela primeira vez em 1979 em um paciente portador de linfoma cutâneo de células T, nos Estados Unidos. Esta primeira descrição foi publicada por sua vez em 1980. Concomitantemente à descrição americana, no Japão, houve a identificação de uma partícula infecciosa, isolada de células T de um paciente com linfoma de células T. Mais tarde foi demonstrado que os dois agentes identificados representavam um mesmo tipo de vírus, doravante denominado Vírus Linfotrópico de Células T Humanas (*Human T-lymphotropic virus 1* - HTLV-1) (POIESZ, *et al.*, 1980; GALLO, 2005; MATSUOKA e JEANG, 2005). Em 1982, a despeito da investigação e tratamento de um paciente com leucemia, ocorreu a identificação de retrovírus em amostras de linfócitos. A análise filogenética da partícula viral isolada do material denotou grandes semelhanças entre este vírus e aqueles encontrados no Japão e nos Estados Unidos. Contudo, distinções moleculares existentes entre as partículas encontradas permitiam classificar a nova partícula como outro tipo de vírus. Este foi então denominado HTLV-2 (KALYANARAMAN *et al.*, 1982).

Mais recentemente, na África, foram isoladas amostras de novos vírus, denominados HTLV-3 e HTLV-4. O HTLV-3 foi isolado de amostras de sangue coletadas de um pigmeu de 62 anos da tribo Bakola, que vive na região sul de Camarões, na África Central. O HTLV-3 mantém relação filogenética com o vírus símio STLV-3, um retrovírus capaz de infectar algumas espécies de macaco, não havendo, até o momento, relatos de sua associação com enfermidades (WOLFE *et al.*, 2005; CALLATINI *et al.*, 2005; MAHIEUX e GESSAIN, 2009).

1.2. Epidemiologia

1.2.1. Epidemiologia Global da Infecção pelo HTLV-1

Os estudos da distribuição mundial da infecção pelos vírus HTLV-1 e HTLV-2 revelam vários focos endêmicos de portadores do vírus em todo mundo. Dentre os indivíduos infectados,

aproximadamente 2% a 3% desenvolvem um agressivo tipo de linfoma de células T, denominado Leucemia-Linfoma de Células T do Adulto (ATLL) e pelo menos 0,25% a 3% desenvolvem uma doença inflamatória degenerativa crônica do sistema nervoso central, denominada Mielopatia Associada ao HTLV-1 ou Paraparesia Espástica Tropical (HAM/TSP). Os 95% remanescentes encontram-se em grande parte ou por toda a vida, permanentemente assintomáticos (MANNNS *et al.*, 1999; CALATTINI *et al.*, 2005).

As regiões geográficas de maior prevalência conhecidas atualmente incluem o Japão, as ilhas do Caribe, sobretudo a Jamaica, países da região central do continente africano, ilhas Melanésias do Pacífico, Papua Nova Guiné e países da América do Sul, sobretudo Brasil, Colômbia e Peru. Contudo, indivíduo com sorologia positiva para o vírus tem sido encontrados em regiões não-endêmicas como os Estados Unidos e alguns países europeus. Estas populações são formadas por usuários de drogas injetáveis e por indivíduos originários de áreas sabidamente endêmicas (KAYEMBE, *et al.*, 1990; MANNNS *et al.*, 1999; CALATTINI *et al.*, 2005; CARNEIRO-PROIEI *et al.*, 2006; CRISCIONE, *et al.*, 2007; LESSIN, 2007).

As áreas de soroprevalência para o HTLV-1 são formadas por agrupamentos populacionais em regiões geográficas distintas, onde há variação nas taxas de prevalência, na idade de acometimento e no gênero afetado. Quanto ao gênero, destaca-se a alta prevalência observada no sexo feminino, mantida principalmente pela maior vulnerabilidade das mulheres à aquisição do vírus e de uma provável predisposição genética (ADES *et al.*, 2000; IGA *et al.*, 2002; CATALAN-SOARES *et al.*, 2003; PROIETTI *et al.*, 2005; CARNEIRO-PROIETTI *et al.*, 2006; DIOP *et al.*, 2006).

O aumento do conhecimento em epidemiologia da infecção, de suas formas de transmissão e prevenção representada, sobretudo, pela interrupção da amamentação tem auxiliado na redução nos índices de incidência do vírus em algumas áreas endêmicas. Em estudos conduzidos na ilha de Okinawa, no Japão, denotam reduções cronológicas significativas nas taxas de soroprevalência em uma população sadia, revelando queda na transmissão intrafamiliar (KASHIWAGI *et al.*, 2004).

1.2.2. Epidemiologia da Infecção no Brasil

Em um estudo realizado em candidatos à doação de sangue em todos os estados brasileiros no período de 1995 a 2000, Catalan-Soares e colaboradores observaram grande variabilidade entre as diferentes taxas de soroprevalência para o HTLV-1 neste grupo de indivíduos. Houve variação entre 0,4/1000 em Florianópolis (SC) na região Sul a 10/1000 em São Luís (MA), no nordeste do país, uma taxa 25 vezes maior. Contudo, o estado com maior número absoluto de indivíduos infectados é o estado da Bahia. O mesmo estudo apontou as regiões Norte e Nordeste como as de maior prevalência e a região Sul como a de menor de prevalência de infecção. Também, houve redução da incidência e prevalência entre candidatos à doação de sangue durante o mesmo período avaliado pelo estudo (CATALAN-SOARES *et al.*, 2005a).

No estado de Minas Gerais, a soroprevalência da infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2 foi de 6,6/1000 habitantes. A última análise realizada em candidatos à doação de sangue em todo estado revelou uma prevalência de 0,08% (NAMEN-LOPES, 2007). A pesquisa dirigida a outros grupos que não de candidatos à doação de sangue é ainda incipiente e mostra que os números apontados para aquela população subestimam os índices na população geral. Considerando-se apenas a cidade de Belo Horizonte, por exemplo, foram avaliadas 1.500 gestantes, a prevalência observada foi de 1,1%, e no Ambulatório de Dermatologia do HC/UFMG, este índice foi de 0,7% (NOBRE *et al.*, 2004).

1.2.3. A formação de agrupamentos familiares de indivíduos infectados pelo HTLV-1.

Uma característica epidemiológica importante em grupos de indivíduos infectados, residentes em áreas de alta endemicidade para a infecção, é a formação de pequenos agrupamentos entre gerações de um mesmo grupo familiar. A transmissão intrafamiliar ocorre, sobremaneira, pela via vertical, sobretudo aquelas ocorridas por amamentação. Em estudos realizados em gerações de uma série de famílias, observou-se que a infecção ocorre predominantemente em indivíduos do gênero feminino, indubitavelmente pela maior susceptibilidade do gênero às infecções sexualmente transmissíveis e a uma maior susceptibilidade genética (KAYEMBE *et al.*, 1990; IGA *et al.*, 2002; CATALAN-SOARES *et al.*, 2005a).

Uma importante característica identificada na transmissão vertical por amamentação, em áreas endêmicas subdesenvolvidas, é a infecção de crianças pela prática da amamentação com o auxílio das “amas-de-leite”. Nestes casos, crianças filhas de mães com sorologia negativa são amamentadas por outras mulheres, sobretudo tias, avós, e pessoas próximas à família, com sorologia positiva e com alta carga proviral. Em locais onde ainda existe esta prática, não é incomum a soropositividade em crianças descendentes de uma família cujos pais não são infectados (MAHÉ *et al.*, 2005; CATALAN-SOARES *et al.*, 2005b; NOBRE *et al.*, 2006).

Em um estudo realizado na família de um doador de sangue, Nobre e colaboradores, identificaram a formação de um agrupamento de indivíduos infectados por transmissão intrafamiliar. Uma grande maioria das pessoas do agrupamento apresentava-se com doenças e alterações dermatológicas, provavelmente associadas à infecção pelo vírus. Na terceira geração deste agrupamento, todos os indivíduos infectados eram do gênero feminino. A formação do agrupamento familiar neste estudo denotava transmissão vertical em todos os casos, sendo a amamentação a principal via de contaminação identificada (NOBRE *et al.*, 2006).

Catalan-Soares e colaboradores estudaram, entre 1997 e 2003, familiares e parceiros sexuais de candidatos à doação de sangue. Os resultados encontrados revelaram alta soroprevalência (25%) entre parentes de indivíduos com sorologia positiva. Neste mesmo estudo, foram identificados 66 grupos de transmissão intrafamiliar do HTLV-1; estes grupos, em sua grande maioria, eram formados por portadores assintomáticos do HTLV-1. A transmissão horizontal foi provavelmente a principal forma de transmissão entre os indivíduos estudados (55,4%), seguida pela transmissão vertical (27,7%) e pela associação entre os dois tipos de transmissão (18,5%) (CATALAN-SOARES *et al.*, 2004b).

Relatos sobre a formação de agrupamentos familiares em indivíduos infectados pelo HTLV-2 são também descritos na literatura. Catalan-Soares e colaboradores identificaram, a partir de um caso índice, uma família formada por seis indivíduos com sorologia positiva. Três pessoas da família apresentaram sorologia positiva para o HTLV-2. É provável que a transmissão vertical por amamentação natural, tenha sido responsável pela infecção em apenas uma das filhas do casal. A transmissão horizontal também foi identificada, provavelmente na direção homem-mulher (CATALAN-SOARES *et al.*, 2005b).

Kayembe e colaboradores investigaram a formação de agrupamentos em indivíduos na província de Equateur na República do Zaire. Naquela ocasião foi verificada a aglomeração de pacientes com HAM/TSP instalada, em três agrupamentos familiares. De acordo com os autores é provável que a transmissão vertical e a interação de fatores genéticos tenham sido os fatores responsáveis por este agrupamento (KAYEMBE *et al.*, 1990).

A formação de agrupamentos, embora incomum, também foi observada em regiões não-endêmicas ou de baixa endemicidade para o vírus. Chironna e colaboradores relataram soropositividade para o HTLV-1 em três membros de uma família residente na região sudeste da Itália. O caso índice, um homem de 52 anos, não relatou fatores de risco para infecção pelo HTLV-1 como transfusão de sangue e promiscuidade. Este achado denota uma transmissão horizontal e vertical no grupo em questão (CHIRONNA *et al.*, 1995).

Gastaldello e colaboradores investigaram a transmissão vertical do HTLV-1 em famílias residentes em uma região de baixa endemicidade na região Norte da Argentina. Este estudo apresentou evidências moleculares de transmissão intrafamiliar, das mães para os filhos, com a consequente formação de agrupamentos familiares. No estudo destas mesmas famílias, dois pacientes de uma delas manifestaram sintomas de artrite, demonstrando uma influência genética na disseminação intrafamiliar do vírus (GASTALDELLO *et al.*, 2005).

A predisposição à infecção pelo vírus depende de fatores genéticos tais como os polimorfismos do HLA (Antígeno leucocitário humano) (BANGHAM, 2000). Catalan-Soares e colaboradores estudaram o perfil de polimorfismos do HLA de Classe I em pacientes brasileiros, com sorologia positiva para o HTLV-1, alocados na coorte GIPH (Fundação HEMOMINAS, Belo Horizonte). Ficou evidente, a partir da análise dos dados, que alelos do HLA-A*02 exercem função protetora em pacientes assintomáticos, enquanto o alelo HLA-Cw*07 apresentou estreita relação com o risco de desenvolvimento de HAM/TSP. Neste mesmo estudo, foi identificado um agrupamento familiar por transmissão vertical. Neste agrupamento, foi encontrado o alelo HLA-A*26, relacionado ao risco para ATLL, e em pelo menos 15 indivíduos foi encontrado o alelo HLA-Cw*07, ligado ao risco de desenvolvimento de HAM/TSP (CATALAN-SOARES *et al.*, 2004a).

1.3. Biologia do HTLV-1

O HTLV-1 é um retrovírus do tipo C e pertence à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae* e gênero *Deltaretrovirus*. O HTLV-1 possui tropismo pelos linfócitos T (LT) CD4⁺ e CD8⁺. Por sua vez, o HTLV-1 é capaz de residir e alterar as características biológicas imunomodulatórias destas células (MANS *et al.*, 1999). Alguns trabalhos têm descrito a infecção de outros tipos celulares pelo HTLV-1, destacando-se as células cutâneas (GONÇALVES *et al.*, 2003; NOBRE, 2006), neurônios, fibroblastos e células dendríticas (ZUCKER-FRANKLIN *et al.*, 1995; CECCALDI *et al.*, 2006).

O HTLV-1 é um vírus envelopado e contém um capsídeo de simetria icosaédrica. Possui no interior desta estrutura um genoma com duas cópias de RNA de filamento simples de senso positivo, envolto por um capsídeo protéico. Várias outras proteínas estão contidas neste capsídeo, incluindo a transcriptase reversa, a integrase e as nucleoproteínas, todas elas essenciais no processo de infecção do vírus. (MANNES *et al.*, 1999; HÖLLSBERG, 1999) (Figura 1).

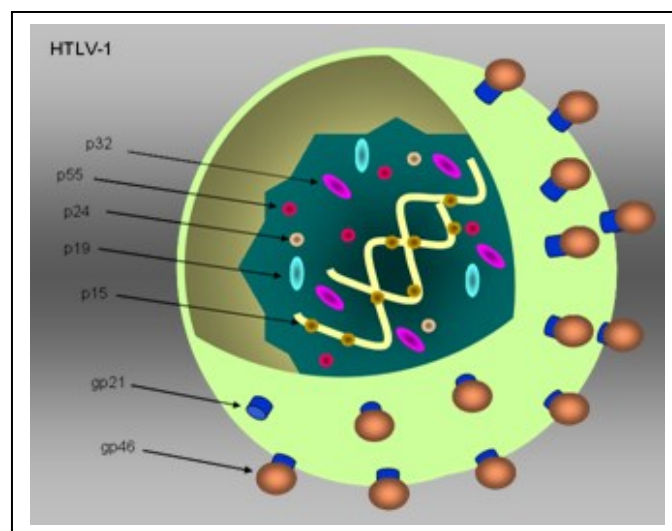


Figura 1 - Representação esquemática do HTLV-1, mostrando as proteínas estruturais e do capsídeo e as proteínas acessórias e enzimas virais. Do próprio autor.

1.3.1. Estrutura gênica do HTLV-1

O genoma do HTLV-1 possui 9032 bases (SEIKI *et al.*, 1983). Três genes estruturais representados por *gag*, *pol* e *env* e um gene não estrutural (enzimático) denominado *pro*

compõem a estrutura comum aos retrovírus. Esses genes são, por sua vez, flanqueados por duas terminações longas repetidas (LTR) nas extremidades 3' e 5'. As LTR's são regiões que contêm elementos regulatórios essenciais para a replicação viral. Um exemplo desta função é a presença do promotor U3, que é transativado pela proteína viral Tax, e controla primariamente a transcrição do provírus (MANNNS *et al.*, 1999; TAYLOR, 2007).

Entre o gene *env* e a LTR3' encontra-se a região *pX*, com quatro janelas de leitura (ORF's) parcialmente sobrepostas, que codificam as proteínas Tax (transativadora) e Rex (regulador pós-transcricional) e proteínas acessórias ($p12^I$, $p30^{II}$ e $p13^{II}$). A fita complementar do genoma viral é também transcrita, dando origem a formas processadas do fator HBz, que em conjunto com outros fatores, incluindo CREB, modulam a transcrição genética do vírus (MANNNS *et al.*, 1999; DING *et al.*, 2003; TAYLOR, 2007; BOXUS *et al.*, 2008) (Figura 2).

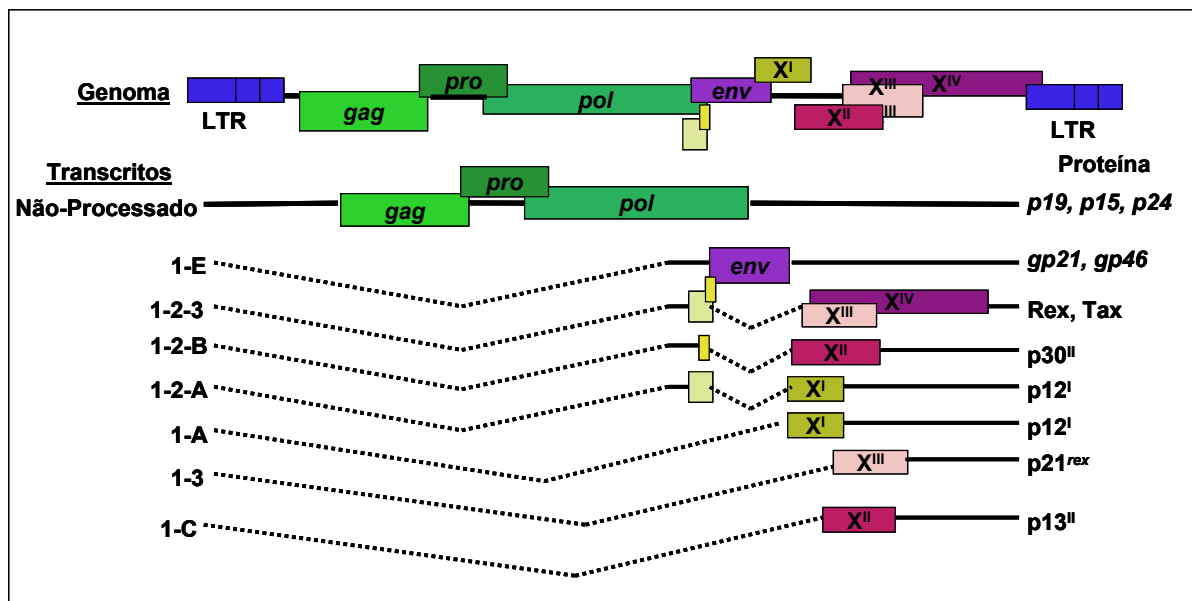


Figura 2 - Representação da Estrutura Genômica do HTLV-1. Adaptado de Bangham, 2000.

1.3.1.1. Proteínas estruturais

O gene *gag* codifica proteínas estruturais do cerne viral, $p53$ e seus produtos processados que incluem a $p19$ ou proteínas de matriz, a $p24$ ou proteína do capsídeo e a $p15$ ou nucleoproteína (nucleocapsídeo). O gene *env* codifica proteínas do envelope viral, sendo elas a proteína transmembrana $gp21$ e a glicoproteína de superfície do envelope viral, a $gp46$. Muitos

anticorpos produzidos em resposta à infecção pelo HTLV-1 incluem aquelas direcionadas contra os antígenos Env e Gag (MANNNS *et al.*, 1999; TAYLOR, 2007).

1.3.1.2. Enzimas virais

O gene *pol* codifica a integrase, a protease e a DNA-Polimerase dependente de RNA (RdDp, ou transcriptase reversa), três enzimas essenciais no processo de replicação viral (MANNNS *et al.*, 1999; TAYLOR, 2007). A protease é codificada pela seqüência de nucleotídeos que compreende a parte 3' da região *gag* e a parte 5' da região *pol*. A síntese da protease é realizada como parte do precursor poliprotéico Gag acompanhado por desvio da leitura ribossomal. A protease é responsável pelo processamento dos produtos Gag e por sua própria clivagem para gerar a molécula de protease madura (NAM *et al.*, 1993).

1.3.1.3. Proteínas codificadas pela região pX

A região *pX* contém dois genes regulatórios denominados *tax* e *rex*. Estas regiões gênicas são responsáveis, respectivamente, pela codificação das proteínas p40^{*tax*} e p27^{*rex*}. A proteína p27^{*rex*}, codificada pela ORF X^{III}, é responsável pelo controle pós-transcricional da expressão genética do vírus, enquanto a proteína p40^{*tax*} codificada pela ORF X^{IV} possui um amplo espectro de funções biológicas, que inclui a transativação gênica (como observado na transativação das LTR's) e a regulação da expressão protéica viral (MANNNS *et al.*, 1999; TAYLOR, 2007; TAYLOR e NICOT, 2008). A proteína Tax, além do papel essencial na transcrição viral, induz a expressão de genes celulares importantes para o crescimento e proliferação que incluem o GM-CSF, TNF, IL-15, IL-2 e IL-2R, estando ainda envolvida na imortalização de células, iniciando o processo de transformação celular e aumentando a expressão de fatores de transcrição celular, inibidores do reparo por excisão de nucleotídeos e apoptose celular, sendo considerada um dos principais elementos da patogênese viral (BARMACK *et al.*, 2003; NICOT *et al.*, 2005).

A proteína Rex é um regulador pós-transcricional requerido para uma eficiente expressão citoplasmática de transcritos virais processados e semiprocessados. Sua atuação é baseada na ligação a mRNA virais contendo uma seqüência denominada Rex response element (RxRE)

localizado na região LTR. A proteína Rex possui papel importante na passagem da fase precoce para o estado tardio da infecção, sendo ainda requerido para uma eficiente disseminação das partículas virais. Assim, Rex é indispensável para imortalização de linfócitos T *in vitro* e ainda é um importante modulador da expressão gênica viral, controle da concentração de produtos gênicos específicos, persistência viral e sobrevivência de células hospedeiras infectadas (YE, *et al.*, 2003).

1.4. Infecção e Multiplicação Viral

O HTLV-1 possui tropismo por vários tipos celulares, infectando preferencialmente, células TCD4⁺ e TCD8⁺. A infecção pelo HTLV-1 é caracterizada pela transcrição reversa de seu genoma, seguido pela integração do DNA proviral no genoma do linfócito infectado (MANNNS *et al.*, 1999; KWAAN *et al.*, 2006). O ciclo de multiplicação do HTLV-1 ocorre pelo mecanismo de multiplicação básico dos retrovírus. Resumidamente, o processo envolve a adsorção do vírus em receptores da superfície da célula hospedeira, notadamente GLUT-1, um transportador de glicose presente na superfície celular do hospedeiro (MANEL *et al.*, 2005, KINET *et al.*, 2007) Além do GLUT-1, moléculas da membrana do hospedeiro que podem atuar como co-receptores para o vírus, incluindo as ICAM, VCAM e proteoglicanas de heparan sulfato (HSPG) (MANEL *et al.*, 2005).

Posteriormente, ocorrem a penetração, desnudamento, integração do provírus no DNA da célula hospedeira e liberação da partícula viral. De maneira peculiar, os linfócitos infectados praticamente não produzem partículas infecciosas livres, sendo disseminados célula-a-célula (BANGHAM *et al.*, 2003; DERSE E HEIDECKER, 2003; IGAKURA *et al.*, 2003; MANEL *et al.*, 2005; MAJOROVITS *et al.*, 2008).

Após a adsorção do vírus na superfície da célula hospedeira ocorre penetração da partícula e o vírus é parcialmente desnudado dentro do citoplasma, permanecendo apenas o nucleocapsídeo viral (cerne viral). Ainda no cerne, o RNA genômico é copiado para um DNA dupla fita pela RdDp (DNA polimerase dependente de RNA/Transcriptase reversa). Após a duplicação, o DNAdf é levado ao núcleo celular, onde é covalentemente integrado no cromossomo hospedeiro, uma reação catalisada pela enzima integrase (BANGHAM, 2003).

O provírus integrado é então transcrito pela RNA polimerase II em um pré-RNA mensageiro. Após serem processados os pré-RNAm darão origem ao RNAm maduro, que por sua vez, codifica o RNA genômico, proteínas para o cerne viral, e uma nova progênie, montada a partir de proteínas estruturais e não-estruturais dentro citoplasma. O capsídeo dirige-se então à membrana celular, de onde adquire o envelope e é liberado por brotamento (Figura 3) (WATTEL *et al.*, 1996; BANGHAM, 2000; VINE *et al.*, 2007).

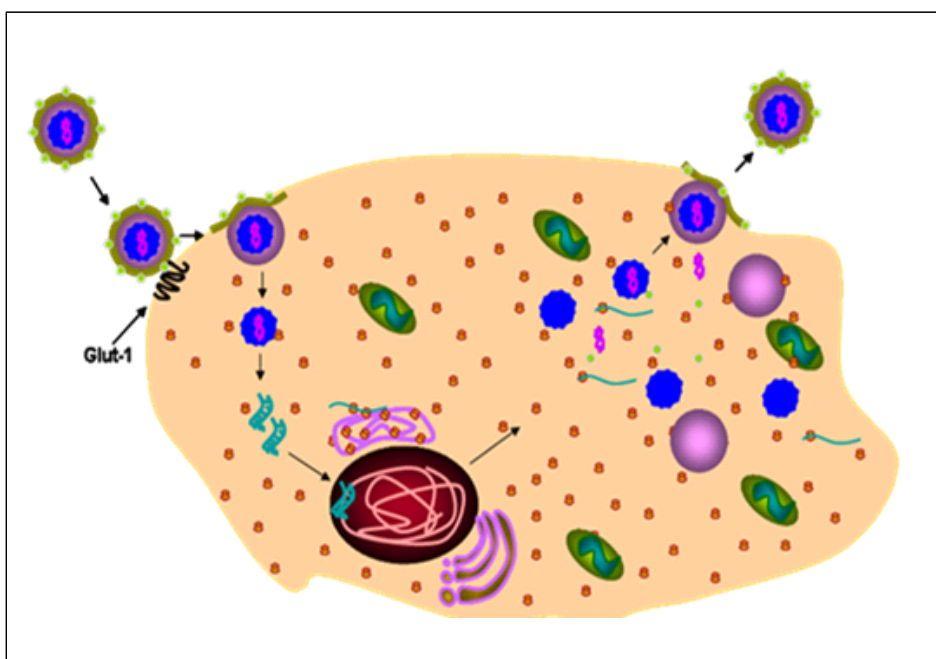


Figura 3 - Representação Esquemática do Ciclo do HTLV-1. Em destaque na esquerda do painel, o receptor Glut-1, presente em células com alto potencial metabólico. As setas representam o fluxo das etapas de multiplicação intracelular do HTLV-1. Do próprio autor.

1.4.1. Carga Proviral

Como a infecção pelo HTLV-1 se dá preferencialmente por transmissão célula-a-célula, as partículas virais livres raramente são encontradas no meio extracelular (IKAGURA *et al.*, 2003). A medida da carga proviral, portanto, é definida como a quantidade de DNA viral inserido no genoma da célula hospedeira, ou seja, o número de cópias de DNA por um número de células que transportam o provírus. Vários estudos têm mostrado que a carga proviral está associada com o processo de evolução para doença, podendo então, ser utilizada para o acompanhamento de pacientes portadores de HAM/TSP ou ATL (NAGAI *et al.*, 1998; MONTANHEIRO *et al.*, 2007; KUBOTA *et al.*, 1993; KUBOTA *et al.*, 2003). A carga proviral

também se correlaciona com o percentual de células T citotóxicas (CD8⁺) específicas para HTLV-1 e a produção de citocinas pró-inflamatórias em resposta ao antígeno viral, como IFN γ e TNF (ASQUITH e BANGHAM, 2007; KUBOTA *et al.*, 2003).

1.5. Vias de Transmissão

O HTLV-1 é transmitido pela transferência de linfócitos infectados no leite materno, sêmen ou sangue. As vias de infecção mais comuns incluem a amamentação, a transmissão pelo intercuro sexual, transfusão de sangue e hemoderivados e pelo uso de seringas contaminadas por linfócitos infectados, e, de maneira menos importante a via transplacentária (MANNS *et al.*, 1999; ADES *et al.*, 2000; IGAKURA *et al.*, 2003; PROIETTI *et al.*, 2005). Em áreas endêmicas para o vírus é representada pela via materno-infantil, através da amamentação. Contudo, a maior eficiência de transmissão e probabilidade de soroconversão é atribuída à transfusão de sangue (MANNS *et al.*, 1999; FUJINO e NAGATA, 2000; CATALAN-SOARES *et al.*, 2003; CATALAN-SOARES *et al.*, 2005a). À semelhança de outras doenças sexualmente transmitidas, a via de transmissão sexual constitui uma via eficiente de transmissão do HTLV-1. A transmissão entre os sexos é mais provável quando se considera a infecção homem-mulher, uma vez que a transmissão mulher-homem é mais rara (61% vs 0.4% respectivamente) (VRIELINK e REESINK, 2004; PROIETTI *et al.*, 2005).

1.6. Diagnóstico Laboratorial da Infecção pelo HTLV-1

O diagnóstico laboratorial da infecção pelo HTLV-1/2 é basicamente realizado na detecção de anticorpos específicos contra o vírus ou por métodos moleculares como a reação em cadeia da polimerase (PCR) sendo por sua vez definidos como testes de triagem ou testes confirmatórios. Para bancos de sangue brasileiros preconiza-se um algoritmo estabelecido pelo Ministério da saúde, consistindo das seguintes etapas: a primeira, a etapa de triagem sorológica, na qual são utilizados testes imunoenzimáticos e uma segunda etapa de confirmação sorológica onde são realizados testes de elevada especificidade, preferencialmente o teste de *Western Blot*. Além destes podem ainda ser utilizados os testes de imunofluorescência indireta em lâmina e de reação em cadeia da polimerase (PCR). No Brasil, o Ministério da Saúde determinou obrigatoriedade de triagem para o HTLV-1/2 em bancos de sangue em novembro de 1993,

através da portaria ministerial nº1376/93, ratificada pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 153 de 14 de julho de 2004 da ANVISA (ANVISA, 2004).

1.7. Doenças Associadas ao HTLV-1

O HTLV-1 foi o primeiro retrovírus a ser associado a doenças humanas. Em 1977 no Japão, Takatsuki e colaboradores identificaram a presença do DNA viral integrado nas células tumorais de pacientes com ATLL (PROIETTI *et al.*, 2005). O HTLV-1 pode causar diferentes doenças em aproximadamente 3-5% dos indivíduos infectados. Interessantemente, os sinais e sintomas das doenças podem levar vários anos até suas primeiras manifestações, sendo as mais comuns as formas de leucemia-linfoma de células T do adulto (ATLL) e a mielopatia associada ao HTLV ou paraparesia espástica tropical (HAM/TSP). A uveíte é a uma condição clínica mais comum depois da ATLL e HAM/TSP, tendo na maioria das vezes afetado pacientes com HAM/TSP. A dermatite infecciosa, bem como outras entidades clínicas menos comuns como a polimiosite, sinovite, tireoidite, artropatia, Síndrome de *Sjögren* e pneumonite brônquio-alveolar também fazem parte desta gama de doenças. A abordagem atual de algumas doenças é descrita adiante (UCHIYAMA, 1997; PROIETTI *et al.*, 2005).

1.7.1. Mielopatia Associada ao HTLV-1/Paraparesia Espástica Tropical (HAM/TSP)

A HAM/TSP é uma doença inflamatória desmielinizante que acomete, progressivamente, a medula espinhal, podendo acometer, de modo menos expressivo a substância branca encefálica (CERVILLA *et al.*, 2006). Os sintomas são insidiosos e envolvem a perda gradual de força muscular nos membros inferiores; tais sintomas são comumente associados à dor posterior e parestesia nos membros inferiores. Graus variáveis de incontinência urinária podem ocorrer em fases tardias da doença (BANGHAM, 2000; RIBAS e MELO, 2002; VRIELINK e REESINK, 2004). O risco de desenvolvimento de HAM/TSP é de 0,1% a 2,0%, sendo prevalente em 4 a 5% dos indivíduos infectados, e a idade média de acometimento, situada em torno da quarta década de vida com um acometimento até três vezes mais freqüente no sexo feminino (BANGHAM, 2000; VRIELINK e REESINK, 2004). Casos de HAM/TSP desenvolvidos precocemente estão associados à infecção por via parenteral (transfusão sangüínea), ao passo que infecções de acometimento mais tardio se correlacionam com infecções por via sexual (PROIETTI *et al.*, 2005).

A investigação clínica do paciente com HAM/TSP revela graus variados de fraqueza muscular, hiperreflexia, clônus, sinal de Babinsk positivo e marcha espástica (BANGHAM, 2000). A progressão da doença culmina em perda ou comprometimento da estabilidade dinâmica, disestesia e parestesia em segmentos distais dos membros inferiores e perda da sensibilidade vibratória. Não é incomum a manifestação de dores dorso lombares principalmente em regiões de dermatomos (território de pele e tela subcutânea inervada por uma única raiz dorsal de um nervo espinal), ou como raquialgia e dor segmentar (OSAME, 1999a; RIBAS e MELO, 2002).

Os mecanismos de indução da HAM/TSP têm sido bastante estudados nas últimas décadas. O sítio afetado em HAM/TSP é predominantemente a medula espinhal, especialmente na região torácica. Essas lesões são associadas com proliferação de capilares, infiltração de células T (células TCD4+ e TCD8+) de distribuição parenquimatosas e perivasculares, perda de mielina e axônios, proliferação de astrócitos e presença de macrófagos ativados. Mudanças inflamatórias não são restritas à medula espinhal existindo freqüentemente envolvimento do cérebro, uma vez que o processo inflamatório progride simultaneamente em todo o Sistema Nervoso Central (SNC) (AKIZUKI *et al.*, 1987; IZUMO *et al.*, 1992; UMEHARA *et al.*, 1993; OSAME *et al.*, 1999b).

1.7.2. Leucemia/Linfoma de Células T do Adulto (ATLL)

A leucemia/linfoma de células T humanas é uma das principais manifestações da infecção pelo HTLV-1, atingindo aproximadamente 1-5% dos indivíduos soropositivos (BARMACK *et al.*, 2003). As características clínicas mais comuns envolvem sinais e sintomas típicos de um linfoma não-Hodgkin, quais sejam a febre, indisposição, entorpecimento, perda ponderal, icterícia, linfadenopatia e hepatoesplenomegalia. Há presença de tipos celulares típicos denominados *flower cells*, pelo formato semelhante a uma flor (fig. 4). Não menos comuns, há envolvimento cutâneo (lesões nodulares, placas, *rash* papular generalizado) e sede (BANGHAM, 2000).

A classificação da ATLL é baseada em vários subtipos clínicos que cursam com diferentes prognósticos e manifestações clínicas. De acordo com dados da literatura, as formas clínicas compreendem: forma aguda (55% dos casos), linfomatosa (20%), crônica (20%) e *smouldering*

(5%). A taxa de acometimento homem: mulher da ATLL é de aproximadamente de 1,5: 1 respectivamente (BANGHAM, 2000). Embora os mecanismos exatos de indução da ATLL ainda não estejam bem elucidados, admite-se um papel particular da proteína Tax no processo de carcinogênese (BARMACK *et al.*, 2003).

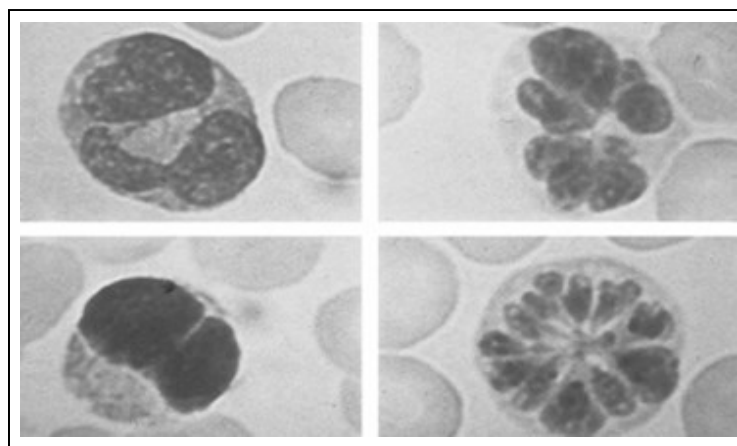


Figura 4 - Células típicas da leucemia Linfoma de Células T. Em destaque as chamadas células em flor ou *flower-cells*. Adaptado de Lairmone e Franchini, 2007.

1.7.3. Manifestações Dermatológicas

As doenças dermatológicas são manifestações secundárias, muito comuns em indivíduos infectados pelo HTLV-1, sobretudo naqueles que apresentam HAM/TSP e Leucemia-Linfoma de Células T do Adulto (ATLL) (HASHIGUSHI *et al.*, 1989). Em pacientes com ATLL há predominância de lesões nodulares e maculo-papulares, ao passo que pacientes HAM/TSP desenvolvem doenças tais como xerose e ictiose adquirida e lesões eritematosas nas extremidades inferiores, abaixo do nível do joelho (MILAGRES *et al.*, 2003; NOBRE *et al.*, 2005).

Doenças e alterações dermatológicas em pacientes com ATLL, são predominantemente maculo-papulares, ao passo que pacientes com HAM/TSP podem apresentar doenças cutâneas como xerose, Ictiose adquirida e eritemas (MILAGRES *et al.*, 2003; NOBRE *et al.*, 2005). A dermatite infecciosa é uma doença exudativa grave, muito comum em crianças infectadas na região da Jamaica. No Brasil tem sido frequentemente identificada em crianças soropositivas no estado da Bahia. Estas lesões, como parte de sua história natural, podem estar agravadas por

infecções pelo *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus β -hemolyticus*, como previamente descrito por LaGrenade (LaGRENADA *et al.*, 1990; BLANK *et al.*, 1995; LaGRENADA *et al.*, 1998; NASCIMENTO *et al.*, 2009). Outras manifestações comuns são as dermatofitoses, escabiose norueguesa, impetigo, psoríase, tineia e dermatite seborréica (GONÇALVES *et al.*, 2003; WATANABE *et al.*, 2004; NOBRE *et al.*, 2006; ARAÚJO, *et al.*, 2008).

As alterações dermatológicas são classificadas em três tipos diferentes, podendo (1) ser diretamente causadas pelas células infectadas pelo HTLV-1, associadas a outras doenças como a HAM/TSP, e a ATLL (infiltração de células neoplásicas); (2) ser indiretamente causadas por células infectadas pelo HTLV-1, ligadas a doenças secundárias atribuídas à imunossupressão, destacando-se a escabiose crostosa e micoses superficiais; ou (3) estarem ligadas a doenças inespecíficas como a dermatite seborréica, a dermatite psoríaseforme, dentre outras (NOBRE *et al.*, 2005; ARAÚJO, *et al.*, 2008). Em um estudo realizado entre 1997 e 1999 em 336 candidatos à doação de sangue (128 com sorologia positiva para o HTLV-1 e 108 com sorologia negativa) no estado Minas Gerais, Brasil, as alterações cutâneas mais comuns eram as dermatofitoses, a dermatite seborréica, a ictiose adquirida e dermatite de contato. Outras menos comuns incluíam o vitiligo, pitíriase versicolor, escabiose e xerose (GONÇALVES *et al.*, 2003).

1.7.3.1. Dermatite Infeciosa associada ao HTLV-1 (IDH)

A dermatite infecciosa associada ao HTLV-1 foi primeiramente descrita na década de 1960 em crianças da Jamaica, sendo sua associação com vírus confirmada na década de 1990 por La Grenade e colaboradores. A doença é caracterizada por uma grave dermatite exsudativa do couro cabeludo, orelha externa e região retroauricular, margens das sobrancelhas, pele paranasal, pescoço, axilas e virilhas, bem como finas erupções cutâneas generalizadas. Associado aos sinais citados advém um profuso corrimento nasal aquoso paralelamente à formação de crostas próximas às fossas nasais (La GRENADA *et al.*, 1998; GONÇALVES *et al.*, 2003; MAHÉ *et al.*, 2005; BITTENCOURT *et al.*, 2006). Além disso, os pacientes exibem lesões eritematosas escamosas ou em crostas nas asas do nariz, episódios de rinite e blefarconjuntivite (BLANK *et al.*, 1995; BITTENCOURT *et al.*, 2006; ARAÚJO, *et al.*, 2008) (fig. 5).



Figura 5 - Crianças portadoras de Dermatite Infeciosa associada ao HTLV-1 (IDH). Lesões crostosas retroauriculares e no couro cabeludo. À direita, lesões eritematosas e crostosas no tórax, região perinatal, retroauricular e axilar. Adaptado de Bittencourt, 2006.

Em 1998, La Grenade e colaboradores propuseram alguns critérios diagnósticos para a dermatite infecciosa, baseando-se na presença de sinais e sintomas. Os sinais mais comuns foram divididos em critérios maiores e menores (menos específicos) (Quadro 1). Segundo os autores, dos cinco critérios maiores, pelo menos quatro são necessários para o diagnóstico da dermatite infecciosa e, pelo menos dois dos seguintes sítios, deverão estar acometidos, quais sejam a axila e/ou virilha, couro cabeludo, orelha externa e região retroauricular, margem das sobrancelhas, peles das regiões do pescoço e paranasal (La GRENADE *et al.*, 1998).

<p>Maiores</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Eczema do couro cabeludo, axila e virilha, áreas do ouvido externo e retroauricular, pele paranasal e do pescoço. 2. Coriza aquosa sem outro sinal de rinite, e/ou formação de crostas nasais 3. Dermatite crônica recidivante com pronta resposta ao uso de terapia adequada e recorrência imediata na ausência de medicamento. 4. Acometimento precoce em crianças 5. Soropositividade ao HTLV-1 <p>Menores ou Inespecíficos</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Cultura positiva para <i>S. aureus</i> e/ou <i>S. β-hemolyticus</i> na pele ou crostas nasais 2. Erupções cutâneas generalizadas 3. Linfadenopatia com linfadenite dermatopática 4. Anemia 5. Alta taxa de sedimentação de eritrócitos 6. Hiperimmunoglobulinemia IgD e IgE 7. Aumento de CD4, CD8 e da Relação CD4/CD8

Quadro 1 – Parâmetros para o diagnóstico diferencial de dermatite infecciosa (IDH). Adaptado de La Grenade *et al.*, 1998.

A dermatite infecciosa, na maior parte dos casos, está associada a infecções secundárias causadas pelo *Staphylococcus aureus* e pelo *Streptococcus β -hemolyticus*. Interessantemente, há uma rápida regressão dos sinais e sintomas com o uso de antibióticos, apresentando caráter recidivante após a interrupção do tratamento (BLANK *et al.*, 1995; La GRENADÉ *et al.*, 1998; GONÇALVES *et al.*, 2003; MALONEY *et al.*, 2003; MAHÉ *et al.*, 2005; BITTENCOURT *et al.*, 2006).

Mahé e colaboradores descreveram cinco casos de dermatite infecciosa em crianças senegalesas. Uma delas apresentava dermatite grave em várias regiões do corpo, concomitantemente a um profuso corrimento nasal, formação de abscessos com formação espontânea de fistulas levando a um precário estado geral. Houve remissão das lesões com o uso de eritromicina, ocorrendo recidiva com a cessação do tratamento. Indubitavelmente, estes episódios constituem sinais importantes no diagnóstico da dermatite infecciosa (MAHÉ *et al.*, 2005).

A análise microscópica das amostras da pele lesionada revela um importante infiltrado linfocítico, sendo as lesões sugestivas de uma potente resposta imunológica antiviral do hospedeiro. O infiltrado inflamatório é, predominantemente, de células TCD8⁺. Deste modo, o exame histológico é de grande importância para o diagnóstico diferencial de outras doenças como a micose fungóide e doenças inflamatórias crônicas como a dermatite atópica (La GRENADÉ *et al.*, 1998; BITTENCOURT *et al.*, 2006).

As manifestações cutâneas tendem a ser menos graves com o avançar da idade, provavelmente devido ao nível de maturação do sistema imunológico. Sendo assim, crianças estão, sobremaneira, mais predispostas ao desenvolvimento da doença quando comparadas a pessoas adultas. Evidências clínicas e epidemiológicas sugerem ainda que a dermatite infecciosa possa ocorrer como pródromo de outras doenças mais sérias relacionadas ao HTLV-1. Isso corrobora, por exemplo, que crianças infectadas precocemente desenvolvem doenças associadas com maior gravidade, após um menor período de soroconversão (La GRENADÉ *et al.*, 1998; PRIMO *et al.*, 2009).

1.7.3.2. Lesões cutâneas associadas à ATLL

Linfoma cutâneo de células T (CTCL) é um termo que representa uma variedade de linfomas com diferentes manifestações clínicas, histológicas e abordagens terapêuticas. As formas mais conhecidas de CTCL incluem a micose fungóide e a síndrome de Sézary (CRISCIONE e WEINSTOCK, 2007).

As lesões dermatológicas associadas à ATLL usualmente apresentam-se como erupção cutânea papular envolvendo as mãos, pés, troncos e extremidades. A formação de placas e pápulas semelhantes à quelóides acometendo a face, orelhas, dorso das mãos, cotovelos, joelhos, região infra-mamária e interglútea não são incomuns. Outros sintomas não menos clássicos envolvem linfadenopatia periférica e hepatoesplenomegalia (DiCAUDO *et al.*, 1996) (fig. 6).

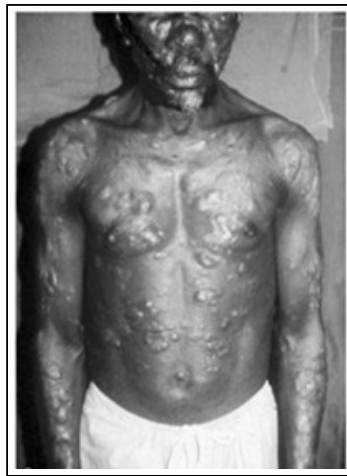


Figura 6 - Lesões cutâneas na ATLL. Lesões nodulares disseminadas na face, região do tórax e abdome, região alar das narinas e região perioral. Adaptado de Lairmone e Franchini, 2007.

A biópsia de pele é caracterizada pela presença de denso infiltrado linfocítico que envolvem a derme papilar e epiderme, granulomas de histiócitos e infiltrados epidermotrópicos. Outros achados importantes envolvem oclusão de vasos de pequeno calibre por aglomerados de linfócitos, acometimento de bulbo piloso e a formação de microabscesso de Pautrier. O infiltrado linfocítico é composto por linfócitos típicos e atípicos e com importantes alterações nucleares (DiCAUDO *et al.*, 1996; YAMAGUSHI *et al.*, 2005).

1.7.3.4. Micoses Superficiais

Diversas manifestações cutâneas têm sido descritas em associação com a infecção pelo HTLV-1. As mais comuns estão relacionadas a lesões secundárias à ATLL e HAM/TSP. As micoses superficiais são muito comuns nos pacientes infectados, provavelmente devido à imunodeficiência conferida pelo vírus em alguns pacientes (GONÇALVES *et al.*, 2003; NOBRE *et al.*, 2006) (fig. 7).

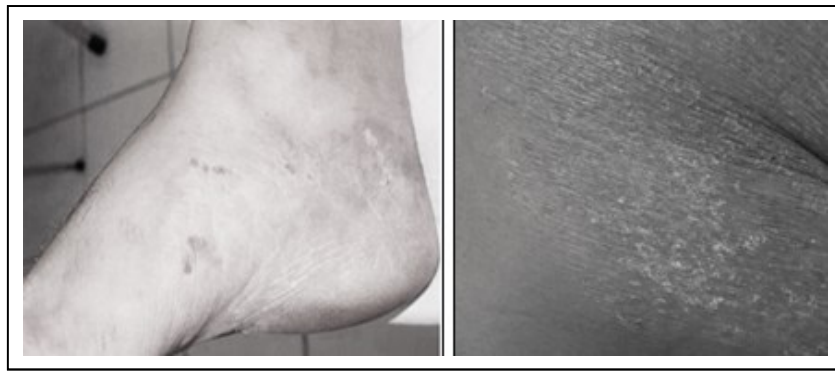


Figura 7 - Dermatomicoses. Esquerda: *Tinea pedis*; Direita: *Tinea*. Adaptado de Araújo, *et al.*, 2008.

1.7.3.5. Ictiose adquirida e Xerose

A ictiose adquirida e a xerose têm sido descritas como as principais manifestações dermatológicas associadas a pacientes a indivíduos com HAM/TSP, ocorrendo em 66,7% dos casos, evoluindo para um quadro mais intenso com a evolução da neuropatia (HASHIGUSHI *et al.*, 1989; CARZUZAA *et al.*, 1999; MILAGRES *et al.*, 2003; NOBRE *et al.*, 2006).

Dentre as manifestações clássicas associadas ao HTLV-1, encontra-se a xerose cutânea, uma forma grave de xerodermia. Aventa-se que o HTLV-1 infecte células das glândulas sudoríparas comprometendo a função secretora da glândula. Sendo assim, em indivíduos com sorologia positiva para o HTLV-1, ocorre predileção de acometimento na face anterolateral das pernas, flanco e braços; ocorrem graus variados de hipohidrose, podendo acometer também várias outras regiões do corpo (Nobre *et al.*, 2005).

A ictiose adquirida faz parte de um conjunto de doenças congênitas e adquiridas, predominantes no adulto e podem estar associadas a eventos sistêmicos como linfomas, síndrome da imunodeficiência adquirida, hanseníase e hipertireoidismo. Em infecções associadas ao HTLV-1, ocorrem lesões cutâneas, provavelmente associadas a lesões em células de lubrificação da pele. Esta doença pode ocorrer em braços, pernas e tronco (Nobre *et al.*, 2005) (fig. 8).



Figura 8 - Ictiose adquirida. Lesões com aspecto escamoso na região da perna, muito característico em pacientes HAM/TSP. Adaptado de Nobre *et al.*, 2006.

1.7.4. Doenças infectoparasitárias associadas ao HTLV-1

1.7.4.1. Estrongiloidíase

Vários estudos têm destacado a coinfeção pelo HTLV-1 e pelo helminto *Strongyloides stercoralis* (GABET *et al.*, 2000; PORTO *et al.*, 2001; SATOH *et al.*, 2003; CARVALHO e PORTO, 2004). Gabet e colaboradores estudaram a relação entre a carga proviral e a circulação do HTLV-1 em 33 portadores com ou sem coinfeção pelo referido helminto (estrongiloidíase). Os resultados mostraram que, em portadores, a alta carga proviral circulante se correlaciona com a infecção pelo *Strongyloides stercoralis*, resultante da expansão de um número restrito de clones HTLV-1 em células infectadas (GABET *et al.*, 2000).

Porto e colaboradores estudaram o perfil de citocinas e a resposta de IgE em pacientes portadores de HTLV-1 infectados pelo *Strongyloides stercoralis*. Ficou demonstrado que os pacientes co-infectados pelo HTLV-1 e *Strongyloides stercoralis* apresentavam altos níveis

séricos de Interferon- γ e IL-10 e baixos níveis séricos de IL-5 e IgE quando comparados a pacientes não infectados pelo HTLV-1 (PORTO *et al.*, 2001).

Relatos da associação de doenças helmínticas em pacientes com doenças dermatológicas também estão descritos na literatura. Namem-Lopes e colaboradores descreveram dois casos de pacientes com doenças dermatológicas, alocados na coorte GIPH. Nestes pacientes, os autores observaram dificuldades na erradicação da infecção intestinal e dos pacientes, aquele que apresentava carga proviral mais elevada desenvolveu doença mais grave e evolução para óbito. Ainda que sem significado estatístico, este trabalho revela uma tendência dos pacientes co-infectados com *S. stercoralis* e com alta carga proviral, desenvolverem quadros clínicos mais graves. Ainda, pode-se destacar a importância da resposta Th₂ na manutenção de doenças cutâneas secundárias em concomitância com o HTLV-1 (NAMEM-LOPES *et al.*, 2009).

1.7.4.2. Escabiose norueguesa

A escabiose norueguesa é uma grave, mas infreqüente infecção, causada por uma infestação massiva pelo ácaro *Sarcoptes scabiei var. hominis*. Tem sido associada com a infecção pelo HTLV-1 em pacientes com ATLL ou isoladamente. Caracteriza-se por lesões crostosas e hiperkeratóticas localizadas preferencialmente em regiões ou áreas de pressão, incluindo a palma das mãos, região plantar dos pés, cotovelos, joelhos e, menos freqüentemente, tórax, sobrancelhas, couro cabeludo e narinas (BLAS *et al.*, 2005).

1.8. Aspectos Imunológicos da Infecção pelo HTLV-1

A resposta imunológica induzida pelo HTLV-1 é bastante complexa, e, composta por diversos eventos que induzem o estado de portador assintomático ou o aparecimento das síndromes induzidas por este vírus, durante a cronificação da infecção. Dentre os eventos relatados por muitos pesquisadores, os altos títulos de anticorpos circulantes no soro e líquido cefalorraquidiano, o aumento dos níveis de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, além de alta carga proviral, está entre os marcadores mais expressivos do adoecimento (NAGAI *et al.*, 1998; SAKAI *et al.*, 2001; PRIMO *et al.*, 2009).

As células dendríticas são células apresentadoras de antígenos amplamente distribuídas no organismo, estando responsáveis pela geração e manutenção da imunidade antiviral. Estão presentes no epitélio cutâneo e nas superfícies da mucosa dos tratos genital, respiratório e digestivo. Pela sua ampla localização, as células dendríticas atuam como barreira primária na imunidade inata, estando presentes ainda em tecidos periféricos em quantidades superiores às de linfócitos TCD4⁺ e TCD8⁺. Em conjunto com os macrófagos, representam cerca de 2% das células do sangue periférico (CECCALDI *et al.*, 2006). A resposta coordenada das células dendríticas promove a diferenciação dos linfócitos TCD4⁺ em linfócitos do subtipo T_h1, T_h2 e T_h17 (BIRD, 2008). Ceccaldi e colaboradores testaram a infecção de células dendríticas isoladas e associadas à PBMC. Os autores perceberam a presença de partículas virais incluídas em vacúolos citoplasmáticos apenas quando infectados em co-cultura. Esse achado sugere uma importante função das células dendríticas na apresentação de antígenos em infecções pelo HTLV-1 adquiridas por via não parenteral (CECCALDI *et al.*, 2006).

Como a maioria das infecções virais, a resposta ao HTLV-1 é predominantemente do tipo Th1, ou seja, resposta imune celular, caracterizada por células TCD8⁺ ativadas efectoras e também pela produção de citocinas do tipo 1 como TNF e INF- γ (BRITO-MELO *et al.*, 2006). As células TCD8⁺ têm sido relacionadas à sua capacidade de promover tanto a proteção, quanto auxiliar no desenvolvimento de danos teciduais (WATHMAKER, 2002).

A carga proviral difere entre pacientes com HAM/TSP e portadores assintomáticos, podendo apresentar caráter flutuante no curso da doença (KUBOTA *et al.*, 1998). A carga proviral em pacientes HAM/TSP é mantida por uma persistente taxa de multiplicação viral e pela divisão mitótica de células contendo o genoma proviral (BANGHAM *et al.*, 2000). Goon e colaboradores testaram a hipótese de imunodominância de células T, quantificando a produção de IFN- γ CD4⁺-específicos entre estes dois grupos de pacientes. Ficou evidente que a alta carga proviral se correlaciona positivamente com o desenvolvimento de HAM/TSP (GOON *et al.*, 2004).

A resposta específica de linfócitos TCD8⁺ ao HTLV-1 é importante para controlar o nível de carga proviral tanto em sangue periférico quanto no Sistema Nervoso Central. Um recente estudo ex-vivo utilizando microarranjos de DNA analisando mais de 12000 genes de células T,

comparou PBMC de pacientes com alta e baixa carga proviral e TCD8⁺ dirigida ao HTLV-1. De acordo com esta avaliação, um pequeno agrupamento de genes é expresso em altas taxas nas células TCD8⁺ de indivíduos com baixa carga proviral, especialmente consistindo em genes associados à resposta efetora de TCD8⁺, incluindo granzimas, perforina e granulicina. De maneira interessante, este perfil foi observado tanto em pacientes assintomáticos quanto com HAM/TSP instalada (VINE *et al.*, 2004).

Tendo sido pontuado este importante mecanismo controlador da disseminação da infecção, considerando-se até mesmo os indivíduos com a síndrome já instalada, permanecia ainda a pergunta de quando e como as células TCD8⁺ com resposta dirigida ao HTLV-1 não conseguiam mais controlar a carga proviral e a progressão da infecção. Asquith e Bangham (2007) desenvolveram, então, um modelo para descrever a persistência do HTLV-1 “in vivo”. Este trabalho mostrou que a patogênese da HAM/TSP está associada com uma contínua e alta taxa de expressão de Tax. Esta proteína dirige a proliferação celular de modo a exceder a capacidade de lise das TCD8⁺, levando a um aumento da carga proviral. Tendo em vista que a maior parte da carga proviral não é obtida por uma expressão contínua, estes mesmos autores, utilizando um ensaio de RT-PCR em tempo real, mostraram que pacientes HAM/TSP expressam altos níveis de RNAm de Tax comparado aos portadores assintomáticos (ASQUITH *et al.*, 2007).

Em relação à resposta imune humoral, estudos relatam a presença aumentada de anticorpos anti-HTLV-1 nos indivíduos infectados por este retrovírus, sendo que em pacientes com HAM/TSP os níveis de imunoglobulinas, principalmente para a proteína Tax são significativamente mais elevados (JACOBSON *et al.*, 1990; KAPLAN *et al.*, 1990; LEVIN *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2006; SOUZA 2006). A resposta humoral é caracterizada, inicialmente, pela presença de anticorpos parcialmente protetores dirigidos contra a proteína de superfície do envelope viral gp46 (HADLOCK *et al.*, 1998), e contra os precursores da proteína Gag, p19 e p24 (GESSAIN *et al.*, 1985; MANNS *et al.*, 1991). Posteriormente, acima de 50% dos indivíduos soropositivos produzem anticorpos contra a proteína Tax. Anticorpos específicos para a proteína Tax demonstram estar intimamente correlacionados à infecção pelo HTLV-1 e sua patogênese (LEVIN *et al.*, 2002a; LEVIN *et al.*, 2002b).

Estudos demonstram que anticorpos anti-Tax estão relacionados com um componente autoimune, contribuindo para o desenvolvimento de HAM/TSP. Lee e colaboradores sugerem um modelo de mimetismo molecular em doença neurológica – HAM/TSP, onde anticorpos contra a proteína Tax do HTLV-1 reconhecem a ribonucleoproteína A1 (hnRNP A1) expressada em neurônios no Sistema Nervoso Central, esta reação cruzada impede o disparo do estímulo nervoso nas células afetadas (LEE *et al.*, 2006).

Além dos fatores imunológicos, outros aspectos estão relacionados com a progressão da infecção, como a expressão da proteína Tax, a carga proviral e fatores intrínsecos ao hospedeiro, como o polimorfismo de HLA. Neste sentido, mais estudos avaliando a resposta imune e a carga proviral, contribuirão para o esclarecimento e o entendimento das doenças inerentes à infecção pelo HTLV-1.

1.9. Quimiocinas, citocinas e seus receptores no contexto da infecção pelo HTLV-1.

As quimiocinas constituem uma superfamília de pequenas proteínas de aproximadamente 8-14 kDa, com vários papéis biológicos, estando criticamente envolvidas principalmente no tráfico de células inflamatórias na defesa do hospedeiro, sendo produzidas em várias subpopulações de linfócitos (MENNICKEN *et al.*, 1999; HOMEY, 2005; CARTIER *et al.*, 2005). Adicionalmente, as quimiocinas desempenham outras funções biológicas destacando-se a modulação de respostas biológicas como a secreção enzimática, a adesão celular, citotoxicidade, crescimento tumoral e a degranulação e ativação de células T (MENNICKEN *et al.*, 1999; CARTIER *et al.*, 2005).

Tanto as citocinas quanto as quimiocinas funcionam como importantes moléculas sinalizadoras no SNC hígido. Embora células residentes do SNC sejam capazes de expressar receptores funcionais de quimiocinas, esta expressão, porém, ocorre preferencialmente a partir de um estímulo inflamatório. No caso de doenças inflamatórias crônicas como HAM/TSP, estas moléculas contribuem com a disfunção da resposta imune vírus/hospedeiro e com a instalação da patogênese viral (LEPOUTRE *et al.*, 2009).

Pouco se conhece sobre o papel das quimiocinas nas doenças dermatológicas induzidas pelo HTLV-1 (objeto desta dissertação), embora a importância destas moléculas tenha sido demonstrada em doenças classicamente descritas neste compartimento corpóreo ou mesmo em pacientes apresentando HAM/TSP. É importante ressaltar que muitos estudos já demonstraram a importância das quimiocinas na migração celular e rompimento da barreira hematoencefálica em indivíduos infectados pelo HTLV-1, entretanto, existe uma lacuna no que tange ao estudo da migração das células infectadas por este vírus para a pele de indivíduos infectados.

A quimiocina CCL5/RANTES (Proteína secretada e regulada pela ativação de linfócitos T/quimioatraente de linfócitos T ativados e eosinófilos), está presente em células do epitélio, neurônios, astrócitos, músculo liso vascular e fibroblastos (MURPHY *et al.*, 2000), mediando o tráfego de linfócitos T e outras células linfóides. Especificamente, RANTES/CCL5 desempenha um papel chave na resposta imune antiviral, sendo degranulada de células TCD8⁺ vírus-específicas juntamente com granzimas e perforina (NICKEL *et al.*, 2000; APPAY e ROWLAND-JONES, 2001). Esta molécula é predominantemente expressa por linfócitos TCD8⁺ (KOGA *et al.*, 2000; APPAY e ROWLAND-JONES, 2001) e TCD4⁺ (MURPHY *et al.*, 2000) e o aumento de sua produção está envolvido em um espectro de doenças inflamatórias que incluem as desordens associadas ao HTLV-1 como a HAM/TSP (MONTANHEIRO *et al.*, 2007), doenças inflamatórias e dermatite atópica (MURPHY *et al.*, 2000; NICKEL *et al.*, 2000; APPAY e ROWLAND-JONES, 2001). Há relatos ainda da associação de RANTES com o processo de rejeição de enxertos de pele (KOGA *et al.*, 2000).

Portadores assintomáticos do HTLV-1 possuem níveis séricos de CCL5/RANTES significativamente maiores que o de indivíduos não infectados, e a concentração desta mesma proteína juntamente com CCL3/MIP-1 α (proteína quimioatraente de macrófagos, monócitos e linfócitos CD8⁺), encontram-se em níveis séricos ainda maiores em pacientes com HAM/TSP, e estão fortemente implicados neste processo patológico (KABURAGI *et al.*, 2001; MONTANHEIRO *et al.*, 2007).

Uma pesquisa recente em uma coorte do estado da Bahia mostrou que as quimiocinas CXCL9/Mig e CXCL10/IP-10 (relacionadas ao recrutamento dos linfócitos Th1) foram detectadas em altos níveis no soro (além de positivamente correlacionadas com o IFN- γ) de

pacientes HTLV-1 positivos com HAM/TSP instalada, em comparação com o nível visto em pacientes assintomáticos, pontuando a importância destas moléculas como marcadores da cronificação da infecção pelo HTLV-1 (GUERREIRO *et al*, 2006).

1.9.1. Eotaxinas

Dentre as várias quimiocinas envolvidas na migração celular encontram-se as recém-descobertas Eotaxinas. Estas quimiocinas são do grupo das β -quimiocinas, estando sua função dependente da ligação ao receptor CCR3, um membro da família de receptores acoplados à proteína G. Em respostas inflamatórias cutâneas de pacientes com dermatite atópica, Eotaxina/CCL11 tem papel central no recrutamento precoce de eosinófilos, ao passo que a Eotaxina-2/CCL24 está envolvida em respostas tardias na dermatite atópica (BADEWA *et al.*, 2002; LEUNG *et al.*, 2004). Nestas respostas, a degranulação do superóxido pelos eosinófilos é dependente da concentração de Eotaxina/CCL11 e Eotaxina-2/CCL24. Deste modo as eotaxinas, neste tipo celular, desempenham papéis de recrutamento, ativação e secreção de produtos bioativos (BADEWA *et al.*, 2002). Estas quimiocinas serão objeto de estudo nesta dissertação.

1.9.2 Receptores solúveis de TNF: sTNFr1 e sTNFr2

Dentre as citocinas envolvidas na infecção pelo HTLV-1 e sua cronificação, uma das mais relatadas em várias coortes estudadas em todo o mundo é o TNF- α , uma citocina inflamatória primariamente produzida por macrófagos ativados, podendo ainda ser produzida por vários outros tipos celulares incluindo células endoteliais, fibroblastos, células B e T, exercendo deste modo, uma gama variada de atividades biológicas que incluem a proliferação, diferenciação, apoptose, inflamação e imunomodulação, participando indubitavelmente da ativação dos processos de defesa do hospedeiro (DEROUICH-GUERGOUR *et al.*, 2001; BRITO-MELO *et al.*, 2006; RAYCHAUDHURI e RAYCHAUDHURI, 2009).

Em um estudo envolvendo pacientes sorologicamente positivos para o HTLV-1 em diferentes graus de progressão clínica, foi demonstrado que uma maior frequência de células TCD4⁺ HTLV-1-específicas (secretando TNF- α e IL-2) estava presente em PBMC de pacientes com

HAM/TSP instalada que nos infectados assintomáticos, embora a carga proviral dos mesmos não tenha apresentado variação (GOON *et al.*, 2003). Em um trabalho recente, Brito-Melo e colaboradores demonstraram a importância de linfócitos TCD8⁺, células NK e monócitos como células produtoras de TNF em pacientes HAM/TSP. Neste grupo de pacientes, além dos oligossintomáticos, foram detectadas uma porcentagem de células para células TNF^{+/+} corroborando o papel deste tipo celular na indução e manutenção do status neuronal destes pacientes (BRITO-MELO *et al.*, 2006).

A ação pleiotrópica do TNF- α sobre as células-alvo se dá a partir de dois diferentes, mas estruturalmente relacionados, receptores homodiméricos: TNFR1, também denominado p55 e CD120a; e pelo TNFR2, também denominado TNFRSF1B, p75 ou CD120b (DEROUICH-GUERGOUR *et al.*, 2001; MICELI-RICHARD *et al.*, 2007; YANG *et al.*, 2008). Estes receptores são glicoproteínas transmembrana membros da superfamília TNF de receptores e estão presentes em praticamente todas as células nucleadas (DEROUICH-GUERGOUR *et al.*, 2001).

Os domínios extracelulares dos receptores de TNF- α são idênticos e, embora compartilhem esta característica estrutural, seus domínios citoplasmáticos e transmembrana possuem diferenças estruturais, sugerindo uma explicação para a variedade de processos biológicos dos quais participa o TNF- α (DEROUICH-GUERGOUR *et al.*, 2001). A ligação do TNF ao sTNFr1 é acompanhada por internalização, ao passo que a ligação ao sTNFr2 é seguida pela dissociação do complexo ligante-receptor.

Assim, sinais do TNF iniciados pelo sTNFr1 podem produzir efeitos diversos daqueles elicitados pelo sTNFr2 (GEORGE *et al.*, 2004). A sinalização ocorrida via receptor sTNFr1 induz variados processos biológicos incluindo a atividade antiviral, a apoptose, citotoxicidade, proliferação de fibroblastos, indução do NF κ B, adesão celular e expressão de moléculas de adesão tais como ICAM e VCAM-1 (AMRANI *et al.*, 2001). Por outro lado, a ligação ao TNFr2 está relacionada a atividades biológicas como a proliferação de linfócitos (DEROUICH-GUERGOUR *et al.*, 2001), e tem sido sugerida sua função em reparo de lesões do sistema nervoso central (FIGIEL, 2008), como na síndrome de Guillain-Barré após tratamento inicial (RADHAKRISHNAN *et al.*, 2004).

Os receptores solúveis de TNF- α , sTNFr1 e sTNFr2, são gerados por clivagem proteolítica de sua forma de membrana e estão presentes em fluidos biológicos tais como soro, urina e líquido sinovial sob condições normais ou patológicas (DEROUICH-GUERGOUR *et al.*, 2001; MICELI-RICHARD *et al.*, 2007; YANG *et al.*, 2008). Estes receptores são deste modo, melhores marcadores da atividade de TNF e, conseqüentemente da atividade inflamatória, uma vez que o TNF localmente produzido estimula a produção sistêmica destes receptores, encontrados em concentrações mais elevadas e mais facilmente detectáveis que o TNF (ALESSANDRI *et al.*, 2006; RAYCHAUDHURI e RAYCHAUDHURI, 2009).

Uma vez que células expressando antígenos de HTLV-1 mostram uma sensibilidade diminuída à apoptose induzida via Fas, Yang e colaboradores estudaram a expressão de TNFRs em linhagens celulares infectadas pelo HTLV-1 e observaram que, embora o gene de ambos os receptores fossem detectáveis por RT-PCR, e, diferentemente das linhagens celulares controle não infectadas pelo vírus, não houve a expressão de TNFR1 em nenhuma das 5 linhagens expressando antígenos de HTLV-1, e, três destas linhagens expressaram o TNFR2 em sua superfície, sendo, porém, resistentes à apoptose mediada por TNF- α . Os autores sugerem que a infecção viral subverte tanto o sistema Fas-FasL quanto o sistema TNF de disparo de apoptose, e, que este fenômeno pode contribuir para a persistência viral e favorecimento da sobrevivência e subsequente expansão de células T infectadas com potencial de desenvolvimento das doenças autoimunes ou neoplásicas induzidas pelo HTLV-1 (YANG *et al.*, 2002).

1.9.3. BDNF (Fator neurotrófico derivado do cérebro)

A regeneração e proteção dos axônios da medula espinal envolvem diversos fatores tróficos. Estes fatores incluem uma grande família de neurotrofinas que incluem o BDNF, o fator de crescimento neuronal (NGF), as Neurotrofinas 4 e 5, o fator neurotrófico derivado da glia (GDNF), dentre outros (ALBRECHT *et al.*, 2006).

A proteína BDNF é um membro da família de fatores de crescimento denominados de neurotrofinas, que incluem também a NGF, NT3 e NT4. Todas as neurotrofinas possuem seis resíduos conservados de cisteína e compartilham 55% de identidade na extremidade aminoterminal. BDNF é um potente agente neurotrófico que sustenta o crescimento e

sobrevivência de nervos e de células da glia, tendo sido deste modo, responsável pela sobrevivência e diferenciação *in vitro* de várias classes de neurônios, aqueles derivados da crista neural e outros derivados de neurônios sensitivos, neurônios dopaminérgicos da substância negra, neurônios colinérgicos basais do prosencéfalo, neurônios do hipocampo e de células gliais da retina (POUSINHA *et al.*, 2006; SONG *et al.*, 2008).

A ação do BDNF expresso nos gânglios periféricos, contudo, não está restrita a alvos neuronais, havendo deste modo a possibilidade de ações neuronais parácrinas e autócrinas, bem como em células não-neuronais. Sendo assim, há uma redução considerável de BDNF em doenças do SNC, incluindo as doenças de Alzheimer e de Huntington. Tem sido demonstrada ainda, alterações nas vias mediadas por BDNF, que podem aumentar a inflamação e o dano tecidual em doenças miocárdicas causadas pelo envelhecimento cardíaco (POUSINHA *et al.*, 2006; ALBRECHT *et al.*, 2006; ZHU *et al.*, 2007; SONG *et al.*, 2008).

Pouco se tem descrito a respeito da ação das neurotrofinas em indivíduos infectados pelo HTLV-1. Em um trabalho recente, foram abordadas a quantificação dos níveis séricos de diversas neurotrofinas, incluindo BDNF, e sua correlação com a doença neuronal no HTLV-1, na demência associada ao HIV e na Doença de Creutzfeld-Jacob. Para estes casos, não foi possível identificar diferenças significativas entre as principais neurotrofinas pesquisadas (ALBRECHT *et al.*, 2006).

2. JUSTIFICATIVA

O HTLV-1 foi, historicamente, o primeiro retrovírus a estar associado a doenças humanas. A primeira associação entre o vírus e a indução de doenças foi realizada no início da década de 1980, concomitantemente, nos Estados Unidos e no Japão. Atualmente, por influência de fatores ainda desconhecidos, diversas regiões no mundo são consideradas endêmicas para a infecção. Estes pontos de distribuição geográfica incluem as ilhas de Shikoku e Okinawa no Arquipélago japonês, países da região central da África, países latino-americanos incluindo o Brasil, Peru e Colômbia e, sobretudo, a Jamaica e países da América Central e Martinica (CHIRONA *et al.*, 1995; CATALAN-SOARES *et al.*, 2003; BANGHAM, 2003; BANGHAM E OSAME, 2005).

A infecção pelo HTLV-1 está associada com a indução de um espectro de doenças que incluem uma doença inflamatória neurodegenerativa denominada Mielopatia Associada ao HTLV/Paraparesia Espástica Tropical (HAM/TSP); um tipo agressivo de linfoma de células T denominado Leucemia/Linfoma de Células T do Adulto (ATLL); além de outras manifestações importantes como a dermatite infecciosa, uveíte, artrite, fibromialgia dentre outras (CHIRONA *et al.*, 1995; McCALLUN *et al.*, 1997; ADES *et al.*, 2000; CATALAN-SOARES *et al.*, 2003; BARMAK *et al.*, 2003 BANGHAM, 2003; BANGHAM E OSAME, 2005; CARNEIRO-PROIETTI *et al.*, 2005).

Atualmente não se conhece tratamento curativo eficaz para as doenças associadas ou para conter a infecção pelo HTLV-1, e o conhecimento sobre a produção de vacinas é ainda incipiente. As doenças associadas ao HTLV-1 produzem um grande impacto na vida do indivíduo infectado, limitando seu poder de trabalho, devido à perda progressiva da capacidade de realizar as atividades de vida diária (AVD). Estas limitações são observadas em pacientes que apresentem quaisquer manifestações clínicas e estão relacionadas aos danos progressivos resultantes da interação do vírus com as células hospedeiras (OSAME, 1999; RIBAS e MELO, 2002; LEPOUTRÉ *et al.*, 2009).

As doenças e alterações dermatológicas associadas ao HTLV-1 são quadros clínicos muito comuns, principalmente em crianças soropositivas e em pacientes portadores e/ou predispostos

ao desenvolvimento de HAM/TSP e de ATLL. Destacam-se entre as principais doenças dermatológicas a dermatite infecciosa, uma das manifestações cutâneas mais comuns entre crianças infectadas pelo HTLV-1, a ictiose adquirida e a xerose cutânea. Também, doenças secundárias e alterações histopatológicas podem estar associadas (LaGRENADÉ *et al.*, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 2004).

Atualmente, grande quantidade de trabalhos publicados na literatura aborda as manifestações cutâneas associadas apenas em seus aspectos histopatológicos, laboratoriais e clínico-epidemiológicos, pouco tendo se proposto sobre os mecanismos de patogênese que levam ao desenvolvimento e manutenção destas desordens clínicas. Estes estudos têm abordado em sua maioria, principalmente aspectos relacionados à dermatite infecciosa. Contudo, em relação aos outros complexos clínicos dermatológicos associados ao HTLV-1, sobretudo aqueles de ocorrência em transmissões intrafamiliares, existem escassas informações. Adicionalmente, pouca importância tem sido dispensada ao estudo do perfil imunológico de indivíduos com doenças dermatológicas associadas ao HTLV-1 e o seu padrão de resposta imune a componentes estruturais do vírus e sua relação com a produção de mediadores inflamatórios, diferentemente do que acontece na mielopatia e ATLL (LaGRENADÉ *et al.*, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 2004; MAHÉ *et al.*, 2005; BITTENCOURT *et al.*, 2006; BITTENCOURT *et al.*, 2009).

Embora tenha sido relatada uma importante migração celular, especialmente de células TCD8⁺ para a pele de pacientes infectados pelo HTLV-1, o tropismo cutâneo do HTLV é muito pouco estudado. Sobre este aspecto, há evidências de que citocinas produzidas por linfócitos infectados pelo HTLV-1 determinem alterações funcionais de células da pele, como, por exemplo, dos queratinócitos. Recentes trabalhos indicam importância das células TCD8⁺ no controle da infecção e da carga proviral tanto em indivíduos portadores assintomáticos quanto nos pacientes com HAM/TSP instalada (JACOBSON *et al.*, 1990; KOGA *et al.*, 2000; IGAKURA *et al.*, 2003; VINE *et al.*, 2004).

O Grupo Interdisciplinar de Pesquisas em HTLV-1/2 (GIPH) tem estudado uma coorte aberta de candidatos à doação de sangue na Fundação HEMOMINAS. Neste grupo de pesquisa, indivíduos soropositivos para o HTLV-1/2 são monitorados, desde o ano de 1997, pela fundação HEMOMINAS e pela Rede Sarah de Hospitais de Reabilitação. As pesquisas em

dermatoses associadas ao HTLV-1 foram iniciadas por este grupo ainda na década de 1990 quando das publicações de Gonçalves e colaboradores em 1999, 2000 e 2003. Dentre os sujeitos avaliados neste período, um agrupamento familiar de 30 indivíduos (15 soropositivos) dispostos em três gerações de uma família, foi identificado por Nobre no ano de 2001. Os indivíduos deste agrupamento apresentam de forma peculiar, alta prevalência de soropositividade ao HTLV-1 e alta incidência de doenças dermatológicas nas gerações estudadas, compreendendo 50% dos indivíduos. Três membros desta família evoluíram para o polo degenerativo HAM/TSP. Diversos membros da família, incluindo aqueles soronegativos, apresentavam várias manifestações dermatológicas. Dentre os 15 pacientes soropositivos para o HTLV-1 pode-se identificar dermite crônica (3), xerose (4), Ictiose adquirida (5), nevo epidérmico (1), incontinência pigmentar (1), intertrigo (1), exostose subungueal (1) e infecções dermatológicas como impetigo (1), acne rosácea e acne juvenil (2), *Tinea* sp. (4), cicatriz de *Herpes zoster* (2), dentre outros (GONÇALVES *et al.*, 2003; NOBRE, 2004).

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo verificar o perfil imunológico de membros desta família, que mostra uma alta prevalência de indivíduos infectados pelo HTLV-1 e alta incidência de acometimento dermatológico. Buscou-se entender o padrão de resposta imune nos indivíduos desta família, avaliando-se a reatividade sérica às proteínas virais e se há diferença entre este padrão e o de indivíduos infectados pelo HTLV-1 e não pertencentes à família estudada (porém, também pertencentes à coorte GIPH). Analisou-se ainda a presença em soro/plasma de quimiocinas com o potencial de influenciar no epidermotropismo viral, além de receptores solúveis do TNF, devido à importância desta citocina na patogênese viral e uma neurotrofina (BDNF) foi testada dada a importância do pólo desmielinizante na infecção pelo HTLV-1 e à presença de 03 indivíduos com HAM/TSP nesta família.

3. OBJETIVOS

3.1 *Objetivo Geral*

Avaliar o perfil imunológico de indivíduos de um agrupamento familiar com alta prevalência da infecção pelo HTLV-1 bem como com predominância de doenças dermatológicas.

3.2. *Objetivos Específicos*

Avaliar em soro de indivíduos do agrupamento familiar, comparativamente à soros da coorte GIPH:

3.2.1. Perfil de reatividade de IgG anti-antígenos do HTLV-1 por ensaios de Imunoblot;

3.2.2. Pesquisa dos níveis séricos de moléculas marcadoras de migração e ativação celular CXCL9/Mig, CXCL10/IP-10, CCL5/RANTES, CCL11/Eotaxina-1, CCL24/Eotaxina-2, CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α e CXCL8/IL-8, por ensaios de ELISA.

3.2.3. Pesquisa de TNF, por intermédio dos níveis séricos de seus receptores solúveis: sTNFr1/CD120a e sTNFr2/CD120b, por ensaios de ELISA.

3.2.4. Pesquisa dos níveis séricos da neurotrofina BDNF por ensaio de ELISA;

3.2.5. Reatividade anti-Tax em soro, utilizando um ensaio de ELISA *in house*, verificando se há correlação com os parâmetros avaliados acima e com a clínica dermatológica apresentada.

4. METODOLOGIA

4.1. Indivíduos da Coorte

Para este estudo foram utilizadas amostras plasma ou sangue do sangue periférico de indivíduos infectados pelo HTLV-I. Estes indivíduos foram previamente submetidos à avaliação clínico-laboratorial na Fundação HEMOMINAS e no Hospital Sarah Kubitschek de Minas Gerais/Associação das Pioneiras Sociais. Todos os sujeitos incluídos nesta investigação deram seu consentimento, sendo o estudo aprovado pelos comitês de ética em pesquisa com seres humanos da fundação HEMOMINAS e da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG.

4.2. Critérios de Inclusão

Os indivíduos triados são avaliados sorologicamente para determinação da presença de anticorpos antiantígenos dos Vírus da Hepatite B e C, HIV, Sífilis, doença de Chagas e do HTLV-1/2, através de diferentes metodologias. Os candidatos à doação de sangue que apresentaram sorologia negativa para os patógenos citados acima, valores normais de hemoglobina e hematócrito e aprovação da análise clínica, foram considerados aptos à doação de sangue e constituíram-se como controle não infectado (sorologia negativa) desta pesquisa. Os indivíduos com sorologia positiva no teste ELISA para o HTLV-1 foram reavaliados sorologicamente com o uso da técnica *Western Blotting*, onde de acordo com o perfil de bandas se obteve resultado negativo, positivo ou indeterminado. Os indivíduos com resultado de *Western Blotting* positivo foram examinados por diversos profissionais especializados nas mais diversas áreas para a determinação de sinais ou sintomas clínicos.

Os indivíduos assintomáticos não apresentaram queixas clínicas e, de acordo com critérios da “*Impairment Scale*” e da *American Spinal Injury Association* (ASIA, 2008) apresentaram funções normais em nível sensório-motor. Os indivíduos que apresentaram sinais ou sintomas foram avaliados por uma equipe. Para tanto, um ou mais dos sintomas abaixo foi utilizado como critério para classificação destes pacientes em um grupo de pacientes denominados oligossintomáticos. Ressalta-se que estes sintomas não são suficientes, de acordo com os critérios ASIA, para se incluir tais indivíduos no grupo com HAM/TSP:

- I. Distúrbio urinário, constipação intestinal, impotência ou diminuição da libido;
- II. Lombalgia, câibras nos membros inferiores;
- III. Fraqueza dos membros inferiores de localização usualmente proximal;
- IV. Hiperreflexia patelar, hiperreflexia em membros superiores;
- V. Hiporreflexia aquileana;
- VI. Marcha espástica;
- VII. Estrongiloidíase;
- VIII. Dermatite crônica, ictiose;
- IX. Uveíte intermediária;
- X. Presença de *Flower cells* no sangue periférico.

Como sujeitos definitivamente classificados como sintomáticos, foram estudados os pacientes do Hospital Sarah Kubistchek. Esses pacientes, que preenchiam os critérios para HAM/TSP, foram submetidos a análises sorológicas (ELISA e *Western Blotting*) para a determinação da presença de anticorpos anti-antígenos do HTLV-1. Testes de capacidade motora e sensitiva, assim como testes para localização do nível e grau de lesão neurológica na medula espinal, foram realizados com o objetivo de medir o grau de comprometimento neurológico desses pacientes. Esses indivíduos, avaliados pelo Dr. João Gabriel Ribas, integrante do GIPH, foram classificados segundo a escala ASIA (grupos A, B, C ou D). Indivíduos neste grupo integraram o grupo HAM/TSP (HT).

4.3. Amostras dos Indivíduos do Agrupamento Familiar

As amostras de soro e plasma dos membros do agrupamento familiar com sorologia positiva ou negativa para o HTLV-1 foram obtidas durante o desenvolvimento da tese de Nobre (2006), e estocadas no banco de soros do Setor de Pesquisa da Fundação HEMOMINAS em freezer a -70°C. Alíquotas destas amostras foram separadas para a constituição do presente estudo, sendo 13 obtidas de pacientes não-infectados e 16 de pacientes infectados. Dentre os 30 indivíduos com sorologia conhecida, 15 (50%) se encontram infectados pelo HTLV-1 (ELISA e WB), conforme heredograma apresentado na figura 9. O agrupamento familiar em questão apresenta

de maneira peculiar uma alta incidência de acometimento dermatológico e alta prevalência para o vírus HTLV-1 nas 3 gerações estudadas.

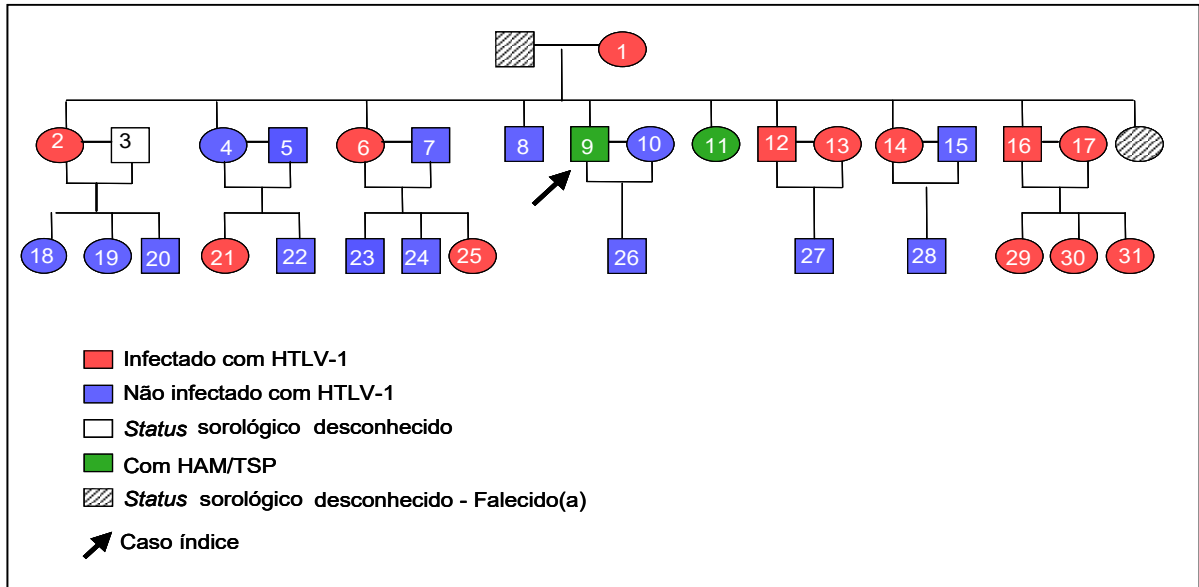


Figura 9 - Heredograma do Agrupamento Familiar estudado mostrando a distribuição dos 31 membros, distribuídos em três gerações. Os círculos representam o gênero feminino e os quadros representam o gênero masculino. A seta preenchida representa o paciente índice. As figuras em vermelho de ambos os gêneros são representativas de indivíduos soropositivos e as figuras na cor azul representativas para indivíduos soronegativos para o HTLV-1. Em verde, estão representados os pacientes que desenvolveram HAM/TSP. As formas hachuradas representam indivíduos já falecidos, que não fizeram parte do estudo. A numeração representa a ordem da coleta de dados quando da descrição da família Nobre *et al.*, 2006.

O caso índice apresentado foi avaliado pelo Dr. João Gabriel Ribas (Hospital Sarah Kubtischek) e a família foi avaliada clinicamente, pelo Dr. Vandack Nobre e sua equipe (Faculdade de Medicina da UFMG), durante a sua tese de doutorado, da qual esta família foi objeto de pesquisa. Os dados clínicos, sorológicos e anatomopatológicos dos pacientes encontram-se resumidos no quadro 2.

Quadro 2 - Achados clínicos, sorológicos e anatomopatológicos dos membros do Agrupamento familiar.

Nº	Paciente	Parentesco caso índice	Sexo	Idade	HTLV-1	Dermatológico	Micológico	Anatomopatológico
1	MSFP	Mãe	F	66	+	xerose, exostose subungueal	NSA	Dermite crônica
2	JFPA	Irmã	F	49	+	Xerose	NSA	Pele normal
3	JA	Cunhado	M	59	NA	NSA	NSA	Não realizado
4	CPSB	Irmã	F	46	-	Hiperkeratose plantar, climatério	NSA	Pele normal
5	OSB	Cunhado	M	59	-	acne conglobata, onicomicose, <i>Tinea pedis</i>	Positivo (unha e pé)	Tampões córneos foliculares
6	LFPS	Irmã	F	42	+	Cicatriz herpes zoster, intertrigo interdigital, <i>Tinea pedis</i>	Negativo (planta pé) e positivo para <i>Cândida</i> interdigital	amostra insuficiente
7	JFS	Cunhado	M	50	-	<i>Tinea interdigitalis</i>	Positivo	Pele normal
8	AFP	Irmão	M	40	-	NDN	NSA	Não realizado
9	IFP	Índice	M	34	+	Onicomicose, xerose, <i>Tinea cruris</i>	Negativo (unha e nádegas)	Não realizado
10	RACO	Esposa	F	31	-	Escabiose	NSA	Pele normal
11	RFP	Irmã	F	31	+	ictiose, cicatriz herpes zoster, nevo epidérmico	NSA	1 - Pele Normal (interescapulo-vertebral) 2 - ictiose na perna
12	AFP	Irmão	M	27	+	<i>Tinea interdigitalis</i>	Positivo	Não realizado
13	SRGS	Cunhada	F	29	+	NDN	NSA	Não realizado
14	EFPS	Irmã	F	24	+	NDN	NSA	Dermite crônica
15	GSS	Cunhado	M	29	-	<i>Tricomiose axilar</i>	Positivo	Pele normal

16	IFP	Irmão	M	37	+	Ictiose, impetigo, escabiose, <i>Tinea manus</i> , dermatite seborréica	Positivo	1-Pele Normal (interescapulo-vertebral) 2-Quadro compatível com ictiose na perna
17	MJSG	Cunhada	F	38	+	acne rosácea, escabiose	NSA	Dermite crônica
18	KAP	Sobrinha	F	27	-	pápulas neuróticas	NSA	Pele normal
19	AKA	Sobrinha	F	31	-	NDN	NSA	Pele normal
20	SPA	Sobrinho	M	29	-	<i>Tinea interdigitalis</i>	Positivo	Pele normal
21	NSSB	Sobrinho	F	14	-	Acne juvenil	NSA	Pele normal
22	VGF	Sobrinha	M	24	-	NDN	NSA	Não realizado
23	VFS	Sobrinho	M	24	-	<i>Tinea interdigitalis</i>	Positivo	Pele normal
24	EPS	Sobrinho	M	22	-	Ptiríase versicolor	NSA	Dermite crônica
25	DFS	Sobrinha	F	17	+	NDN	NSA	Incontinência pigmentar na derme superior
26	FFP	Filho	M	8	-	NDN	NSA	Pele normal
27	AJSP	Sobrinho	M	4	-	NDN	NSA	Não realizado
28	SFS	Sobrinho	M	6	-	NDN	NSA	Pele normal
29	KSP	Sobrinha	F	12	+	Xerose	NSA	Pele normal
30	AFS	Sobrinha	F	9	+	Ictiose	NSA	Pele normal
31	JMF	Sobrinha	F	3	+	NDN	NSA	Pele normal

NA – Não analisado; NSA – Não se aplica; (+) - sorologia positiva para HTLV-1; (-) – sorologia negativa para HTLV-1; NDN – nada digno de nota. Parentesco em relação ao paciente índice. O número do paciente refere-se ao exemplificado no heredograma. JA (3) não foi incluído no estudo.

4.4. Coleta do Material Biológico

A coleta do sangue foi feita por profissionais treinados e capacitados do laboratório de hematologia da Fundação HEMOMINAS e do hospital Sarah Kubitschek, após requisição médica específica, em tubos *vacutainer* de 5,0 ml com EDTA. Após a coleta, foi feito encaminhamento para o Laboratório de Pesquisa da Fundação HEMOMINAS, onde se procedeu a separação de PBMC.

4.5. Reatividade de IgG a proteínas específicas do HTLV-1 pelo teste de Imunoblot (Kit HTLV Blot 2.4 MP *Diagnostics, Genelabs Diagnostics*)

4.5.1. Preparo de reagentes e soluções de uso

Seguindo-se as instruções do fabricante, a solução tampão de lavagem concentrada foi diluída na proporção de 1:20 em água destilada. Para o tampão de *blotting*, cada frasco do tampão liofilizado contido no *kit* foi reconstituído em 100 ml de água destilada. A solução conjugada de trabalho, do mesmo modo, foi diluída na proporção de 1:1000 em solução tampão para *blotting*.

4.5.2. Imunoblot

As fitas de nitrocelulose foram cuidadosamente retiradas em número suficiente para a análise do grupo estudado: grupo familiar infectado, com e sem doenças dermatológicas (15), grupo familiar não infectado (13), pacientes HAM/TSP (5) e portadores assintomáticos do HTLV-1 (5). A cada poço contendo uma fita de nitrocelulose foi adicionado 2,0 ml de solução tampão de lavagem diluído que foram incubadas por 5 minutos à temperatura ambiente sobre plataforma oscilante (8 a 14 oscilações/min).

Após o término do tempo a solução-tampão foi removida por aspiração. Foram então adicionados 2,0 ml de solução tampão para *blotting* e em seguida 20 µl de soro dos indivíduos

alocados no estudo. Durante 1(uma) hora a bandeja contendo a solução para *blotting* e o soro dos indivíduos foram submetidos à oscilação em plataforma oscilante.

Após este período a mistura soro/tampão foi retirada por aspiração e as fitas lavadas 3 (três) vezes com 2,0 ml de solução tampão de lavagem diluída, ficando imersas por 5 minutos a cada ciclo de lavagem. Após as lavagens 2,0 ml de solução de conjugado de trabalho foram adicionados a cada poço e a mistura incubada por 1 hora à temperatura ambiente e depois submetidas a outro ciclo de lavagem como supracitado. Às fitas lavadas foram adicionados 2,0 ml de solução de substrato a cada poço e incubadas por 15 minutos. Finalmente, as fitas foram lavadas com 20 ml de água destilada para interromper a reação, sendo cada fita coberta com papel absorvente para secagem. As fitas contendo as bandas representativas da reatividade viral de cada soro de indivíduos positivo foram selecionadas e submetidas à análise densitométrica, utilizando-se o programa ImageMaster VDS software (Pharmacia Biotech). Os resultados foram expressos em unidades arbitrárias e submetidos à análise estatística.

4.6. Quantificação dos níveis séricos de quimiocinas, receptores de TNF e da Neurotrofina BDNF por ensaios de ELISA.

As concentrações de quimiocinas, receptores de citocinas e fator neurotrófico derivado do cérebro foram medidas por ensaios de ELISA, realizados com *Kits* comerciais para BDNF, CCL11/Eotaxina, CCL24/Eotaxina-2, CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α (DuoSet R&D Systems, Minneapolis, MN, USA), CXCL-10/IP10, CXCL8/IL8 e CXCL9/Mig (PharMingen, San Diego, CA, USA) e para os receptores sTNFr1/CD120a e sTNFr2/CD120b (DuoSet; R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). As amostras foram testadas em duplicata e na mesma placa.

Primeiramente, adicionou-se a cada poço da placa, o anticorpo de captura em concentração fornecida pelo fabricante diluído em tampão fosfato (PBS). A placa foi incubada a 4°C por uma noite. No dia seguinte, após a lavagem com tween 20 (Sigma[®]) a 0,05% em PBS, a placa foi bloqueada em solução de albumina sérica bovina a 1% em PBS por uma hora à temperatura ambiente. Após a lavagem, foram adicionados as amostras e os padrões, sendo a placa novamente incubada por uma noite à 4°C. No terceiro dia, após lavagem, a placa foi incubada com anticorpo biotinilado em concentração fornecida pelo fabricante por duas horas em

temperatura ambiente. Após a lavagem foi adicionada estreptavidina conjugada com peroxidase, sendo a placa novamente incubada por mais 30 minutos. Após a incubação, adicionou-se à placa, o-fenilenodiamina, tendo-se o cuidado para que a reação a partir deste ponto ocorresse no escuro por 15 minutos. A placa foi lida em espectrofotômetro (Emax[®], Molecular Devices, MN, EUA) com comprimento de onda de 492nm.

4.7. Verificação da reatividade sérica anti-Tax dos indivíduos do Agrupamento Familiar por ensaios de ELISA in house.

O ensaio de ELISA objetivou diferenciar dentre os indivíduos infectados pelo HTLV-1, a reatividade de anticorpos anti-Tax produzidos pelos indivíduos assintomáticos da coorte GIPH e indivíduos do agrupamento familiar. Assim, foram utilizados 13 soro/plasma de indivíduos não-infectados e 45 soros/plasmas de indivíduos infectados pelo HTLV-1, sendo 20 soros de indivíduos assintomáticos e 25 soros de pacientes com HAM/TSP da coorte GIPH. Do agrupamento familiar foram utilizados 15 soro/plasma de indivíduos soronegativos e 14 soro/plasma de indivíduos infectados pelo HTLV-1.

A proteína recombinante utilizada constituiu-se da porção C-terminal de Tax-1, clonada à partir das células MT2 e expressada em vetor procarioto (RecTax). Esta proteína recombinante foi desenvolvida e padronizada durante o mestrado de Martins, 2008 (MARTINS, 2008). O ELISA foi realizado conforme Martins, 2008, brevemente: a placa foi sensibilizada com 250ng de RecTax/poço em tampão carbonato/bicarbonato pH 9,6 por uma noite, seguida do bloqueio com soro fetal bovino a 3% por 4h à temperatura ambiente. Os soros/plasmas testados foram diluídos 1:200 em solução de lavagem e o anticorpo secundário (anti-IgG humano marcado com peroxidase - PROMEGA) foi utilizado na diluição 1:50.000 e a reação foi revelada com fosfatase alcalina (SIGMA-ALDRICH). À placa foram acrescentados controle de conjugado e bloqueio, os quais tiveram o seu valor subtraído dos valores de absorbância obtidos dos soros triados. A leitura foi realizada a 405nm em espectrofotômetro (ASYS).

4.8. Análise Estatística

Os dados estatísticos foram obtidos por ANOVA (análise de variância) [Graphpad Prisma, version 5.00 (Trial)] para os dados paramétricos (Teste de Tukey), comparando-se os diversos grupos estudados, e Teste *t* não-pareado quando foram comparados dois grupos distintos. Para os dados não paramétricos foram utilizados os testes de *Kruskal-Wallis* para três ou mais grupos e o teste de *Mann-Whitney* para comparação entre dois grupos distintos. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Para tais análises foram consideradas comparações entre os grupos de pacientes com reatividade às diversas moléculas investigadas. Assim, cada resultado foi analisado por comparação entre (1) os membros do agrupamento familiar e aqueles pacientes portadores assintomáticos; (2) entre os membros do agrupamento familiar e aqueles pacientes com HAM/TSP instalada; (3) entre membros do grupo familiar, infectados e não infectados; (4) entre os membros agrupamento familiar e aqueles portadores de HAM/TSP, assintomáticos e oligossintomáticos não-pertencentes à família estudada, mas pertencentes à coorte GIPH.

5. RESULTADOS

5.1. Avaliação da reatividade de IgG anti-HTLV-1 dos pacientes pertencentes ao agrupamento familiar por ensaio de Western blot (kit HTLV blot 2.4® MP Diagnostics, Genelabs, Singapore).

Para o ensaio de *Imunoblot* foram utilizadas, amostras de 15 indivíduos do agrupamento familiar, infectados pelo HTLV-1 e 10 amostras de indivíduos da coorte GIPH, infectados pelo HTLV-1, sendo cinco portadores assintomáticos e cinco pacientes HAM/TSP. Estes foram alocados em três grupos: Agrupamento familiar (AgF), portadores assintomáticos (AS) e HAM/TSP (HT). As amostras foram analisadas para sua reatividade às proteínas especificadas pelo fabricante do *kit HTLV blot 2.4® MP Diagnostics, Genelabs, Singapore*. Posteriormente, os resultados das reatividades obtidas foram divididos entre os grupos de proteínas: Env e Gag, sendo os resultados expressos em unidades arbitrárias de densidade óptica (D.O.), após a análise

densitométrica, utilizando-se o programa ImageMaster VDS software (Pharmacia Biotech). A figura 10 mostra os resultados do Imunoblot.

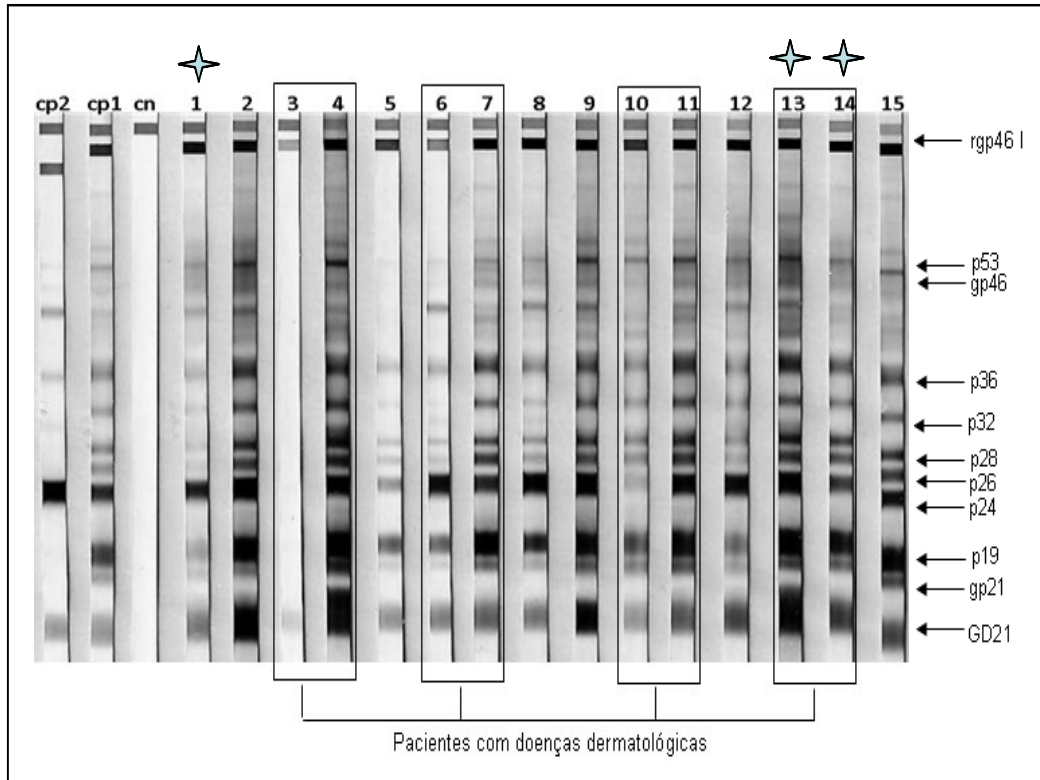


Figura 10 - Ensaio de *Imunoblot* para as diversas proteínas do HTLV-1 em 15 indivíduos soropositivos do Agrupamento Familiar. As fitas destacadas pelas estrelas representam os pacientes com doenças dermatológicas. À esquerda, as proteínas do HTLV-1 avaliadas no estudo. Cp1: controle positivo para HTLV-1; cp2: controle positivo para HTLV-2; cn: controle negativo. Os símbolos em estrela representam os pacientes HAM/TSP. Esta figura é representativa dos ensaios realizados, sendo que AS e HAM/TSP da coorte GIPH foram também avaliados neste ensaio.

5.1.1. Reatividade sérica dos grupos clínicos AgF, AS e HT às proteínas Env (gp46, gp21 e GD21).

Na avaliação da proteína gp46 foi observada diferença estatisticamente significativa ($p=0,0117$) entre a reatividade apresentada pelos indivíduos do grupo AS quando comparada aos do agrupamento familiar. Não foi observada diferença estatística entre os grupos clínicos AgF e HT ou entre AS e HT, sendo a mediana de reatividade deste grupo ligeiramente mais elevada, porém, similar à mediana do grupo AgF (figura 11 A). Na análise das demais proteínas do envelope viral (gp21 e GD21) não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as médias de reatividade sérica nos grupos clínicos estudados. Para ambas as proteínas se observou uma mediana de reatividade mais baixa nos indivíduos do grupo HT (figura 11B). Em

relação à proteína truncada GD21 as reatividades séricas dos grupos clínicos foi mais intensa em todos os grupos clínicos, não havendo diferença estatisticamente significativa. Houve também, similaridade nas respostas observadas grupos AS e AgF. (figura 11C).

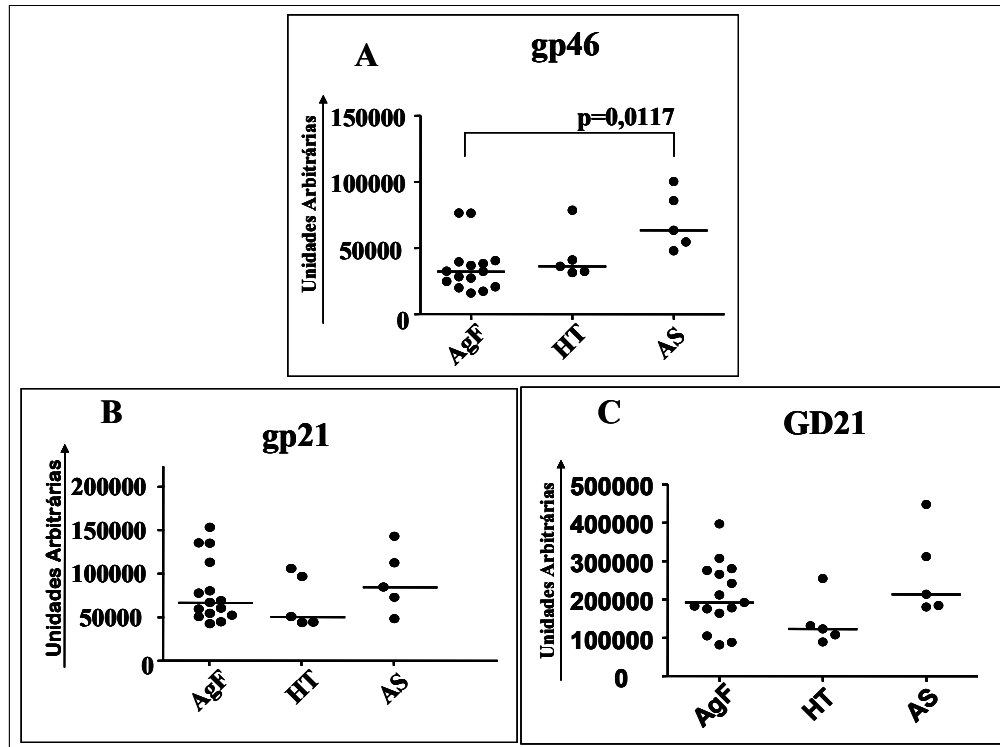


Figura 11 - Análise densitométrica da reatividade sérica às proteínas Env: **gp46 (A)**; **gp21 (B)** e **GD21 (C)** em indivíduos do Agrupamento Familiar e indivíduos infectados alocados na coorte GIPH. AS: portadores assintomáticos; HT: pacientes HAM/TSP; AgF indivíduos do Agrupamento Familiar. Resultados em Unidades Arbitrárias de Densidade Óptica (D.O.) *Kruskal-Wallis* foi utilizado para análise estatística.

5.1.2. Reatividade sérica dos grupos clínicos AgF, AS e HT às proteínas Gag.

Os indivíduos do agrupamento familiar mostraram as medianas mais baixas de reatividade às proteínas estruturais p53 e p19; somente para p24 o grupo HT mostrou reatividade mais baixa. Porém, tanto para p19 quanto para p24 alguns indivíduos do AgF mostram valores bem elevados. A figura 12 mostra que a reatividade à p53 foi mais elevada em portadores assintomáticos ($p=0,0008$) em relação aos indivíduos do agrupamento familiar. Não foi observada diferença estatística significativa para a reatividade à p53 entre os grupos AS e HT (figura 12A).

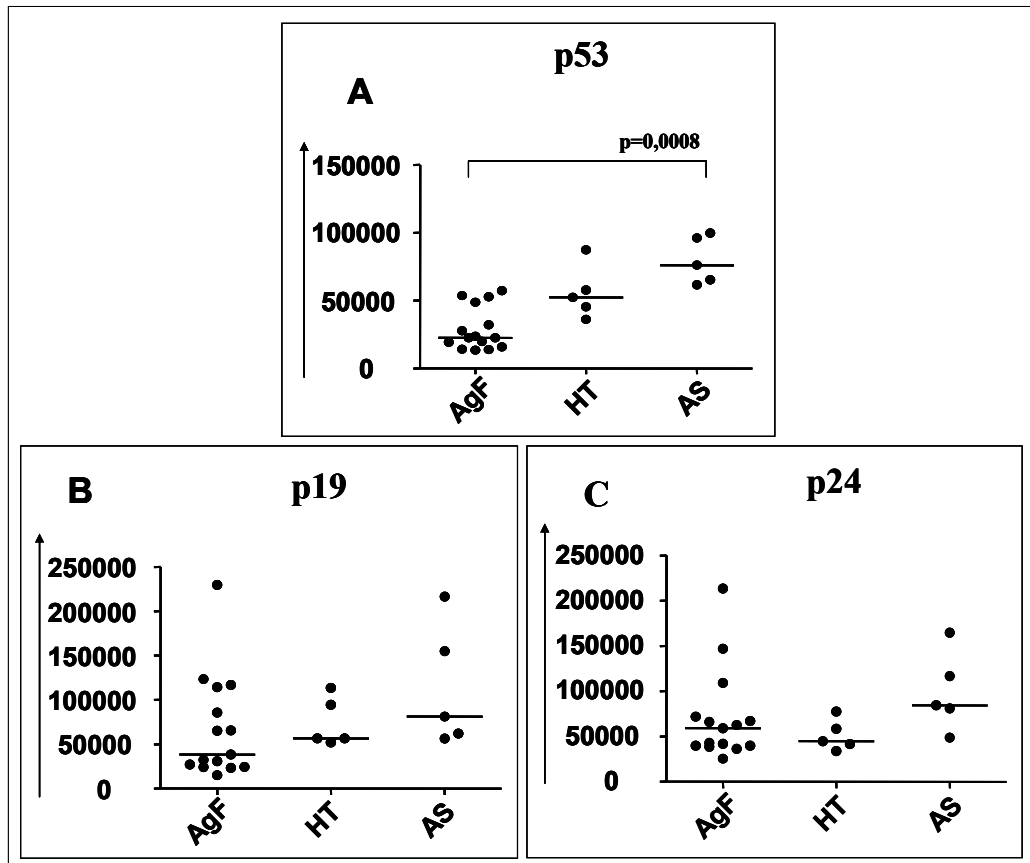


Figura 12 - Avaliação da análise densitométrica da reatividade sérica às proteínas Gag: **p53 (A)**; **p19 (B)** e **p24 (C)** em indivíduos do Agrupamento Familiar e indivíduos infectados alocados na coorte GIPH. AS: portadores assintomáticos; HT: pacientes HAM/TSP; AgF indivíduos do Agrupamento Familiar. Resultados em Unidades Arbitrárias de Densidade óptica (D.O.). O teste de *Kruskal-Wallis* foi utilizado para análise estatística.

5.2. Reatividade de IgG anti-Tax em indivíduos do agrupamento familiar e da coorte GIPH.

A reatividade anti-Tax de HTLV-1 foi realizada em um ELISA *in house* utilizando a porção C-terminal de Tax expressada em procaríoto. Esta testagem foi realizada em soro/plasma de indivíduos do Agrupamento Familiar (14 amostras de indivíduos infectados pelo HTLV-1 e 15 amostras de indivíduos soronegativos) e em outros indivíduos da coorte GIPH não pertencentes ao núcleo familiar, sendo 13 indivíduos sorologicamente negativos, 20 portadores assintomáticos e 25 pacientes HAM/TSP. Estes foram alocados em três grupos: Agrupamento familiar (AgF), portadores assintomáticos (AS) e HAM/TSP (HT). Os resultados apresentados foram gerados após ter sido descontado o valor médio dos controles de bloqueio e de conjugado e como ponto de corte, a média da reatividade (*back ground*) dos indivíduos negativos foi utilizada.

A Figura 13 mostra o resultado do ELISA indireto para a detecção de anticorpos anti-Tax. Foi observada diferença estatisticamente significativa na reatividade anti-Tax entre o grupo AS e os grupos AgF e HAM/TSP. Também foi observada média semelhante de reatividade de IgG anti-Tax nos grupos HT e AgF.

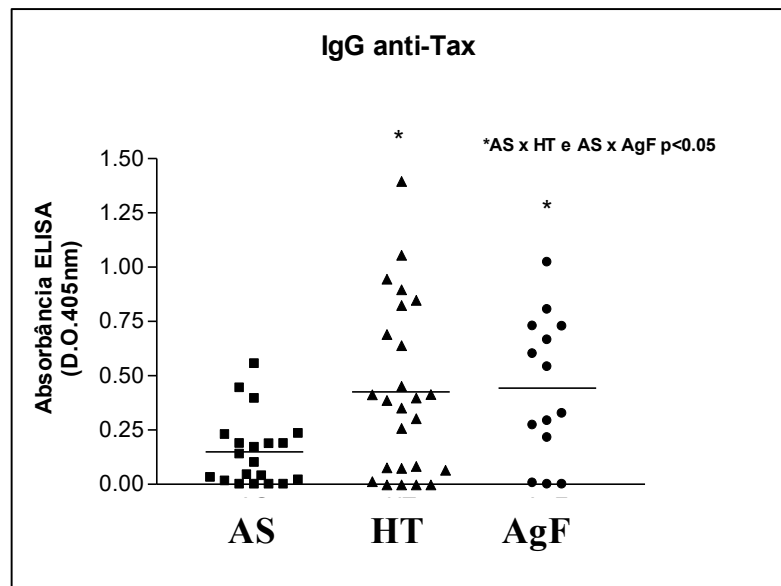


Figura 13 - Reatividade IgG anti-Tax em indivíduos infectados pelo HTLV-1 pertencentes ao agrupamento familiar (AgF) e em indivíduos da coorte GIPH: pacientes HAM/TSP (HT) e portadores assintomáticos (AS).

5.3. Quantificações dos níveis séricos de quimiocinas, receptores de TNF e da Neurotrofina BDNF por ensaio de ELISA.

Nesta avaliação, conforme descrito na metodologia, trabalhou-se com 14 indivíduos NI e 15 INF para o agrupamento familiar e nove (9) indivíduos AS, 17 OL, 12 HT e 12 NI na coorte GIPH, também utilizados nos grupos NI e INF da coorte GIPH.

5.4. Quimiocinas associadas à resposta do tipo Th₁

5.4.1. Avaliação dos níveis séricos de CXCL9/MIG em soros de indivíduos soronegativos e de soropositivos para o HTLV-1.

A figura 14 mostra a avaliação dos níveis da quimiocina CXCL9/Mig em soro de pacientes infectados e não infectados pelo HTLV-1. Nenhuma diferença estatística ($p < 0,05$) foi observada quando se comparou indivíduos Infectados (INF) e Não Infectados (NI) pertencentes ao agrupamento familiar (figura 14A).

A figura 14B mostra os níveis CXCL9/Mig para os INF e NI pertencentes à coorte GIPH, onde também não houve diferença estatisticamente significativa. Diferentemente, quando se compararam os diversos grupos clínicos da coorte GIPH (NI, AS, OL e HT), observou-se diferença estatística significativa entre os grupos NI e HT ($p < 0,01$) e entre o grupo HT e o grupo OL ($p < 0,001$). (figura 14C).

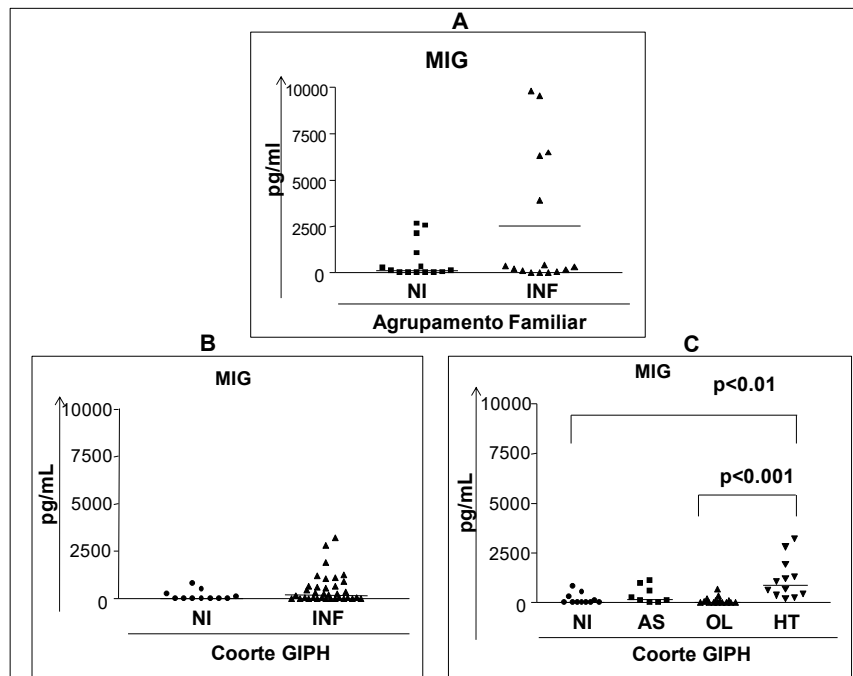


Figura 14 - Avaliação dos níveis séricos de CXCL9/Mig em indivíduos do Agrupamento familiar (A); Avaliação dos níveis séricos de CXCL9/Mig indivíduos infectados e não infectados da coorte GIPH (B); Avaliação dos níveis séricos de CXCL9/Mig indivíduos nas diferentes formas clínicas alocados na coorte GIPH (C). NI: indivíduos soronegativos; INF: indivíduos soropositivos; AS: portadores assintomáticos do HTLV-1; OL: pacientes oligossintomáticos; HT: pacientes com HAM/TSP. *Kruskall-Wallis* e Teste *t* foram utilizados para as análises estatísticas.

5.4.2. Avaliação de CXCL10/IP-10 em soros de indivíduos soronegativos e de soropositivos para o HTLV-1.

Na avaliação dos níveis de CXCL10/IP-10 em indivíduos do agrupamento familiar (figura 15A), não foi observada diferença estatística entre os grupos analisados (figura 18A). Na figura 15B, não foi observada diferença estatística significativa entre os grupos avaliados (NI e INF) da coorte GIPH, ainda que observada uma tendência à maior concentração da quimiocina em INF. Na figura 15C, foram avaliados os níveis de CXCL10/IP10 nos grupos clínicos NI, AS, OL e HT da coorte GIPH, tendo sido observado diferença estatística significativa entre os grupos NI e HT ($p < 0.05$) e entre os grupos OL e HT ($p < 0.01$).

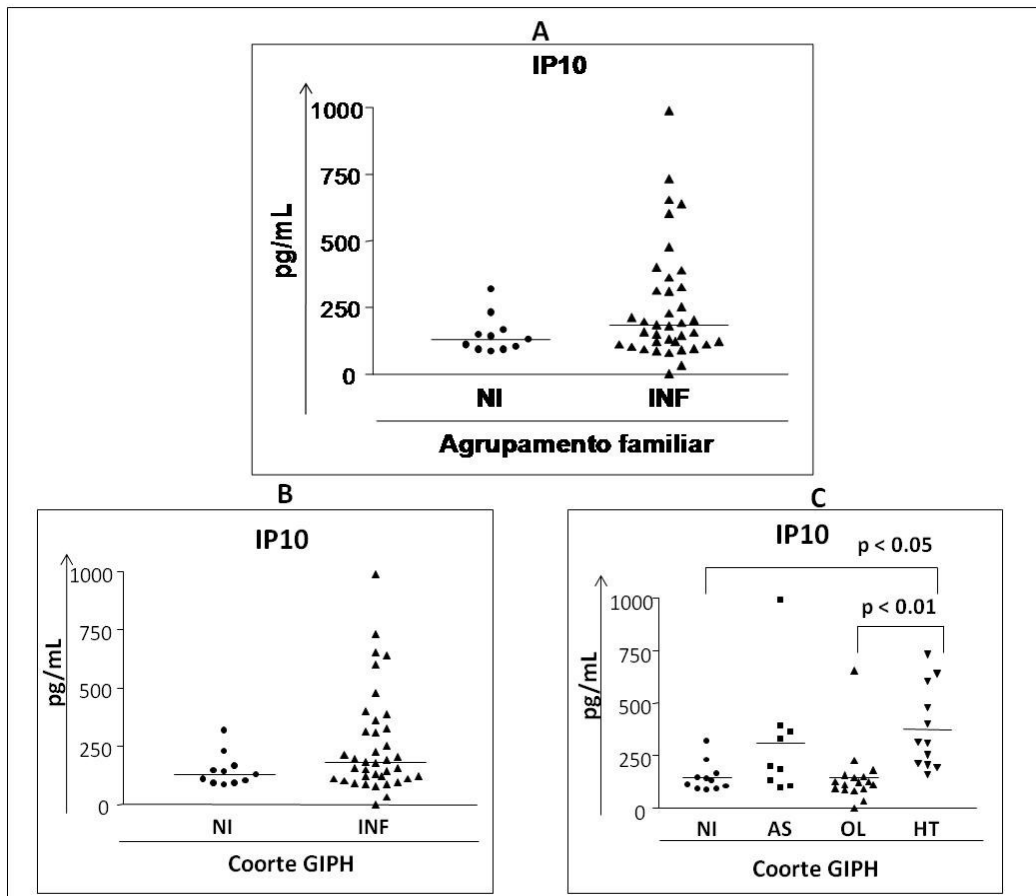


Figura 15 - Avaliação dos níveis séricos de CXCL10/IP-10 em indivíduos do Agrupamento familiar (A); Avaliação dos níveis séricos de CXCL10/IP-10 em indivíduos infectados e não infectados da coorte GIPH (B); Avaliação dos níveis séricos de CXCL10/IP-10 em indivíduos nas diferentes formas clínicas alocados na coorte GIPH (C). NI: indivíduos soronegativos; INF: indivíduos soropositivos; AS: portadores assintomáticos do HTLV-1; OL: pacientes oligossintomáticos; HT: pacientes com HAM/TSP. ANOVA e Teste *t* foram utilizados para as análises estatísticas.

5.4.3. Avaliação dos níveis séricos de CCL5/RANTES em soros de indivíduos soronegativos e de soropositivos para o HTLV-1.

A figura 16 mostra os níveis séricos da proteína RANTES avaliada em indivíduos de um agrupamento familiar (16 A) e em indivíduos da coorte GIPH (16B e 16C). Não foi observada diferença estatística significativa entre os grupos de indivíduos NI e INF do Agrupamento familiar (figura 16A). Em relação aos grupos NI e INF da coorte GIPH, foi observada diferença estatística significativa ($p < 0,0001$) (figura 16B). Na avaliação dos grupos clínicos da coorte GIPH, foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os grupos NI e HT ($p < 0,001$), entre NI e OL ($p < 0,001$) e entre AS e NI ($p < 0,01$) (figura 16C).

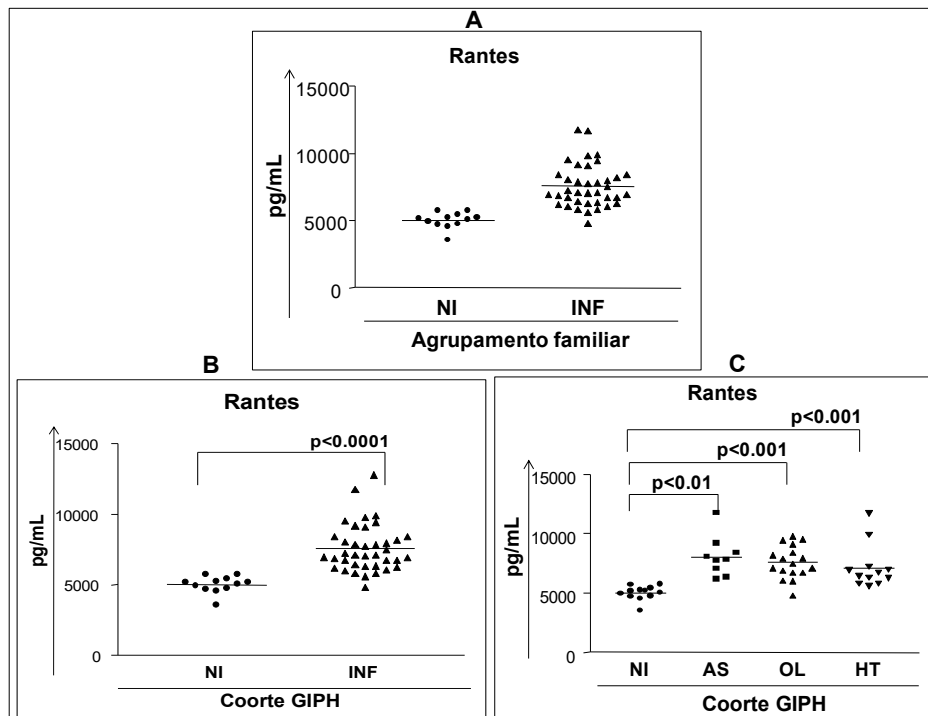


Figura 16 - Avaliação dos níveis séricos de CCL5/RANTES em indivíduos do Agrupamento familiar (A); Avaliação dos níveis séricos de CCL5/RANTES em indivíduos infectados e não infectados da coorte GIPH (B); Avaliação dos níveis séricos de CCL5/RANTES em indivíduos nas diferentes formas clínicas alocados na coorte GIPH (C). NI: indivíduos soronegativos; INF: indivíduos soropositivos; AS: portadores assintomáticos do HTLV-1; OL: pacientes oligossintomáticos; HT: HAM/TSP.

5.5. Quimiocinas Associadas à resposta do tipo Th2

5.5.1. Avaliação dos níveis séricos de CXCL8/IL-8 em soros de indivíduos soronegativos e de soropositivos para o HTLV-1.

Na figura 17A mostra os níveis séricos de CXCL8/IL-8 em indivíduos não infectados (NI) e indivíduos infectados pelo HTLV-1 (INF) do agrupamento familiar. A figura 17B mostra os níveis séricos de CXCL8/IL-8 em indivíduos não infectados (NI) e infectados pelo HTLV-1 (INF) da coorte GIPH. A figura 17C mostra os níveis séricos de CXCL8/IL-8 nos grupos de indivíduos NI, AS, OL e HT da coorte GIPH. Não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os grupos avaliados do agrupamento familiar bem como para os indivíduos da coorte GIPH.

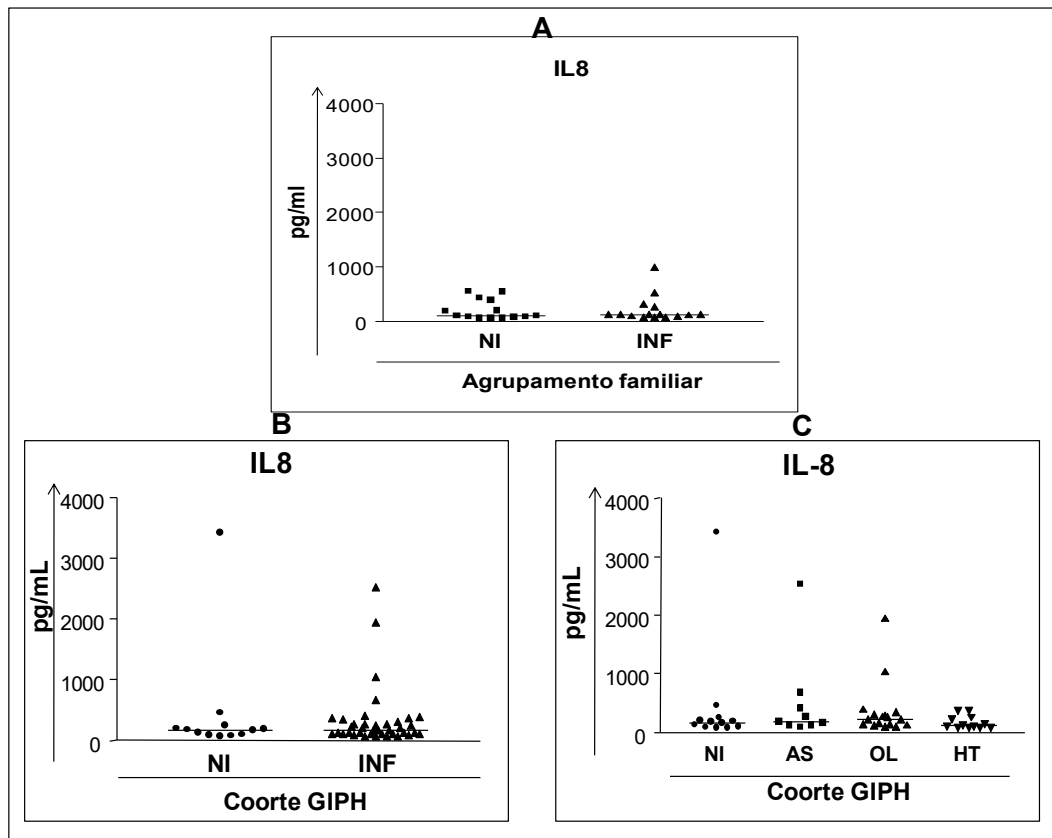


Figura 17 - Avaliação dos níveis séricos de CXCL8/IL-8 em indivíduos do Agrupamento familiar (A); Avaliação dos níveis séricos de CXCL8/IL-8 em indivíduos infectados e não infectados da coorte GIPH (B); Avaliação dos níveis séricos de CXCL8/IL-8 em indivíduos nas diferentes formas clínicas alocados na coorte GIPH (C). NI: indivíduos soronegativos; INF: indivíduos soropositivos; AS: portadores assintomáticos do HTLV-1; OL: pacientes oligossintomáticos; HT: pacientes com HAM/TSP. *Kruskall-Wallis* e *Mann-Whitney* foram utilizados para as análises estatísticas.

5.5.2. Avaliação dos níveis séricos de CCL3/MIP-1 α em soros de indivíduos soronegativos e de soropositivos para o HTLV-1.

A figura 18A mostra os níveis séricos de CCL3/MIP-1 α em indivíduos não infectados (NI) e indivíduos infectados pelo HTLV-1 (INF) do agrupamento familiar. A figura 18B mostra os níveis séricos de CCL3/MIP-1 α em indivíduos não infectados (NI) e infectados pelo HTLV-1 (INF) da coorte GIPH. A figura 18C mostra os níveis séricos de CCL3/MIP-1 α nos grupos de indivíduos NI, AS, OL e HT da coorte GIPH.

Não foram observadas diferenças estatísticas significativas para os níveis séricos de CCL3/MIP-1 α entre os indivíduos do agrupamento familiar (figura 18A) e entre os grupos NI, AS, OL e HT da coorte GIPH (figura 18C). Foi observada diferença estatística significativa entre os grupos NI e INF da coorte GIPH ($p < 0,01$), com um aumento de CCL3/MIP-1 α no grupo de indivíduos infectados pelo HTLV-1.

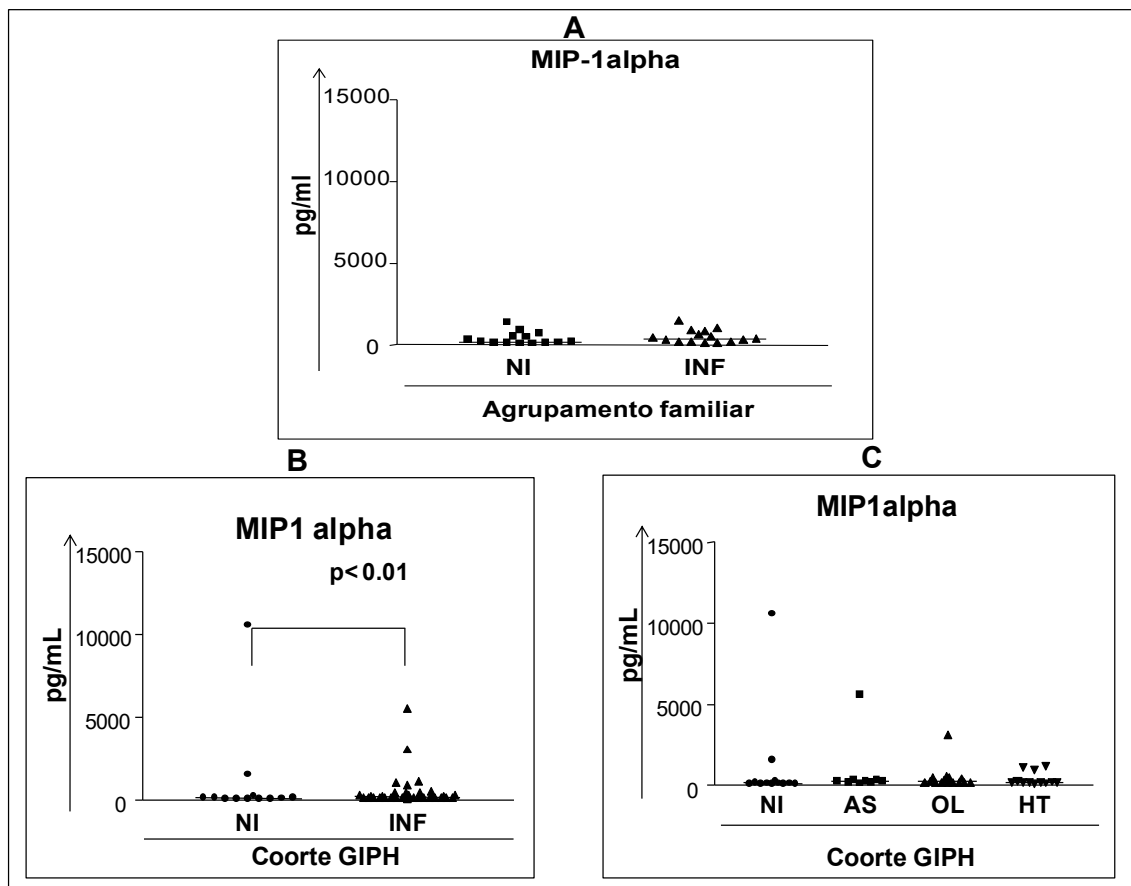


Figura 18 - Avaliação dos níveis séricos de CCL3/MIP-1 α em indivíduos do Agrupamento familiar (A); Avaliação dos níveis séricos de CCL3/MIP-1 α em indivíduos infectados e não infectados da coorte GIPH (B); Avaliação dos níveis séricos de CCL3/MIP-1 α em indivíduos nas diferentes formas clínicas alocados na coorte GIPH (C). NI: indivíduos soronegativos; INF: indivíduos soropositivos; AS: portadores assintomáticos do HTLV-1; OL: pacientes oligossintomáticos; HT: pacientes com HAM/TSP. *Kruskall-Wallis* e *Mann-Whitney* foram utilizados para as análises estatísticas.

5.5.3. Avaliação dos níveis séricos de CCL2/MCP-1 em soros de indivíduos soronegativos e de soropositivos para o HTLV-1.

A análise dos níveis séricos de CCL2/MCP-1 mostrou que a concentração desta quimiocina foi estatisticamente mais elevada nos indivíduos infectados em comparação com o grupo não infectado ($p=0,0432$) do agrupamento familiar (figura 19A). No entanto, não houve diferença estatística significativa quando os pacientes da coorte GIPH foram avaliados (figura 19B). Na análise dos diversos grupos clínicos, também não foi observado diferença estatisticamente significativa, mas pode-se observar maior média de CCL2/MCP-1 no grupo NI quando comparados ao grupo HT, AS e OL. Além disso, pode-se observar uma similaridade dos níveis de CCL2/MCP-1 nos grupos HT, AS e OL, com ligeira elevação no grupo AS e maior elevação nos NI (figura 19C).

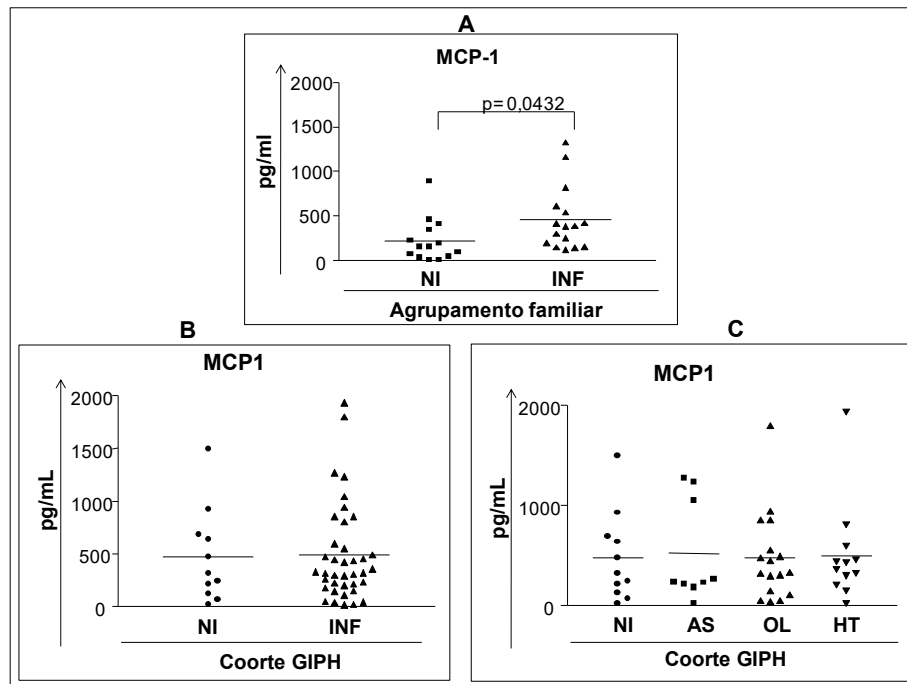


Figura 19 - Avaliação dos níveis séricos de CCL2/MCP-1 em indivíduos do Agrupamento familiar (A); Avaliação dos níveis séricos de CCL2/MCP-1 em indivíduos infectados e não infectados da coorte GIPH (B); Avaliação dos níveis séricos de CCL2/MCP-1 em indivíduos nas diferentes formas clínicas alocados na coorte GIPH (C). NI:

indivíduos soronegativos; INF: indivíduos soropositivos; AS: portadores assintomáticos do HTLV-1; OL: pacientes oligossintomáticos; HT: pacientes com HAM/TSP. *ANOVA* e *Teste t* foram utilizados para as análises estatísticas.

5.5.4. Avaliação dos níveis séricos de CCL11/Eotaxina-1 e CCL24/Eotaxina-2 em soros de indivíduos soronegativos e de soropositivos para o HTLV-1.

Os ligantes para o receptor CCR3 (CCL11 e CCL24) também foram avaliados. Os níveis séricos de CCL11/Eotaxina-1 foram significativamente mais elevados em indivíduos do grupo INF quando comparados aos do grupo NI no Agrupamento Familiar ($p=0,0422$) (figura 20A).

Na análise da CCL24/Eotaxina-2, não houve diferença estatística, mas um nível sérico ligeiramente mais elevado foi observado em relação à CCL11/Eotaxina-1 nos sujeitos do Agrupamento Familiar. Para esta proteína, as médias de CCL24/Eotaxina-2 no grupo NI foi maior que a do grupo INF no Agrupamento Familiar (figura 20D). A análise dos grupos NI e INF da coorte GIPH mostra similaridade nos níveis das duas quimiocinas para os dois grupos estudados, sendo a concentração de CCL11/Eotaxina-1 e CCL24/Eotaxina-2 ligeiramente mais elevados que no grupo INF (figura 20B e 20E).

Quando se comparam os grupos clínicos da coorte GIPH, observa-se similaridade nos níveis séricos das duas quimiocinas em todos os grupos. Contudo, observa-se que o nível de CCL11 e CCL24 no grupo HT é mais baixo que a média das concentrações em todos os grupos estudados (figura 20C e 20F). No caso da CCL24/Eotaxina-2, a concentração média de 83% dos pacientes do grupo HT encontra-se abaixo da média de todos os outros grupos, inclusive do grupo NI.

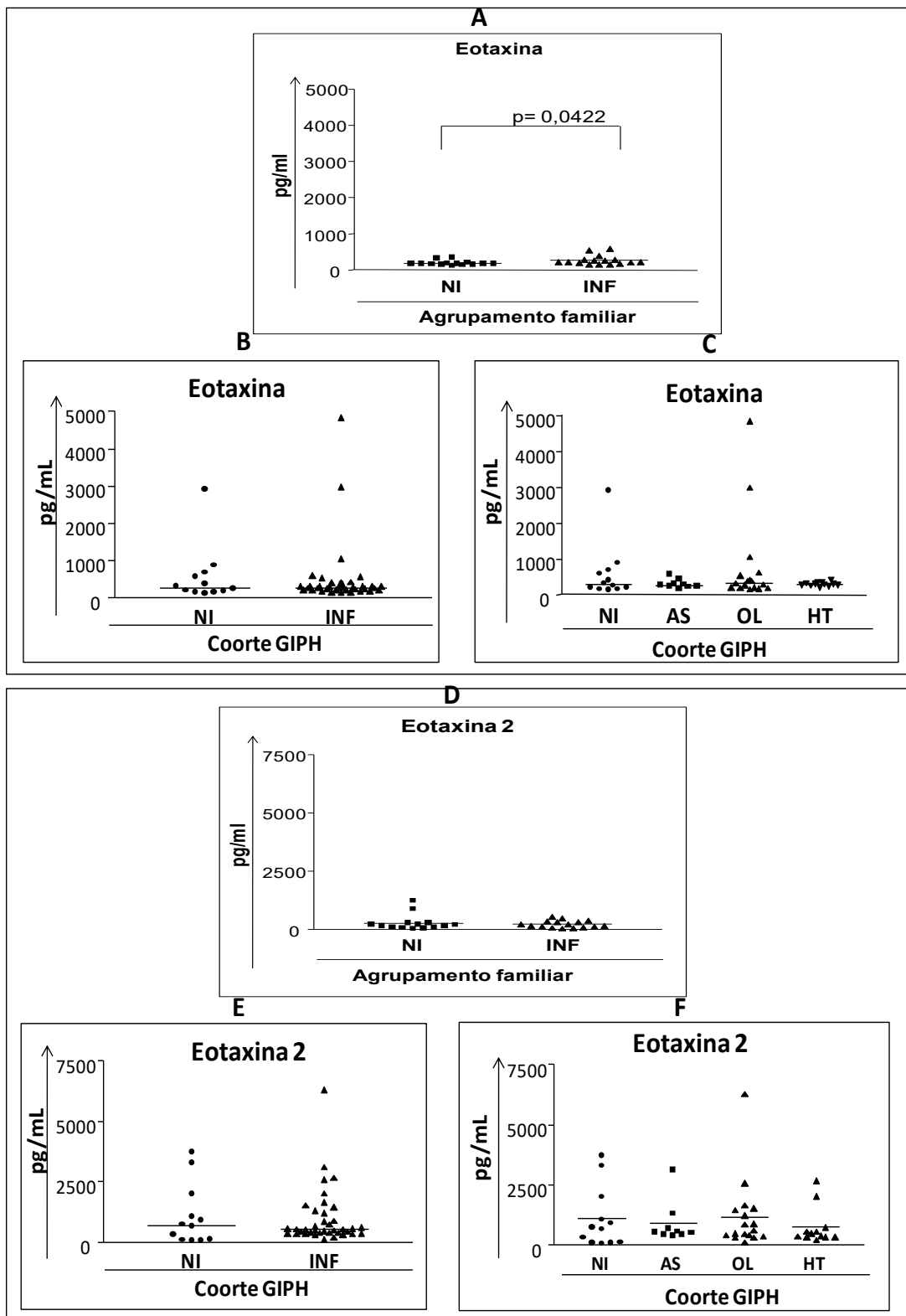


Figura 20 - Avaliação dos níveis séricos de CCL11/Eotaxina-1 em: em indivíduos do Agrupamento familiar (A); indivíduos infectados e não infectados da coorte GIPH (B); indivíduos nas diferentes formas clínicas alocados na coorte GIPH (C); e Avaliação dos níveis séricos de CCL24/Eotaxina-2 em: em indivíduos do Agrupamento familiar (D); indivíduos infectados e não infectados da coorte GIPH (E); indivíduos nas diferentes formas clínicas alocados na coorte GIPH (F). NI: indivíduos soronegativos; INF: indivíduos soropositivos; AS: portadores assintomáticos do HTLV-1; OL: pacientes oligossintomáticos; HT: pacientes com HAM/TSP. ANOVA, Kruskal-Wallis, Mann-Whitney e Teste *t* foram utilizados para as análises estatísticas.

5.5.5. Avaliação dos níveis séricos dos receptores solúveis sTNFr1 e sTNFr2 em soro de indivíduos soronegativos e de soropositivos para o HTLV-1.

As concentrações séricas dos receptores solúveis de TNF: sTNFr1 e sTNFr2 foram detectadas em todos os indivíduos estudados. As análises dos dados no Agrupamento Familiar não mostraram diferenças significativas entre os níveis séricos dos receptores nos dois grupos estudados (NI e INF). Observou-se apenas similaridade de concentrações, com uma menor mediana de concentração entre os indivíduos do grupo NI para os dois receptores (figura 21).

As figuras 21B e 21E mostram as médias dos níveis séricos de sTNF nos indivíduos dos grupos NI e INF na coorte GIPH. Uma diferença estatisticamente significativa entre os níveis dos receptores foi observada para as moléculas sTNFr1 no grupo NI e grupo INF ($p < 0,001$); e sTNFr2 no grupo NI ($p < 0,01$) e no grupo INF (figuras 21B e 21E). Na análise dos grupos clínicos da coorte GIPH, a concentração sérica de sTNFr1 foi significativamente mais elevada no grupo HT, quando comparado aos indivíduos do grupo NI ($p < 0,001$).

Pode-se observar igualmente, maior similaridade entre as concentrações do receptor nos grupos AS e OL, sendo a que a concentração de sTNFr1 em 81% dos pacientes OL está abaixo da média dos pacientes HT, o que não ocorre com o grupo AS (figura 21C). Os níveis de sTNFr2 foram significativamente mais elevados no grupo HT em comparação com os grupos NI ($p < 0,001$), AS ($p < 0,01$) e OL ($p < 0,05$) (figura 21F).

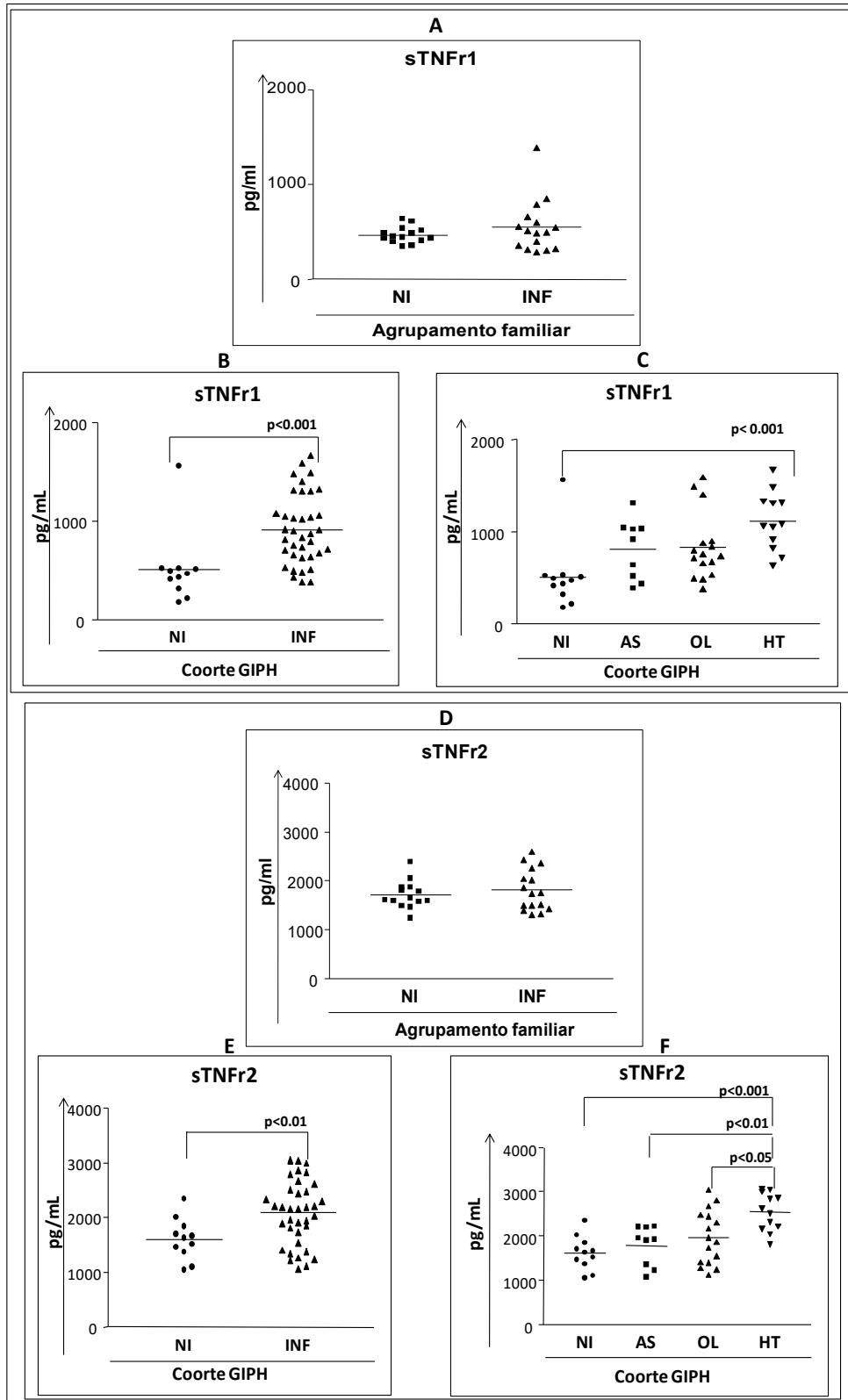


Figura 21 - **Avaliação dos níveis séricos de sTNFr1/CD120a** em: em indivíduos do Agrupamento familiar (A); indivíduos infectados e não infectados da coorte GIPH (B); indivíduos nas diferentes formas clínicas alocados na coorte GIPH (C); e **Avaliação dos níveis séricos de sTNFr2/CD120b** em: em indivíduos do Agrupamento familiar (D); indivíduos infectados e não infectados da coorte GIPH (E); indivíduos nas diferentes formas clínicas alocados na coorte GIPH (F). NI: indivíduos soronegativos; INF: indivíduos soropositivos; AS: portadores assintomáticos do HTLV-1; OL: pacientes oligossintomáticos; HT: pacientes com HAM/TSP. ANOVA e Teste *t* foram utilizados para as análises estatísticas.

O quadro 3 resume as quimiocinas aqui estudadas, apontando as médias/medianas e estatísticas das análises das quimiocinas e receptores de TNF em indivíduos infectados e não-infectados, no agrupamento familiar e na coorte GIPH. Adicionalmente, resume-se o tipo de resposta onde há predominância de quimiocina em Th₁ ou Th₂.

Quadro 3: Representação das médias das concentrações séricas das moléculas analisadas (quimiocinas, receptores de citocinas e neurotrofina) em indivíduos da coorte GIPH e no Agrupamento Familiar, relacionados ao tipo de polarização da resposta imune do tipo Th1 ou Th2. São apresentadas as estatísticas de cada resultado. As concentrações estão expressas em pg/ml.

Moléculas analisadas (pg/ml)	Coorte GIPH			Agrupamento Familiar			Polarização do tipo de Resposta Imune
	NI (S±SD) (n=12)	INF (S±SD) (n=38)	Estatística	NI (S±SD) (n=15)	INF (S±SD) (n=14)	Estatística	
CXCL9/MIG	152,88 ± 271,1	525,98 ± 778,9	p>0.05	651,58 ± 1009	2511 ± 3688	p>0.05	TH ₁
	145,57	257,09			237,64		

CXCL10/IP10	± 70,59	± 217,9	p>0.05	144,4 2 ± 93,58	± 147,6	p>0.05	TH ₁
CCL5/RANTES	4991,75 ± 591,2	7550,96± 1598	p<0.0001	5564, 66± 1046	6080,88 ± 893,4	p>0.05	TH ₁
CCL3/MIP-1 ALPHA	1134,94 ± 3003,00	539,08 ± 998,3	p<0.01	378,5 7 ± 386,2	513,5 ± 398,5	p>0.05	TH ₂
CCL2/MCP-1	473,7, ± 443,1	493,36 ± 462,9	p>0.05	214,7 0 ± 244,1	457,88 ± 363,5	p = 0.04	TH ₂
CXCL8/IL-8	443,27 ± 943,7	333,95 ± 496,5	p>0.05	208,2 9 ± 186,3	219,8 ± 245,1	p>0.05	TH ₂
CCL11/Eotaxina	573,98 ± 771,5	511,46 ± 855,6	p>0.05	187,7 7 ± 66,21	270,04 ± 130,5	p = 0.04	TH ₂

CCL24/Eotaxina -2	1081,03± 1263	964,13 ± 1146	p>0.05	271,6 3 ± 344,2	218,62 ± 153,9	p>0.05	TH ₂
sTNFr1/CD 120a	509,93 ± 368,3	917,86 ± 356,7	p<0.001	465,3 4 ± 85,3	554,32 ± 279,3	p>0.05	TH ₁
sTNFr2/CD120b	1600,78± 378,1	2102,96± 596	p<0.01	1709, 15± 282,9	1814,20 ± 427,8	p>0.05	TH ₁

5.5.6. Avaliação dos níveis da Neurotrofina BDNF no soro de indivíduos infectados e não infectados pelo HTLV-1.

Os níveis séricos da neurotrofina BDNF foram significativamente mais elevados ($p < 0,0011$) entre os indivíduos do grupo INF, quando comparados aos indivíduos do grupo NI pertencentes ao agrupamento familiar (figura 22A), apresentado um aumento de 2,17x a média dos níveis séricos ao serem comparados os dois grupos do AgF.

Não houve diferença estatística entre as concentrações de BDNF dos grupos NI e INF da coorte GIPH (figura 22B), porém ao se comparar os níveis de BDNF entre os diferentes grupos de progressão clínica da coorte, observou-se que os níveis da neurotrofina em pacientes HT foram significativamente mais baixos que os dos indivíduos do grupo AS (figura 22C). A figura mostra ainda uma diminuição em ordem decrescente dos níveis da neurotrofina nos indivíduos AS, OL e HT.

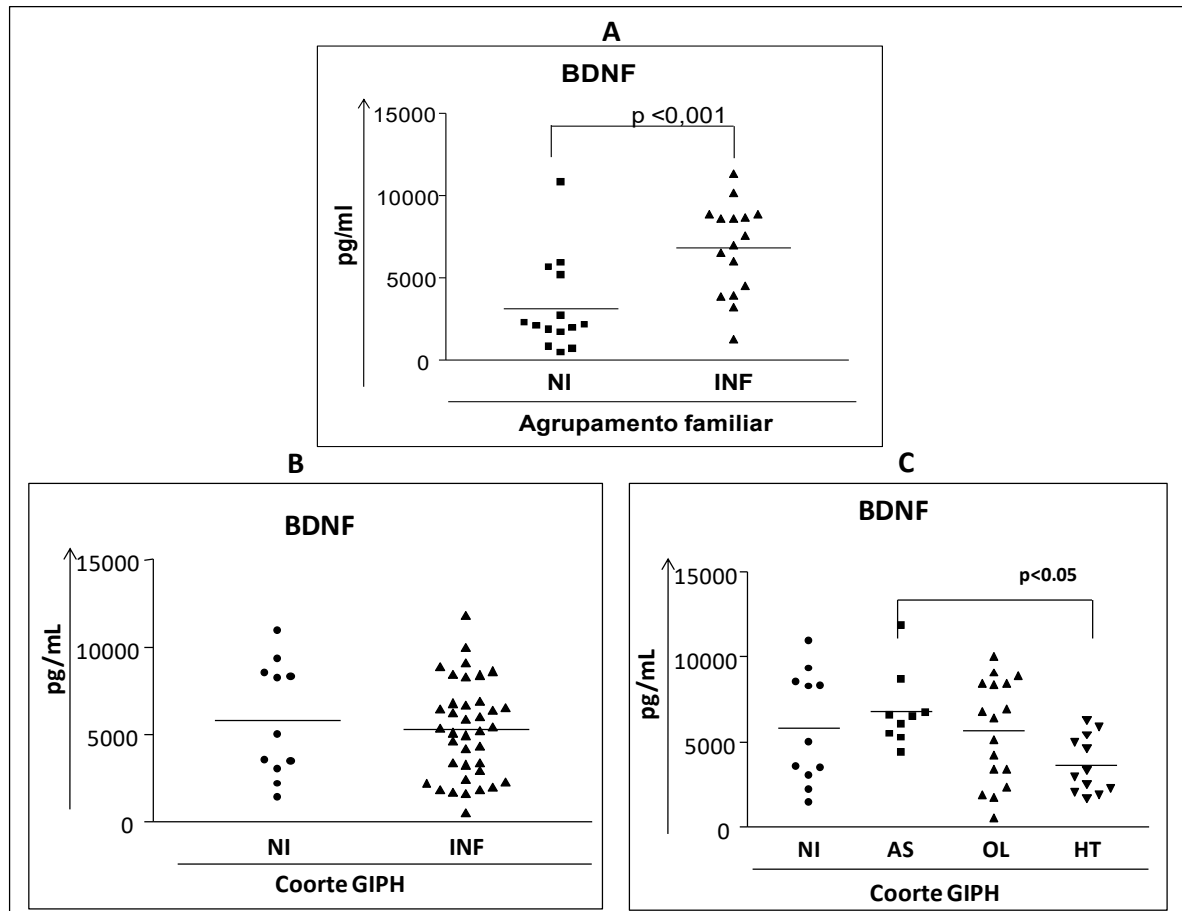


Figura 22 - Avaliação dos níveis séricos de BDNF em indivíduos do Agrupamento familiar (A); indivíduos infectados e não infectados da coorte GIPH (B); indivíduos nas diferentes formas clínicas alocados na coorte GIPH (C). NI: indivíduos soronegativos; INF: indivíduos soropositivos; AS: portadores assintomáticos do HTLV-1; OL: pacientes oligossintomáticos; HT: pacientes com HAM/TSP. ANOVA e Mann-Whitney foram utilizados para as análises estatísticas.

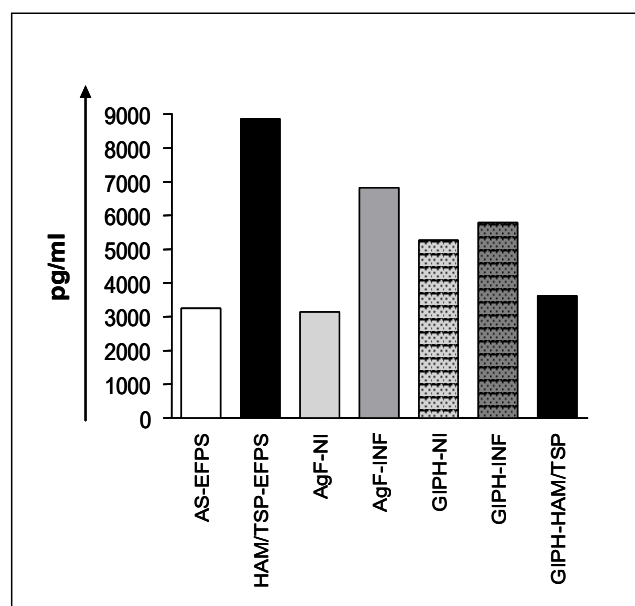


Figura 23 - Médias dos níveis séricos de BDNF em uma paciente (EFPS) do Agrupamento familiar (AgF). Que evoluiu do estado de portador assintomático (AS) para HAM/TSP. Estas médias foram comparadas com as médias

de concentração da neurotrofina em pacientes não infectados (NI), infectados pelo HTLV-1 (INF) e pacientes HAM/TSP da coorte GIPH. *ANOVA*, *Teste t* e *Mann-Whitney* foram utilizados para as análises estatísticas.

5.6. Correlação entre Reatividade de IgG anti-Tax e produção de Quimiocinas, Citocinas e Neurotrofina.

Não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre as correlações da reatividade de anticorpos IgG anti-Tax em relação ao nível sérico de quimiocinas, bem como para os receptores de TNF nos indivíduos infectados do agrupamento familiar. Porém, esta correlação ocorreu ao ser analisada a reatividade anti-Tax e a neurotrofina BDNF, mostrando-se negativa (figura 24).

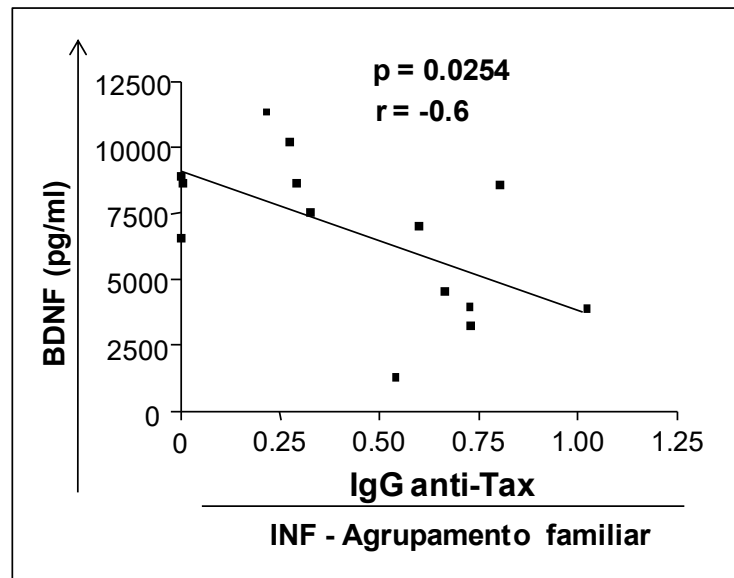


Figura 24 - Correlação entre a reatividade IgG anti-Tax em soro de indivíduos infectados pertencentes ao agrupamento familiar e BDNF.

6. DISCUSSÃO

Nesta dissertação foram avaliados parâmetros da resposta imune humoral e celular em um agrupamento familiar de 30 indivíduos residentes no estado de Minas Gerais, com prevalência de 50%, da infecção pelo HTLV-1, além de apresentar como característica predominante, os achados dermatológicos. Os parâmetros avaliados neste grupo foram comparados a grupos de indivíduos soropositivos da coorte GIPH, subdivididos em grupos clínicos: assintomáticos, oligossintomáticos e HAM/TSP, além de um grupo de soronegativos. No estudo piloto, as manifestações dermatológicas mais comuns encontradas, de acordo com Nobre e colaboradores (2003), foram as dermatomicoses, impetigo e escabiose, ressaltando-se que as mesmas estiveram presentes nos indivíduos infectados e não infectados. Lesões típicas relatadas mundialmente e referenciadas como associadas à infecção pelo HTLV-1 e ao quadro de desenvolvimento de HAM/TSP também foram descritas, a xerose e a ictiose adquirida.

6.1. Resultados da imunidade humoral

Primeiramente, foram avaliados os padrões sorológicos de reatividade às proteínas do HTLV-1, com o uso de um Imunoblot comercial (HTLV blot 2.4[®] MP Diagnostics, Genelabs, Singapore) em que foram avaliadas a reatividade às proteínas do envelope gp21, gp46 e GD21 e às proteínas Gag: p19, p24 e seu precursor p53.

Na avaliação do perfil de resposta humoral dos indivíduos HTLV-1 positivos do agrupamento familiar (AgF), observou-se no geral uma reatividade diminuída tanto para as proteínas do envelope quanto para as estruturais, em relação aos indivíduos assintomáticos da coorte GIPH, de maneira significativa para a proteína gp46 ($p < 0,0117$) e para o precursor protéico Gag p53 ($p = 0,0008$). De maneira destacada para p53 e p19, os valores médios de reatividade do AgF foram inclusive menores que os dos pacientes HAM/TSP da coorte GIPH, embora não tenha sido estatisticamente significativa a diferença.

Após a infecção pelo HTLV-1, a resposta humoral é dirigida para componentes estruturais do vírus, seguida pelos anticorpos anti-Env, sendo estes parcialmente protetores (GESSAIN *et al.*, 1985; MANNS *et al.*, 1991). Nesta família estudada, esta resposta humoral mostrou-se

potencialmente diminuída em comparação aos grupos AS e HT da coorte GIPH, embora o número de amostras avaliados da coorte tenha sido baixo. Acredita-se, porém, que esta indicação mereça uma avaliação com maior número de pacientes, uma vez que a resposta humoral medida para anticorpos anti-HTLV-1 possa estar ocorrendo também para outros antígenos e isto explicaria, em parte, a ocorrência de contaminações fúngicas e parasitárias nesta família.

Nascimento e colaboradores (2008) determinaram o padrão de resposta imunológica em pacientes com dermatite infecciosa, analisando o perfil de produção de citocinas, comparando este grupo a uma população de indivíduos assintomáticos e HAM/TSP. A reatividade apresentada pelos pacientes com IDH era mantida entre os padrões de reatividade de portadores assintomáticos e o de pacientes com HAM/TSP, contudo, os resultados apontaram para uma similaridade maior de respostas entre pacientes com IDH e HAM/TSP (de maneira semelhante ao observado neste trabalho), sendo sugerido pelos autores que a IDH seja uma condição clínica precursora da doença neurológica.

Foi ainda avaliada a resposta de IgG anti-Tax utilizando uma proteína recombinante expressada em procarioto. Os dados aqui trabalhados apontaram diferença no padrão de reatividade anti-Tax entre os indivíduos AS e HT ($p < 0,05$) e entre os indivíduos AS e pertencentes ao AgF ($p < 0,05$). Considerando-se os valores médios, a reatividade do AgF foi ainda ligeiramente superior a de HT (AS: $0,1493 \pm 0,1614$; HT: $0,4256 \pm 0,3942$ e AgF: $0,4436 \pm 0,3298$), com a metade dos pacientes do AgF reagindo acima dos valores médios de HT.

Anticorpos anti-Tax são utilizados como um bom marcador da infecção pelo HTLV-1 sendo correlacionado com a produção de vírus infecciosos aumentando a probabilidade de transmissão viral (KIRA *et al.*, 1991). De acordo com o heredograma apresentado na metodologia, a segunda geração da família estudada apresentou 41,2% de transmissão entre seus membros (vertical e horizontal) e a terceira geração 36% de transmissão vertical, tendo esta ocorrido exclusivamente em bebês do sexo feminino.

É destacado que em pacientes com HAM/TSP os níveis de imunoglobulinas anti-HTLV-1, principalmente para a proteína Tax, são significativamente mais elevados (JACOBSON *et al.*,

1990; KAPLAN *et al.*, 1990; LEVIN *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2006; SOUZA 2006). Neste estudo, o perfil de imunoglobulinas anti-antígenos de HTLV-1 pontuou no geral uma menor reatividade no AgF, inclusive em relação aos pacientes HT, porém, a reatividade para a proteína Tax foi estatisticamente mais elevada.

Destaca-se que a proteína recombinante utilizada neste trabalho compreende a porção carboxila da proteína Tax que apresenta três imuno-epitopos muito bem descritos (NORAZ *et al.*, 1993; RULDOPH, *et al.*, 1994; LEVIN *et al.*, 2002); a presença desse conjunto de epitopos podem resultar no aumento da sensibilidade de detecção de anticorpos.

6.2. Resultados da imunidade celular

Na segunda fase do estudo aqui descrito, foram avaliados os níveis de grupos de quimiocinas envolvidos no crescimento, migração e sobrevivência celular de linfócitos T e os níveis dos receptores solúveis de TNF, bem como da neurotrofina BDNF.

Nesta fase foram avaliados os níveis séricos das quimiocinas nos indivíduos do Agrupamento Familiar, os quais foram comparados entre si de acordo com seu status sorológico, sendo alocados em dois grupos clínicos (NI x INF). Os níveis séricos de quimiocinas nestes indivíduos também foram comparados aos de indivíduos alocados em quatro grupos clínicos e também pertencentes a coorte GIPH: portadores assintomáticos (AS), pacientes oligossintomáticos (OL) e pacientes HAM/TSP (HT). Destaca-se aqui que os pacientes oligossintomáticos, são os que apresentam alguns sinais e sintomas, porém, ainda não preenchem o critério HAM/TSP, conforme destacado em material e métodos.

As quimiocinas são proteínas de baixo peso molecular envolvidas em várias funções biológicas, incluindo o desenvolvimento de órgãos como o sistema nervoso central e principalmente na migração e fixação de linfócitos e outros leucócitos em sítios de infecção (ZLOTNIK *et al.*, 2000). Células infectadas pelo HTLV-1 expressam várias quimiocinas como CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α , CCL4/MIP-1 β , CCL5/RANTES, CXCL8/IL-8, CXCL10/IP-10, dentre outras, podendo a produção local destas quimiocinas sofrer modulação positiva ou negativa em resposta a determinadas citocinas (GUERREIRO *et al.*, 2006).

A concentração de quimiocinas em determinados sítios cerebrais e do sistema nervoso periférico revelam estas moléculas como potenciais mediadoras de doenças do sistema nervoso, sobretudo doenças neuroinflamatórias, sendo neste caso, essenciais para a infiltração de leucócitos no parênquima cerebral (MENNICKEN *et al.*, 1999). Diversos estudos mostram o envolvimento de grupos específicos de quimiocinas e de seus receptores em doenças neurológicas, destacando-se a doença de Alzheimer, demência associada ao HIV, esclerose múltipla, isquemia cerebral, mielorradiculopatia esquistossomótica e lesão medular (McTIGUE *et al.*, 1998; MENNICKEN *et al.*, 1999; SORENSEN *et al.*, 1999; CARTIER *et al.*, 2005; SOUZA-PEREIRA *et al.*, 2006). Diversas doenças cutâneas desencadeiam respostas imunes que são mediadas pela migração de subtipos específicos de leucócitos. Quimiocinas podem também ser expressas em células cutâneas, uma vez que os queratinócitos, que constituem a maior população celular na epiderme, estão expostos à ativação e produzem uma diversidade de quimiocinas (ZLOTNIK *et al.*, 2000; GIUSTIZIERI *et al.*, 2001).

Uma ação importante das quimiocinas é a polarização das células CD4 (Helper) em subtipos Th₁ ou Th₂ e a retenção de células efetoras nos sítios inflamatórios. Especificamente, a infecção pelo HTLV-1 desencadeia um tipo de resposta Th₁ (PASTORE *et al.*, 2004; GUERREIRO *et al.*, 2006). O presente trabalho avaliou os níveis séricos de quimiocinas Th₁ (CXCL9/Mig, CXCL10/IP-10 e CCL5/RANTES) e Th₂ (CXCL8/IL-8, CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α , CCL11/Eotaxina e CCL24/Eotaxina-2).

O soro/plasma de indivíduos do AgF mostrou uma alta concentração de CXCL9/Mig nos indivíduos infectados, quando foram comparados aos não-infectados da família (embora as análises não apontaram uma diferença estatisticamente significativa) e também aos indivíduos dos diversos grupos clínicos da coorte GIPH. Os níveis médios de CCL9/Mig no agrupamento familiar foram cinco vezes maiores que a concentração da quimiocina em pacientes HAM/TSP da coorte GIPH estudada, sendo que estes últimos mostraram maiores valores médios de Mig em relação ao NI-coorte GIPH ($p < 0,01$) e OL ($p < 0,001$).

Os níveis de CXCL10/IP-10 não mostraram diferença significativa entre os indivíduos do AgF e os demais da coorte GIPH. Tanto CXCL-10/IP-10 quanto CXCL9/Mig são quimiocinas

envolvidas em respostas na migração celular e na sustentação de respostas do tipo Th1, estando elevadas em distúrbios neurológicos tais como HAM/TSP, lesão medular aguda e malária cerebral (FLÜGEL *et al.*, 2001; GUERREIRO *et al.*, 2006) e em doenças dermatológicas como esclerose sistêmica (ANTONELLI *et al.*, 2008) e pólos neurológicos como a doença de Alzheimer, e doença de Parkinson (GIUSTZIERI *et al.*, 2001). CXCL10/IP10 e CXCL9/Mig são responsáveis pelo recrutamento de células imunes ativadas circulantes nas áreas onde a inflamação ocorre, contribuindo para a indução e a exacerbação das reações inflamatórias crônicas (LACOTTE *et al.*, 2009), como tem sido observado em HAM/TSP. Desta forma, os valores de CXCL10/IP10 e CXCL9/MIG aumentados nos pacientes HAM/TSP da coorte GIPH demonstram um importante papel destas quimiocinas no processo inflamatório crônico visto nestes pacientes.

Guerreiro e colaboradores (2006) avaliaram o perfil de quimiocinas em um grupo de indivíduos, e demonstraram que os níveis de CXCL9/Mig e CXCL10/IP-10 eram significativamente elevados em pacientes HAM/TSP quando comparados a portadores assintomáticos, com medianas distintas para cada grupo clínico estudado. Os altos valores de Mig no AgF tanto nos indivíduos HTLV-1 positivos quanto nos indivíduos sorologicamente negativos (mediana mais elevada que os positivos da coorte GIPH) corroboram a elevada ativação celular já pontuada para estes indivíduos (HTLV-1 positivos ou negativos) em outros trabalhos do GIPH, destacando-se os valores de Trombospondina 1, uma molécula produzida por plaquetas e mantenedora da ativação tanto de células TCD4+ quanto de monócitos (FERREIRA, 2005).

CCL5/RANTES é uma quimiocina ligante natural do receptor CCR5, estando envolvida na quimiotaxia e ativação celular de linfócitos T e na polarização para o recrutamento de linfócitos Th1. Mostra-se elevada em indivíduos HAM/TSP e em outros processos patológicos do sistema nervoso, além de doenças dermatológicas como a dermatite atópica e psoríase (KABURAGI *et al.*, 2001; MONTANHEIRO *et al.*, 2007).

Nos pacientes da coorte GIPH, foi observado um aumento de CCL5/RANTES nos pacientes infectados em comparação com o grupo NI ($p < 0,0001$), com os maiores valores sendo apresentados pelos pacientes HAM/TSP. Estes dados são condizentes com o estudo de Montanheiro e colaboradores (2007), onde se demonstrou níveis elevados para CCL5/RANTES

nos indivíduos assintomáticos e HAM/TSP. Porém, a mesma diferença não foi observada nos pacientes do agrupamento familiar, que apresentaram valores altos tanto para os HTLV-1 positivos quanto para os indivíduos sorologicamente negativos.

Em relação às quimiocinas Th₂ foram estudadas as proteínas CCL11/Eotaxina e CCL24/Eotaxina-2, CXCL8/IL-8 e CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α . Dentre estas, as Eotaxinas (CCL11 e CCL24) são quimiocinas envolvidas no recrutamento de leucócitos pela ligação ao receptor CCR3, o qual é estimulado por citocinas tais como IL-2 e IL-4. Estas proteínas desempenham o papel biológico de transmigração e aderência de linfócitos T no endotélio microvascular. Este fenômeno biológico das Eotaxinas é essencial para o recrutamento de linfócitos para o sítio inflamatório e se dá através da indução da expressão de moléculas de adesão como ICAM-1 e integrinas como CD29 e CD49a (JINQUAN *et al.*, 1999).

O presente estudo demonstrou que os níveis séricos de CCL11/Eotaxina estão aumentados em pacientes INF do agrupamento familiar em relação aos NI ($p = 0.0422$), não tendo ocorrido esta mesma diferença entre INF e NI da coorte GIPH. Os níveis séricos de CCL24/Eotaxina 2 não mostraram diferença estatística na comparação dos grupos estudados. Chama a atenção, no entanto, que a média dos valores para Eotaxina no AgF (NI e INF) é aproximadamente 50% mais baixa em relação ao grupo da coorte GIPH e para Eotaxina 2, esta redução é de aproximadamente 75%.

A quimiocina CXCL8/IL-8 foi primeiramente descrita como quimiotática para neutrófilos, é induzida em condições inflamatórias agudas e crônicas, tendo sido a primeira quimiocina descrita como indutora de angiogênese (METTE e SCHWARTZ, 2004). Contudo, esta proteína é liberada em PBMC de pacientes com artrite reumatóide estimulados com TNF e LPS (BAGGLIONI e CLARK-LEWIS, 1992). Além disso, CXCL8/IL-8 está presente em indivíduos com pele normal, tendo sido encontrado RNAm na pele de pacientes com psoríase, sendo sua liberação bastante expressiva em queratinócitos e estrato córneo epidérmico destes indivíduos (BAGGLIONI e CLARK-LEWIS, 1992; GIUSTZIERI *et al.*, 2001). No presente estudo, não foram observadas diferenças estatísticas entre os níveis de CXCL8/IL-8 em nenhum grupo clínico estudado no agrupamento familiar ou na coorte GIPH, somente no AgF, houve um aumento considerável de IL8 nos indivíduos INF. De acordo com Cheng e colaboradores

(2002), altos níveis de CXCL11/Eotaxina podem regular negativamente a expressão de CXCL8/IL-8 por células endoteliais, observada pela supressão da expressão da quimiocina quando induzida por TNF em células endoteliais dérmicas incubadas com CCL11/Eotaxina (CHENG *et al.*, 2002). Talvez, os baixos níveis de CCL11/Eotaxina mostrados pelo AgF (em relação aos indivíduos da coorte GIPH) possa explicar, em parte, o aumento (50%) dos valores de IL8 entre NI e INF do AgF.

Em relação aos níveis de CCL3/MIP-1 α , os níveis desta quimiocina foram semelhantes em todos os grupos clínicos da coorte GIPH e do AgF. Os dados demonstrados por Montanheiro e colaboradores (2007), apresentam níveis significativamente mais elevados de CCL3/MIP-1 α em pacientes HAM/TSP quando comparados a portadores assintomáticos. No presente estudo, somente quando se comparou NI x INF para a coorte GIPH houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,01$).

Considerando-se a avaliação dos níveis de CCL2/MCP-1, foi encontrada diferença estatística significativa entre os níveis desta quimiocina, mais elevados nos indivíduos soropositivos quando comparados aos soronegativos do agrupamento familiar ($p = 0,0422$). Por outro lado, os níveis de CCL2/MCP-1 na coorte GIPH foram mais elevados em indivíduos soronegativos, quando comparados a todos os demais grupos clínicos. Os dados obtidos para CCL2/MCP-1 no presente estudo, em relação à coorte GIPH, são similares ao encontrado por Guerreiro e colaboradores em 2006, em que pacientes HAM/TSP apresentaram níveis da quimiocina mais reduzidos que nos indivíduos soronegativos. Esta quimiocina, juntamente com CCL5/RANTES e CXCL10/IP10 são expressas em lesões de psoríase, ao passo que, a expressão em lesões neuronais é mantida constante (PASTORE *et al.*, 2004). Nos pacientes do AgF, entretanto, há uma inversão, com os níveis séricos de MCP-1 em pacientes HTLV-1 positivos mostrando o dobro do valor da média dos soronegativos; porém, como mostrado no quadro 3, na realidade os soronegativos da família possuíam um nível sérico muito abaixo dos soronegativos da coorte GIPH, e, no contexto da infecção viral este valor dobrou. Esta molécula, que pode ser produzida por linfócitos T, fibroblastos, queratinócitos e células endoteliais, dentre outras, recruta monócitos para o foco de inflamação ativa (DESHMANE *et al.*, 2009). Este achado aponta uma vez mais para o aparente estado de imunomodulação ativa nestes pacientes.

Além do estudo das quimiocinas e sua associação com respostas Th₁ ou Th₂, o presente estudo avaliou a citocina TNF, através da medida de seus receptores solúveis sTNFr1 e sTNFr2. Novos relatos têm mostrado que em lesões neuronais e doenças do sistema nervoso central e dermatológicas, a concentração destes receptores mostram-se elevadas. A presença destes receptores reflete a atividade biológica do TNF, uma vez que, estes receptores se encontram difusamente distribuídos no organismo, sendo expressos mesmo em locais distantes da atuação de seu ligante (SCHLÜTER *et al.*, 2000; GEORGE *et al.*, 2004; YANG *et al.*, 2008).

Atualmente, está bem estabelecido que além das células da micróglia, TNF- α pode também ser sintetizado e liberado no cérebro pelos astrócitos e algumas populações de neurônios. Existe um aumento robusto e rápido nos níveis de expressão de TNF- α no SNC após injúria aguda e em um número de desordens neurodegenerativas crônicas (ALLAN e ROTHWELL, 2001; FIGIEL, 2008).

O aumento local de TNF está acompanhado de elevações dos seus receptores, os quais podem atuar na mediação ou manutenção da ação da citocina. Níveis séricos de sTNFr2 podem estar aumentados e se sustentarem após 28 dias de lesão neuronal experimental (GEORGE *et al.*, 2004). Além disso, Yang e colaboradores demonstraram haver um aumento da expressão de sTNFr2 (acompanhado da elevação de níveis séricos de TNF) em células T circulantes em pacientes com polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica e em polineuropatia idiopática, não havendo expressão significativa do sTNFr1 (YANG *et al.*, 2008).

Os resultados apresentados no presente estudo mostram que os níveis destes receptores (tanto o sTNFr2 quanto o sTNFr1), nos grupos clínicos do agrupamento familiar (NI x INF), não revelaram diferença estatisticamente significativa. Em relação aos grupos clínicos da coorte GIPH, foram encontrados resultados estatisticamente significativos entre NI e INF ($p < 0.001$ para sTNFr1 e $p < 0,01$ para o sTNFr2), com os níveis dos receptores sendo mais elevados de sTNFr1 nos pacientes HAM/TSP comparado aos grupos NI ($p < 0.001$) e HT comparado a NI, AS e OL para o sTNFr2 ($p < 0.001$, $p < 0,01$ e $p < 0,05$, respectivamente), sugerindo uma elevação progressiva do TNF no sistema nervoso dos pacientes HAM/TSP e, a manutenção desta molécula em todos os estágios da cronificação.

A mielopatia associada ao HTLV-1 é uma doença crônica do sistema nervoso central com envolvimento periférico caracterizada por um processo inflamatório e degenerativo da bainha de mielina dos neurônios do trato cortico-espinal, mediado por linfócitos T e seus produtos (YOSHIDA *et al.*, 2007). Neurotrofinas são um grupo de proteínas expressadas no SNC e sistema nervoso periférico de vertebrados que possuem um papel essencial no desenvolvimento, manutenção e reparo do sistema nervoso (REICHARDT,

2006). Elas incluem o Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) Fator de crescimento neuronal (NGF) e neurotrofinas (NT) 3 e 4. BDNF é uma proteína liberada nas sinapses e apresenta uma distribuição “espalhada” no SNC. Os neurônios são a principal fonte de BDNF sendo que células imunes podem também produzir esta molécula, mas seu papel nas doenças autoimunes tem o seu entendimento iniciado na última década (KERSCHENSTEINER *et al.*, 2003).

A análise desta molécula pontuou um evento biológico muito importante e peculiar ao se comparar os dois grupos infectados pelo HTLV-1 (coorte GIPH e AgF). Nos indivíduos da coorte é visto claramente o que alguns pesquisadores relatam em seus trabalhos em relação a doenças do pólo neurológico, onde à medida que ocorre a cronificação com lesão neuronal instalada, os níveis de BDNF baixam. No AgF, entretanto, a média dos níveis sorológicos dos NI mostra-se bem menor que a média do NI-coorte GIPH e estes valores aumentaram no grupo INF mais de 200%, apontando, uma vez mais, para eventos de inflamação ativa.

Em relação à paciente de número 684 (EFPS), houve coleta de material clínico em duas fases (com intervalo de 2 anos). A concentração sérica quando a mesma se encontrava na fase assintomática foi de 3242,5pg/ml e na segunda fase já tendo evoluído para HAM/TSP foi de 8864,3pg/ml, sendo 2,7x mais alta quando na fase HAM/TSP, diferentemente do padrão apresentado pelos pacientes da coorte GIPH, onde o grupo de pacientes HAM/TSP apresenta níveis mais baixos desta neurotrofina (figura 23). Ressalta-se aqui que nas duas coletas destas pacientes, tanto para a fase de AS quanto de HAM/TSP, a carga proviral medida por PCR cinética foi de 173/10.000 células (realizado pela Dra. Marina Lobato, Fundação HEMOMINAS).

Frota e colaboradores em 2009 demonstraram o papel de BDNF em pacientes com esclerose múltipla antes e após uma piora do quadro clínico. Interessantemente, foi observado que em uma primeira avaliação, os pacientes com esclerose múltipla apresentaram níveis baixos de BDNF em comparação ao grupo controle. Em uma segunda avaliação dos mesmos pacientes, após uma piora do quadro clínico, observaram-se níveis aumentados de BDNF nos mesmos pacientes, em comparação com o grupo controle. Evidências demonstram um papel para BDNF na esclerose múltipla. Por exemplo, BDNF foi encontrado nas células do sistema imune e do SNC nas lesões desmielinizantes. TRK, um dos receptores de BDNF, foi expresso em neurônios presentes nas lesões ativas de esclerose múltipla (STADELMAN *et al.*, 2002).

Outro estudo demonstrou que sobrenadantes de culturas de células mononucleares do sangue periférico de pacientes com esclerose múltipla apresentaram altos níveis de BDNF durante um episódio de piora do quadro clínico quando comparados à melhora dos pacientes (AZOULAY *et al.*, 2008). Esses dados estão de acordo com os níveis aumentados de BDNF após a piora do quadro clínico demonstrado por Frota e colaboradores em 2009. Além disso, Weinstock-Guttman e colaboradores em 2002 demonstraram que BDNF correlacionou positivamente com uma alta atividade inflamatória em pacientes com esclerose múltipla. Desta forma, os resultados demonstrados acima indicam um papel para BDNF em estimular a recuperação do SNC (FROTA *et al.*, 2009).

Os nossos dados são condizentes com os estudos descritos acima, uma vez que, uma paciente do estudo evoluiu de portadora assintomática para HAM/TSP demonstrando um aumento significativo de BDNF, condizente com a presença de uma atividade inflamatória aguda, e evidenciando o papel de BDNF em reparar as lesões neurológicas recentes.

Em relação aos pacientes da coorte GIPH, foi observada uma menor expressão dos níveis de BDNF nos grupos AS, OL e HT quando comparados ao grupo controle, sendo que, o grupo de indivíduos com HAM/TSP apresentou os menores valores da neurotrofina BDNF, sugerindo que a doença instalada, bem como as lesões apresentadas por estes pacientes encontram-se em fase crônica, ou melhor, as lesões não são ativas.

Outros estudos serão necessários para melhor explicar por que os pacientes infectados do agrupamento familiar apresentam altos níveis da neurotrofina BDNF. Uma hipótese poderia ser que os mesmos apresentam um potencial para desenvolver a HAM/TSP, com lesões neurológicas ativas, mas que clinicamente ainda são “silenciosas”. É relato na literatura uma porcentagem em torno de 2 a 3% de desenvolvimento de HAM/TSP em indivíduos infectados pelo HTLV-1. O agrupamento familiar estudado apresenta até o momento 3 pacientes com HAM/TSP instalada (com as idades de 24, 31 e 37 anos, ou seja, precoces na instalação em relação à literatura mundial) em um total de 30 familiares - 10%. Embora este dado deva ser analisado com cuidado (uma vez que a transmissão intrafamiliar é aumentada em relação a outras populações avaliadas, como por exemplo, candidatos à doação de sangue), há uma alta taxa de transmissão vertical neste agrupamento, favorecendo a infecção precoce pelo HTLV-1, e conseqüentemente um maior estado de ativação celular neste grupo.

Dada a importância da proteína Tax no contexto da cronificação da infecção pelo HTLV-1, a correlação entre os níveis de IgG anti-Tax foram realizados para todas as moléculas testadas. Não houve correlação entre a reatividade anti-Tax e o nível de quimiocinas e receptores de citocinas nos indivíduos avaliados. Entretanto, esta correlação foi vista com a neurotrofina BDNF ($p=0,0254$; $r = - 0,6$). Os mais altos valores de IgG anti-Tax se correlacionaram com uma redução do BDNF, apontando o início de cronificação nestes pacientes com menores valores da neurotrofina, possivelmente pelo dano neuronal acarretado por Tax direta ou indiretamente.

A proteína Tax é a maior determinante da patogênese do HTLV-1, afetando uma grande quantidade de vias de sinalização celular levando à ativação transcricional dos genes do hospedeiro. O aumento da reatividade anti-Tax, juntamente com o aumento da carga proviral estão intimamente ligados ao processo de adoecimento e cronificação dos pacientes portadores assintomáticos (BOXUS *et al.*, 2008; PRIMO *et al.*, 2009).

7. CONCLUSÕES

1. O perfil imunológico de reatividade do Agrupamento Familiar à proteínas estruturais e do envelope do HTLV-1, é distinto do perfil de pacientes HAM/TSP e portadores assintomáticos e oligossintomáticos da coorte GIPH, mostrando uma tendência de baixa reatividade nestes pacientes. Os indivíduos do AgF mostraram um perfil mais assemelhado a HAM/TSP no contexto da resposta imune humoral.
2. A análise do perfil de quimiocinas dos pacientes infectados pelo HTLV-1 do agrupamento familiar e da coorte GIPH revelou uma resposta imune, predominantemente, do tipo Th₁, com um aumento das quimiocinas CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CCL5/RANTES e dos receptores de TNF- α (sTNFR1 e sTNFR2) no grupo de indivíduos infectados de ambas as coortes.
3. A resposta imune do tipo Th₂ avaliada neste estudo mostrou-se variável, uma vez que, as quimiocinas pesquisadas (CXCL8/IL-8, CCL3/MIP-1 α , CCL2/MCP-1, CCL11/Eotaxina, CCL24/Eotaxina-2) apresentaram um perfil diversificado entre os grupos e coorte analisados.
4. A neurotrofina BDNF mostrou-se elevada nos indivíduos infectados do agrupamento familiar, contrastando com a coorte GIPH, onde houve uma inversão deste perfil, sendo que, os pacientes HAM/TSP apresentaram os menores valores desta neurotrofina. Estes dados sugerem que os indivíduos infectados do agrupamento familiar apresentam atividade inflamatória aguda.

8. REFERÊNCIAS

ADES A.E., PARKER S., WALKER J., EDGINTON M., TAYLOR G.P., WEBER J.N. Human T-Cell Leukaemia/Lymphoma Virus Infection in Pregnant Women in the United Kingdom: Population Study. **British. Med. J.** 320: 1497-1501, 2000.

AKIZUKI S., NAKAZATO O., HIGUCHI Y., TANABE K., SETOGUCHI M., YOSHIDA S., MIYAZAKI Y., YAMAMOTO S., SUDOU S., SANNOMIYA K. Necropsy Findings in HTLV-I Associated Myelopathy. **Lancet.** 1(8525): 156-157, 1987.

ALBRECHT D., GARCIA L., CARTIER L., KETTLUN A.M., VERGARA C., COLLADOS L., VALENZUELA A. Trophic factors in cerebrospinal fluid and spinal cord of patients with tropical spastic paraparesis, HIV, and Creutzfeldt-Jacob disease. **AIDS Res. Hum. Retrovir.** 22 (3): 248-254, 2006.

ALESSANDRI A.L., SOUZA A.L., OLIVEIRA S.C., MACEDO G.C., TEIXEIRA M.M., TEIXEIRA A.L. Concentrations of CXCL8, CXCL9 and TNFR1 in plasma of patients with pulmonary tuberculosis undergoing treatment. **Inflamm. Res.** 55 (12): 528-533, 2006.

ALLAN S.M., ROTHWELL N.J. Cytokines and acute neurodegeneration. **Nat. Rev. Neurosci.** 2: 734-744, 2001.

ANTONELI A., FERRI C., FALLAHI P., FERRARI S.M., GIUGIOLLI D., COLACI M., MANFREDI A., FRASCERRA S., FRANZONI F., GALETTA F., FERRANNINI E. CXCL10 (a) and CCL2 (b) chemokines in systemic sclerosis – a longitudinal study. **Rheumatology.** 47: 45-49, 2008.

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 153 de 14 de julho de 2004 da ANVISA. Disponível em http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/resolucao_153_2004.pdf, 2004.

ASIA: AMERICAN SPINAL INJURY ASSOCIATION, disponível em http://www.asia-spinalinjury.org/publications/Motor_Exam_Guide.pdf, 2008.

AMRANI Y., AMMIT A.J., PANETTIERI, JR. R.A. Tumor necrosis factor receptor (TNFR) 1, but not TNFR2, mediates tumor necrosis factor-alpha-induced Interleukin-6 and RANTES in human airway smooth muscle cells: role of p38 and p42/44 mitogen-activated protein kinases. **Mol. Pharmacol.** 60 (4): 646-655.

APPAY V., ROWLAND-JONES S.L. RANTES: A Versatile and Controversial Chemokine. **Trends Immunology.** 22: 83-87, 2001.

ARAÚJO M.A., CARNEIRO-PROIETTI A.B.F., GUEDES A.C.M., GONÇALVES D.U., PROIETTI F.A. Manifestações cutâneas da infecção e das doenças relacionadas ao vírus linfotrófico de células T humanas do tipo 1. **An. Bras. Dermatol.** 38 (5):393-407, 2008.

ASQUITH B., BANGHAM C.R. Quantifying HTLV-I Dynamics. **Immunol. Cell Biol.** 85: 280-286, 2007.

ASQUITH B., ZHANG Y., MOSLEY A.J., DE LARA C.M., WALLACE D.L., ANDREW W., KAFTANTZI L., MEEKINGS K., GRIFFIN G.E., TANAKAY., TOUGH D.F., BEVERLEY P.C., TAYLOR G.P., MACALLAN D.C., BANGHAM C.R.M. In Vivo T Lymphocyte Dynamics in Humans and the Impact of Human T-Lymphotropic Virus Type 1 Infection. **PNAS.** 104: 8035-8040, 2007.

AZOULAY D., URSHANSKY N., KARNI A. Low and dysregulated BDNF secretion from immune cells of MS patients is related to reduced neuroprotection. **J. Neuroimmunol.** 195(1): 186-193, 2008.

BAGGIOLINI M., CLARK-LEWIS I. Interleukin-8, a chemotactic and inflammatory cytokine. **FEBS.** 307: 97-101, 1992.

BANGHAM C.R.M. HTLV-1 Infections. **J. Clin. Pathol.** 53: 581-586, 2000.

BANGHAM C.R.M. The Immune Control and Cell-to-Cell Spread of Human T-Lymphotropic Virus Type 1. **J. Gen. Virol.** 84: 3177-3189, 2003.

BANGHAM C.R.M., OSAME M. Cellular immune response to HTLV-1. **Oncogene.** 24: 6035-6046, 2005.

BARMAK K., HARJAD E., GRANT C., ALEFANTIS T., WIGDAHL B. Human T cell Leukaemia Virus Type I-Induced Disease: Pathways to Cancer and Neurodegeneration. **Virology.** 308: 1-12, 2003.

BIRD L. DCs Get KITted Out. **Nature.** 8:565, 2008

BITTENCOURT A.L., OLIVEIRA M.F., BRITES C., WEYENBERGH J.V., VIEIRA M.G.S., ARAÚJO I. Histopathological and immunohistochemical studies of infective dermatitis associated with HTLV-1. **Eur. J. Dermatol.** 15 (1): 26-30, 2005.

BITTENCOURT A.L., PRIMO J., OLIVEIRA M.F.P. Manifestations of the Human T-Cell Lymphotropic Virus Type I Infection in Childhood and adolescence. **J. Ped.** 82: 411-420, 2006.

BITTENCOURT A.L., BARBOSA H.S., VIEIRA M.G., FARRÉ L. Adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL) presenting in the skin: clinical, histological and immunohistochemical features of 52 cases. **Acta Oncol.** 48: 598-604, 2009.

BLANK A., HERRERA M., LOURIDO M.A., RUEDA R., BLAK M. Infective Dermatitis in Colombia. **The Lancet.** 346: 710-710, 1995.

BLAS M., BRAVO F., CASTILLO W., CASTILLO W.J., BALLONA R., NAVARRO P., CATAFORA J., CAIRAMPOMA R., GOTUZZO E. Norwegian Scabies in Peru: The Impact of Human T-Cell Lymphotropic Virus Type I Infection. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 72: 855-857, 2005.

BRITO-MELO G.E.A., PERUHYPE-MAGALHÃES V., TEIXEIRA-CARVALHO A., BARBOSA-STANCIOLI E.F., CARNEIRO-PROIETTI A.B.F., CATALAN-SOARES B., RIBAS J.G., GIPH Interdisciplinary Group on HTLV-1/2 Research, MARTINS-FILHO O.A. IL-10 Produced by CD4⁺ and CD8⁺ T-Cells Emerge as a Putative Immunoregulatory Mechanism to Counterbalance the Monocyte-Derived TNF- α and Guarantee Asymptomatic Clinical Status During Chronic HTLV-I Infection. **Clin. Exp. Immunol.** 147: 35-44, 2006.

BOXUS M., TWIZERE J-C., LEGROS S., DEWULF J-F., KETTMANN R. WILLEMS L. The HTLV-1 Tax interactome. **Retrovirology.** 5:76, 2008

CALLATINI S., CHEVALIER S.A., DUPREZ R., BASSOT S., FROMENT A., MAHIEUX R., GESSAIN A. Discovery of a New Human T-Cell Lymphotropic Virus (HTLV-3) in Central Africa. **Retrovirol.** 2: 30(1-4), 2005.

CARNEIRO-PROIETTI A.B.F., CATALAN-SOARES B.C., CASTRO-COSTA C.M., MURPHY E.L., SABINO E.C., HISADA M., GALVÃO-CASTRO B., ALCANTARA L.C.J., REMONDEGUI C., VERDONCK K., PROIETTI F.A. HTLV in the Americas: Challenges and Perspectives. **Rev. Panam. Salud Pub.** 19: 44-53, 2006.

CARTIER L., HARTLEY O., DUBOIS-DAUPHIN M., KRAUSE K-H. Chemokine receptors in the nervous central system: role in brain inflammation and neurodegenerative diseases. **Brain Res. Rev.** 48: 16-42, 2005

CARVALHO E.M., PORTO D.F. Epidemiological and Clinical Interaction Between HTLV-1 and *Stroglyoides stercoralis*. **Paras. Immunol.** 26: 487-497, 2004.

CATALAN-SOARES B.C., BARBOSA-SATANCIOLI E.F., ALCANTARA L.C.J., CARNEIRO-PROIETTI A.B.F., MARTINS M.L., NAMEN-LOPES M.S., GALVÃO-CASTRO B., FERREIRA C.E.S., COSTA M.C.R., PINHEIRO S.R., PROIETTI F.A., GIPH Interdisciplinary Group on HTLV-1/2 Research. Transmissão Horizontal e Vertical do HTLV-2 em Família de Área Urbana no Brasil: Estudo Soroepidemiológico, Clínico e Molecular. **AIDS Res. Human Ret.** 21: 521-526, 2005b.

CATALAN-SOARES B.C., CARNEIRO-PROIETTI A.B., CORRÊA-OLIVEIRA R., FONSECA F., PERALVA-LIMA D., PROIETTI F.A., GIPH. Perfil HLA-Classe I em Infectados pelo HTLV-1 em Coorte Brasileira. 31:71-95, 2004a.

CATALAN-SOARES B.C., CARNEIRO-PROIETTI A.B., PROIETTI F.A., GIPH Interdisciplinary Group on HTLV-1/2 Research. Heterogeneous Geographic Distribution of Human T-Cell Lymphotropic Viruses I and II (HTLV-I/II): Serological Screening Prevalence Rates in Blood Donors from Large Urban Areas in Brazil. **Cad. Saúde Públ.** 21: 926-931, 2005a.

CATALAN-SOARES B.C., CARNEIRO-PROIETTI A.B., PROIETTI F.A., GIPH Interdisciplinary Group on HTLV-1/2 Research. HTLV-I/II and Blood Donors: Determinants Associated with Seropositivity in a Low-Risk Population. **Rev. Saúde Públ.** 37: 470-476, 2003.

CATALAN-SOARES B.C., CARNEIRO-PROIETTI A.B., PROIETTI F.A., GIPH Interdisciplinary Group on HTLV-1/2 Research. Vírus Linfotrófico T Humano em Familiares de Candidatos à Doação de Sangue Soropositivos: Disseminação Silenciosa. **Rev. Panam. Salud. Pub.** 16: 387-394, 2004b.

CECCALDI P.E., DELEBECQUE F., PREVOST M.C., MORIS A., ABASTADO J.P., GESSAIN A., SCHWARTZ O., OZDEN S. DC-SIGN Facilitates Fusion of Dendritic Cells With Human T-Cell Leukemia Virus Type 1- Infected Cells. **J. Virol.** 80: 4771-4780, 2006.

CERVILA J.O., CARTIER L.R., GARCIA L.F. Brain and spinal cord magnetic resonance imaging in spastic paraparesis associated to human T-lymphotropic virus. **Rev. Med. Chile**, 134: 1010-1018, 2006.

CHENG S.S., LUKACS N.W., KUNKEL S.L. Eotaxin/CCL11 suppresses IL-8/CXCL8 secretion from human dermal microvascular endothelial cells 1. **J. Immunol.** 168: 2887-2894, 2002.

CHIRONA M., QUARTO M., SPECCHIA G., LISO V., BARBUTI S. Familial Clustering of HTLV-1 in Southeastern Italy. **The Lancet.** 346: 179-180, 1995.

CRISCIONE V. D., WEINSTOCK M. A. Incidence of Cutaneous T-Cell Lymphoma in the United States, 1973-2002. **Arch. Dermatol.** 143: 854-859, 2007.

DEROUICH-GUERGOUR D., BRENIER-PINCHART M.P., AMBROISE-THOMAS P., PELLOUX H. Tumour necrosis factor α receptors: role in physiopathology of parasite infections. **Int. J. Parasitol.** 31: 763-769, 2001.

DERSE D., HEIDECKER G. Forced entry – or does HTLV-1 have the key? **Science.** 14 (299): 1670-1671, 2003.

DESHMANE S.L., KREMLEV S., AMINI S., SAWAYA B.E. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): a overview. **J. Interf. Cytok. Res.** 29(6): 313-326, 2009.

DiCAUDO D.J., PERNICIARO C., WORRELL J.T., WHITE J.W., COCKERELL C.J. Clinical and Histologic Spectrum of Human T-Cell Lymphotropic Virus Type I –Associated Lymphoma Involving the Skin. **J. Am. Acad. Dermatol.** 34: 69-76, 1996.

DING W., KIM S-J., NAIR A.M., MICHAEL B., BORIS-LAWRIE K., TRIPP A., FEUER G., LAIRMORE M.D. Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 p12^I Enhances Interleukin-2 Production During T-Cell Activation. **J. Virol.** 77: 11027-11039, 2003.

DIOP S., CALLATINNI S., ABAH-DAKOU J., THIAM D., DIAKHATÉ L., GESSAIN A. Seroprevalence and Molecular Epidemiology of Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 (HTLV-1) and HTLV-2 in Blood Donors from Dakar, Senegal. **J. Clin. Microbiol.** 44: 1550-1554, 2006.

FERREIRA C.E.S. Avaliação da expressão de Trombospondina-1 em indivíduos infectados pelo HTLV-1 (Vírus Linfotrópico de Célula T Humana) assintomático, oligossintomáticos e pacientes com HAM/TSP (Paraparesia Espática Tropical/mielopatia Associada Ao HTLV-1). Dissertação. **Universidade Federal de Minas Gerais**, 2005.

FIGIEL I. Pro-inflammatory cytokine TNF- α as a neuroprotective agent in the brain. **Acta Neurobiol. Exp.** 68: 256-534, 2008.

FLÜGEL A., HAGER G., HORVART A., SPITZER C., SINGER G.M.A., GRAEBER M.B., KREUTZBERG G.W., SCHWAIGER F-W. Neuronal MCP-1 expression in response to remote nerve injury. **J. Cereb. Blood Flow Metabol.** 21: 69-76, 2001.

FROTA E.R.C., RODRIGUES D.H., DONADI E.A., BRUM G.D., MACIEL D.R.K., TEIXEIRA A.L. Increased plasma levels of brain derived neurotrophic factor (BDNF) after multiple sclerosis relapse. **Neuroscience Letters.** 460: 130-132, 2009

FUJINO T., NAGATA Y. HTLV-I Transmission from Mother to Child. **J. Reprod. Immunol.** 47: 197-206, 2000.

GABET A.S., MORTREUX F., TALARMIN A., PLUMELLE Y., LECLERCQ I., LEROY A., GESSAIN A., CLITY E., JOUBERT M., WATELL E. High Circulating proviral Load With Oligoclonal Expansion of HTLV-1 Bearing T Cells in HTLV-1 Carriers with Strongyloidiasis. **Oncogene.** 19: 4954-4960, 2000.

GALLO, R.C. History of the Discoveries of the First Human Retroviruses: HTLV-1 and HTLV-2. **Oncogene.** 24: 5926-5930, 2005.

GASTALDELLO R., OTSUKI K., BARBAS M.G., VICENTE A.C.P., GALLEGO S. Molecular evidence of HTLV-1 intrafamilial transmission in a non-endemic area in Argentina. **J. Med. Virol.** 76: 386-390, 2005.

GEORGE A., BUEHL A., SOMMER C. Tumor necrosis factor receptor 1 and 2 proteins are differentially regulated during Wallerian degeneration of mouse sciatic nerve. **Exp. Neurology.** 192: 163-166, 2004

GESSAIN A., VERNANT J.C., MAURS L., BARIN F., GOUT O., CALENDER A., DE THÉ G. Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. **The Lancet.** 326 (8452): 407-410, 1985.

GIUSTIZIERI M.L., MASCIA F., FREZZOLINI., PITA O.D., CHINI L.M., GIANNETTI A., GIROLOMONI G., PASTORE. Keratinocytes from patients with atopic dermatitis and psoriasis show a distinct chemokine production profile in response to T cell-derived cytokines. **J. Allergy Clin. Immunol.** 107 (5): 871-877, 2001.

GONÇALVES D.U., GUEDES A.C., PROIETTI A.B.F.C., MARTINS M.L., PROIETTI F.A., LAMBERTUCCI J.R., GIPH Interdisciplinary Group on HTLV-1/2 Research. Dermatologic Lesions in Asymptomatic Blood Donors Seropositive for Human T Cell Lymphotropic Virus Type-1. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 68: 562-565, 2003.

GOON P.K., IGAURA T., HANON E., MOSLEY A.J., BARFIELD A., BARNARD A.L., KAFTANTZI L., TANAKAY., TAYLOR G.P., WEBER J.N., BANGHAM C.R.M. Human T Cell Lymphotropic Virus Type I (HTLV-I)-Specific CD4⁺ T Cells: Immunodominance Hierarchy and Preferential Infection With HTLV-I. **J. Immunol.** 172: 1735-1743, 2004.

GOON P.K.C., BANGHAM C.R.M. Interference with immune function by HTLV-1. **Clin. Exp. Immunol.** 137: 234-236, 2004.

GOON P.K.C., IGAKURA T., HANON E., MOSLEY A.J., ASQUITH B, GOULD K.G., TAYLOR G.P., WEBER J.N., BANGHAM C.R.M. High Circulating Frequencies of Tumor Necrosis Factor Alpha- and Interleukin-2-Secreting Human T-Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1)-Specific CD4⁺ T Cells in Patients with HTLV-1-Associated Neurological Disease. **J Virol.** 77(17): 9716–9722, 2003.

GUERREIRO J.B., SANTOS S.B., MORGAN D.J., PORTO A.F., MUNIZ A.L., HO J.L., TEIXEIRA A.L., Jr., TEIXEIRA M.M., CARVALHO E.M. Levels of serum chemokines discriminate clinical myelopathy associated with human T lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) disease from HTLV-1 carrier state. **Clin. Exp. Immunol.** 145 (2):296–301, 2006

HIESHIMA K, NAGAKUBO D, NAKAYAMA T, SHIRAKAWA AK, JIN Z, YOSHIE O. Tax-Inducible Production of CC Chemokine Ligand 22 by Human T Cell Leukemia Virus Type 1 (HTLV-1)-Infected T Cells Promotes Preferential Transmission of HTLV-1 to CCR4-Expressing CD4⁺ T Cells. **J Immunol.** 180: 8470, 2008.

HOMEY B. Chemokines and inflammatory skin diseases. **Adv. Dermatol.** 21: 261-277, 2005.

IGA M., OKAYAMA A., STUVER S., MATSUOKA M., MUELLER N., AOKI M., MITSUYA H., TACHIBANA N., TSUBOUCHI H. Genetic evidence of transmission of Human T-cell lymphotropic virus type 1 between spouses. **J. Infect. Dis.** 185: 691-695, 2002.

IGAKURA T., STINCHCOMBE J.C., GOON P.K.C., TAYLOR G.P., WEBER J.N., GRIFFITHS G.M., TANAKA Y., OSAME M., BANGHAM C.R.M. Spread of HTLV-I Between Lymphocytes by Virus-Induced Polarization of the Cytoskeleton. **Science.** 299: 1713-1716, 2003.

IZUMO S., IJICHI T., HIGUCHI I., TASHIRO A., TAKAHASHI K., OSAME M. Neuropathology of HTLV-I-Associated Myelopathy a Report of Two Autopsy Cases. **Acta Paediatr Jpn.** 34: 358-364, 1992.

JACOBSON S., SHIDA H., MCFARLIN E., FAUCI A.S., KOENIG S. Circulating CD8⁺cytotoxic T lymphocytes specific for HTLV-1 pX in patients with HTLV-1 associated neurological diseases. **Nature**. 348: 245, 1990.

JINQUAN T., QUAN S., FEILI G., LARSEN C.G., THESTRUP-PEDERSEN K. Eotaxin activates T cells to chemotaxis and adhesion only if induced to express CCR3 by IL-2 together with IL-4. **J. Immunol**. 162: 4285-4292, 1999.

KABURAGI Y., SHIMADA Y., NAGAOKA T., HASEGAWA M., TAKEHARA K., SATO S. Enhanced production of cc-chemokines (RANTES, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , and Eotaxin) in patients with atopic dermatitis. **Arch. Dermatol. Res**. 293: 350-355, 2001.

KALYANARAMAN V.S., SARNGADHARAN M.G., GUROFFM R. A new subtype of HTLV-2 associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia. **Science**. 218: 571-573, 1982.

KAPLAN J.E., KHABBAZ R.F., MURPHY E.L., HERMANSEN S., ROBERTS C.R., LAL R., HENEINE W., WRIGHT D., MATIJAS L., THOMSON R., RUDOLPH D., SWITZER W.M., KLEINMAN S., BUSCH M., SCHREIBER G.B., THE RETROVIRUS EPIDEMIOLOGY DONOR STUDY GROUP. Male-to-female transmission of human T-cell lymphotropic virus types I and II: association with viral load. **J. Acq. Imm. Def. Synd. Hum. Retrovirol**. 12 (2): 193-201, 1996.

KASHIWAGI K., FURUSHO N., NAKASHIMA H., KUBO N., KINUKAWA N., KASHIWAGI S., HAYASHI J. A decrease in mother-to-child transmission of human T lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) in Okinawa, Japan. **Am. J. Trop. Med. Hyg**. **70 (2): 158-163, 2004.**

KAYEMBE K., GOUBAU P., DESMYTERJ., VLIETINCK R., CARTON H. A cluster of HTLV-1 associated tropical spastic paraparesis in Equateur (Zaire): ethnic and familial distribution. **J. Neurol. Neurosurg. Psych**. 53: 4-10, 1990.

KERSCHENSTEINER M., STADELMANN C., DECHANT G., WEKERLE H., HOHLFELD R. **Ann. Neurol.** Neurotrophic crosstalk between the nervous and immune systems: Implications for neurological diseases. 53 (3): 292-304, 2003.

KIRA J., KOYANAGI Y., YAMADA Y., ITOYAMA I., GOTO M., YAMAMOTO H., SASAKI Y. Increased HTLV-1 proviral DNA in HTLV-1 associated myelopathy: a quantitative polymerase chain reaction study. **Ann. Neurol.** 29: 194-201, 1991.

KOGA S., KAPOOR A., NOVICK A.A., TOMA H., FAIRCHILD R.L. RANTES is produced by CD8⁺ T Cells During Acute Rejection of Skin Grafts. **Transp. Proced.** 32: 796-797, 2000.

KUBOTA R., FUJIYOSHI T., IZUMO S. Fluctuation of HTLV-1 proviral DNA in peripheral blood mononuclear cells of HTLV-1 –associated myelopathy. **J. Neuroimmunol.** 42: 147-154, 1993.

KWAAN N., LEE T.H., CHAFETS D.M., NASS C., NEWMAN B., SMITH J., GARRATTY G., MURPHY E.L., and HOST INVESTIGATORS. Long-term Variations in Human T Lymphotropic Virus (HTLV-1) and HTLV-II Proviral Loads and Association with Clinical Data. **J. Infect. Dis.** 194: 1557-1564, 2006.

La GRENADE L., MANNS A., FLETCHER V., CARBERRY C., HANCHARD B., MALONEY E.M., CRANSTON B., WILLIAMS N.P., WILKS R., KANG E.C., BLATTNER W.A. Clinical, Pathologic, and Immunologic Features of Human T-Lymphotropic Virus Type I – Associated Infective Dermatitis in Children. **Arch. Dermatol.** 134: 439-444, 1998.

LACOTTE S., BRUM S., MULLER S., DUMORTIER H. CXCR3, Inflammation, and autoimmune diseases. **Cont. Chal. Autoimm.** 1173: 310-317, 2009.

LAIRMORE M.D., FRANCHINI G. Human T-Cell Leukemia Types 1 and 2. *In* KNIPE D.M., HOWLEY P.M. Editors **Fields Virology**. 5.ed. Lippincott Williams & Wilkins, Vol. 2, 2007.

LEE S.M., DUNNAVANT F.D., JANG H., ZUNT J., LEVIN M.C., Autoantibodies that recognize functional domains of hnRNPA1 implicate molecular mimicry in the pathogenesis of neurological disease. **Neurosc. Letters**. 401 (12): 199-193, 2006.

LEPOUTRE V., JAIN P., QUANN K., WIGDAHL B., KHAN Z. Role of resident CNS cell populations in HTLV-1-associated neuroinflammatory disease. **Front. Biosci**. 14: 1152-1168, 2009.

LEVIN, M. C.; LEE, S. M.; MORCOS, Y. Cross-reactivity between immunodominant human T lymphotropic virus type I *tax* and neurons: Implications for molecular mimicry. **J. Infect. Dis.**, vol. 186, p. 1514-1517, 2002.

MAHÉ A., MEERTENS L., LY F., SOW P.S., DIOP C.T., SAMB N.D., DIOP O.M., VALENSIS F., GESSAIN A. Human T-Cell Leukaemia/LymphomaVirus Type I-Associated Infective Dermatitis in Africa: A Report of Five Cases from Senegal. **British J. Dermatol**. 150: 958-965, 2005.

MAHIEUX R., GESSAIN A. The human HTLV-3 and HTLV-4 retroviruses: new members of the HTLV family. **Pathol. Biol**. 57(2): 161-166, 2009.

MAJOROVITS E., NEJMEDDINE M., TANAKA Y., TAYLOR G.P., FULLER S.D., BANGHAM C.R.M. Human T-Lymphotropic Virus-1 Visualized at the Virological Synapse by Electron Tomography. **Plos ONE**. 3: 1-9, 2008.

MALONEY E.M., WIKTOR S.Z., PALMER P., CRANSTON B., PATE E.J., COHN S., KIM N., MILEY W., THOMAS T.L., BLATINER W.A., HANCHARD B. A Cohort Study of Health Effects of Human T-Cell Lymphotropic Virus Type I Infection in Jamaican Children. **Pediatrics**. 112: e136-e142, 2003.

MANEL N., BATTINI J.C., TAYLOR N., SITBON M. HTLV-I Tropism and Envelope Receptor. **Oncogene**. 24: 6016-6025, 2005.

MANNS A., HISADA M., La GRENADE L. Human T cell Lymphotropic Virus Type I Infection. **The Lancet.** 353: 1951-1958, 1999.

MARTINS C.P.S. Clonagem e expressão da proteína Tax de HTLV-1 em sistema procaríoto, para utilização no estudo da infecção pelo HTLV-1. **Universidade Federal de Minas Gerais.** 2008, 186p. Dissertação de Mestrado.

MATSUOKA M., JEANG K-T. Human T-Cell Leukemia Virus Type I at Age 25: A **Progress Report. Cancer Res.** 65: 4467- 4470, 2005.

McCALLUN R.M., PATEL D.D., MOORE J.O., HAYNES B.F. Arthritis Syndromes Associated with Human T cell Lymphotropic Virus Type I Infection. **Med. Clin. N. Am.** 81: 291-276, 1997.

McTIGUE D.M., TANI M., KRIVACIC K., CHERNOSKY A., KELNER G.S., MACIEJEWSKI D., MAKI R., RANSOHOFF R.M., STOKES B.T. Selective Chemokine mRNA Accumulation in the Rat Spinal Cord After Contusion Injury **J. Neurosc.Res.** 53:368-376, 1998.

MENNICKEN F., MAKI R., SOUZA E.B., QUIRION R. Chemokines and chemokines receptors in the CNS: a possible role in neuroinflammation and patterning. **TIPS.** 20: 73-78, 1999.

METTE M.R., SCHWARTZ T.W. The chemokine system – a major regulator of angiogenesis in health and disease. **APMIS.** 112 (7-8): 481-495, 2004.

MICELI-RICHARD C., DIEUDE P., HACHULLA E., PUECHAL X., CORNELIS F., MARIETTE X. Tumour necrosis factor receptor 2 (TNFRSF1B) association study in Sjögren's syndrome. **Ann. Rheum. Dis.** 66: 1684-1685, 2007.

MILAGRES S.P., SANCHES J.A., MILAGRES A.C.P., VALENTE N.Y.S. Histopathological and immunohistochemical assessment of acquired ichthyosis in patients with human T-cell lymphotropic virus type 1 associated myelopathy. **Brith. J. Dermatol.** 149: 776-781, 2003.

MONTANHEIRO P., VERGARA M.P.P., SMID J., DUARTE A.J.S., OLIVEIRA A.C.P., CASSEB J. High Production of RANTES and MIP-1 α in the Tropical Spastic Paraparesis/HTLV-1-Associated Myelopathy (HAM/TSP). **J. Neuroimmunol.** 188: 138-142, 2007.

MURPHY P.M., BAGGIOLINI M., CHARO I.F., HEBERT C.A., HORUK R., MATSUSHIMA K., MILLER L.H., OPPENHEIM J.J., POWER C.A. International Union of Pharmacology. XXII. Nomenclature for Chemokine Receptors. **Pharmacol. Rev.** 52: 145-170, 2000.

NAGAI M., USUKU K., MATSUMOTO W., KODAMA D., TAKENOUCI N., MORITOYO T., HASHIGUCHI S., ICHINOSE M., BANGHAM C.R., IZUMO S., OSAME M. Analysis of HTLV-1 proviral load in 202 HAM/TSP patients and 243 asymptomatic HTLV-1 carriers: high proviral load strongly predisposes to HAM/TSP. **J. Neurovirol.** 4 (6): 586-593, 1998.

NAM S.H., COPELAND T.D., HATANAKA M., OROSZLAN S. Characterization of Ribosomal Frameshifting for Expression of Pol Gene Products of Human T-Cell Leukemia Virus Type I. **J Virol.** 67: 196-203, 1993.

NASCIMENTO M.C.F., PRIMO J., BITTENCOURT A., SIQUEIRA I., OLIVEIRA M.F., MEYER R., SCHRIEFER A., SANTOS S.B., CARVALHO E.M. Infective dermatitis has similar immunological features to human T lymphotropic virus-type 1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **Clin. Exp. Immunol.** 156: 455-462, 2008.

NAMEN-LOPES M.S. HTLV-1/2 e Risco Transfusional Residual: a Importância da Hemovigilância. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Instituto de Previdência dos Servidores do Estado de Minas Gerais.

NAMEM-LOPES M.S., MARTINS M.L., GAZZINELLI-COLARES., NOBRE JR V.A., BARBOSA-STANCIOLI E.F., CARNEIRO-PROIETTI A.B.F., GIPH. Estrongiloidíase, uma doença infecciosa emergente: relato de dois casos e revisão da literatura. **Gest. Cienc. Saúde.** 4 (1): 89-103, 2009.

NICKEL R.G., CASOLARO V., WAHN U., BEYER K., BARNES K.C., PLUNKETT B.S., FREIDHOFF L.R., SENGLER C., PLITT J.R., SCHLEIMER R.P., CARABALLO L., NAIDU R.P., LEVETT P.N., BEATY T.H., HUANG S-K. Atopic Dermatitis is Associated with a Functional Mutation in the Promoter of the C-C Chemokine RANTES¹. **J. Immunol.** 164: 1612-1616, 2000.

NICOT C., HARROD R.L., CIMINALE V., FRANCHINI G. Human T-cell leukemia/lymphoma virus type-1 nonstructural genes and their functions. **Oncogene.** 24: 6026-6034, 2005

NOBRE Jr V.A. Infecção pelo Vírus Linfotrópico Humano de Células T do Tipo 1 (HTLV-1) e Lesões Dermatológicas. Estudo de Prevalência de uma Clínica Dermatológica de Belo Horizonte e das Manifestações Cutâneas Manifestadas pelos Membros de uma Família. 2004. 234p. Tese Doutorado. **Universidade Federal de Minas Gerais.**

NOBRE V., GUEDES A.C., MARTINS M.L., BARBOSA-STANCIOLI E.F., SERUFO J.C., PROIETTI F.A., RIBAS J.G., FERREIRA C.E.S., LAMBERTUCCI J.R., GIPH Interdisciplinary Group on HTLV-1/2 Research. Dermatological Findings in 3 Generations of a Family with a High Prevalence of Human T-Cell Lymphotropic Virus Type I Infection in Brazil. **Clin. Infect. Diseases.** 43: 1257-63, 2006.

NOBRE V., GUEDES A.C., PROIETTI F.A., BARBOSA-STANCIOLI E.F., MARTINS M.L., SERUFO J.C., ANTUNES C.M., GROSSI M.A., LAMBERTUCCI J.R., GIPH Interdisciplinary Group on HTLV-1/2 Research. Dermatologic Lesions in patients infected With the Human T-Cell Lymphotropic Virus Type I (HTLV-1). **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 38: 43-52, 2005.

NORAZ N., BENICHOUS S., MADAULE P., TIOLLAIS V.J.C., DESGRANGES C. Expression of HTLV-1 Env and Tax recombinant peptides in yeast: identification of immunogenetic domains. **Virology.** 193: 80-88, 1993.

OLIVEIRA M.F.S.P., BITTENCOURT A.L., BRITES C., SOARES G., HERMES C., ALMEIDA F.O. HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis in a 7-year-old boy associated with infective dermatitis. **J. Neurol. Sci.** 222: 35-38, 2004.

OSAME M. The Recent Advances of HAM/TSP Research. **Rinsho Shinkeigaku.** 39:1200-1202, 1999a.

OSAME M. HTLV-I-Associated Myelopathy. **Ryoikibetsu Shokogun Shirizu.** 24: 41-45, 1999b.

PASTORE S., MASCIA F., MARIOTTI F., DATTILO C., GIROLOMONI G. Chemokine networks in inflammatory skin diseases. **Eur. J. Dermatol.** 14:203-208, 2004.

POIESZ B., RUSCETTI F.W., GAZDAR A.F., BUNN P.A., MINNA J.D., GALLO R.C. 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.** 77: 7415-7419, 1980.

PORTO A.F., NEVA F.A., BITTENCOURT H., LISBOA W., THOMPSON R., ALCÂNTARA L., CARVALHO E.M. HTLV-1 Decreases Th2 Type of Immune Response in Patients with Strongyloidiasis. **Parasite Immunol.** 23: 503-507, 2001.

POUSINHA P.A., DIOGENES M.J., RIBEIRO J.A., SEBASTIÃO A.M. Triggering of BDNF facilitatory action on neuromuscular transmission by adenosine A_{2A} receptors. **Neurosci. Letter.** 404:143-147, 2006.

PRIMO J., SIQUEIRA I., NASCIMENTO M.C.F., OLIVEIRA M.F., FARRÉ L., CARVALHO E.M., BITTENCOURT A.L. High HTLV-1 proviral load, a marker for HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis, is also detected in patients with infective dermatitis associated with HTLV-1. **Bras. J. Med. Biol. Res.** 42: 761-764, 2009.

PROIETTI F.A., CARNEIRO-PROIETTI A.B., CATALAN-SOARES B.C., MURPHY E.L. Global Epidemiology of HTLV-1 Infection and Associated Disease. **Oncogene.** 26: 6058-6068, 2005.

RADHAKRISHNAN V.V., SUMI M.G., MATHAI A., NAIR M.D. Serum tumour necrosis factor- α and soluble tumour necrosis factor receptors levels in patients with Guillain-Barre syndrome. **Acta Neurol. Scand.** 109: 71-74, 2004.

RAYCHAUDHURI S.P., RAYCHAUDHURI S.K. Biologics: target-specific treatment of systemic and cutaneous autoimmune diseases. **Ind. J. Dermatol.** 54 (2): 100-109, 2009.

REICHARDT L.F. Neurotrophin-regulated signalling pathways. **Phil. Trans. R. Soc.** 361: 1545-1564, 2006.

RIBAS J.G.R., MELO G.C.N. Mielopatia Associada ao Vírus Linfotrópico Humano de Células T do Tipo 1 (HTLV-1). **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 35: 377-384, 2002.

SAKAI J.A., NAGAI M., BRENNAN M., MORA C.A., JACOBSON S. In vitro spontaneous lymphoproliferation in patients with human T-cell lymphotropic virus type I-associated neurologic disease: predominant expansion of CD8⁺ T cell. **Blood.** 98 (5) 1506-1511, 2001.

SATOH M., KIYUNA S., SHIROMA Y., TOMA H., KOKAZE A., SATO Y. Predictive Markers for Development of Strongyloidiasis in Patients Infected with Both *Strongyloides stercoralis* and HTLV-1. **Clin. Exp. Immunol.** 133: 391-396, 2003.

SCHLÜTER D., DECKERT M. The divergent role of tumor necrosis factor receptors in infectious diseases. **Microb. Infect.** 2: 1285-1292, 2000

SEIKI M., HATTORI S., HIRAYAMA Y., YOSHIDA M. Human Adult T-Cell Leukemia Virus: Complete Nucleotide Sequence of the Provirus Genome Integrated in Leukemia Cell DNA. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 80: 3618-3622, 1983.

SONG X.Y., LI F., ZHANG F.H., ZHONG J.H., ZHOU X.F. Peripherally derived BDNF promotes regeneration of ascending sensory neurons after spinal cord injury. **PLoS.ONE.** 3 (3): 1-16, 2008.

SORENSEN T.L., TANI M., JENSEN J., PIERCE V., LUCCINETTI C., FOLCIK V.A., QIN S., ROTTMAN J., SELLEBJERG F., STIETER R., FREDERIKSEN J.L., RANSOHOFF R.M. Expression of specific chemokines receptors in the central nervous systems of multiple sclerosis patients. **J. Clin. Invest.** 103 (6): 807-815, 1999.

SOUZA J.G. Acompanhamento do perfil de indicadores fenotípicos da resposta imune celular e humoral e da carga proviral de indivíduos infectados pelo HTLV-1. Dissertação. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

SOUSA-PEREIRA S.R., TEIXEIRA A.L., SILVA L. C.S., SOUZA A.L.S., ANTUNES C.M., TEIXEIRA M.M., LAMBERTUCCI J.R. Serum and cerebral spinal fluid levels of chemokines and Th2 cytokines in *Schistosoma mansoni* myeloradiculopathy. **Parasit. Immunol.** 28: 473-478, 2006.

STADELMANN C., KERSCHENSTEINER M., MISGELD T., BRÜCK W., HOHLFELD R., LASSMANN H. BDNF and gp145trkb in multiple sclerosis brain lesions: neuroprotective interactions between immune and neuronal cells? **Brain**. 125: 75-85, 2002.

TAYLOR G. Molecular Aspects of HTLV-I Infection and Adult T-Cell Leukaemia/Lymphoma. **J. Clin. Pathol.** 60: 1392-1396, 2007.

UCHIYAMA T. Human T-Cell Leukemia Virus Type I (HTLV-I) and Human Diseases. **Annu. Rev. Immunol.** 15: 15-37, 1997.

UMEHARA F., IZUMO S., NAKAGAWA M., RONQUILLO A.T., TAKAHASHI K., MATSUMURO K., SATO E., OSAME M. Immunocytochemical Analysis of the Cellular Infiltrate in the Spinal Cord Lesions in HTLV-I-Associated Myelopathy. **J Neuropathol Exp Neurol.** 52: 424-430, 1993.

VINE A.M., HEAPS A.G., KAFTANTZI L., MOSLEY A., ASQUITH B., WITKOVER A., THOMPSON G., SAITO M., GOON P.K.C., CARR L., MARTINEZ-MURILLO F., TAYLOR G.P., BANGHAM C.R.M. The Role of CTLs in Persistent Viral Infection: Cytolytic Gene Expression in CD8⁺ Lymphocytes Distinguishes Between Individuals with a High or Low Proviral Load of Human T Cell Lymphotropic Virus Type 1. **J. Immunol.** 173: 5121-5129, 2004.

VRIELINK H., REESINK H.W. HTLV-I/II Prevalence in Different Geographic Locations. **Transf. Med. Rev.** 18: 46-57, 2004.

WATANABE A., KAWAJIRI M., IKEZOE K., OSOEGAWA M., MURAI H., OCHI H., TANIWAKI M., KIRA J. HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis accompanied with psoriasis. **J.Neurol. Sci.** 221: 954-97, 2004.

WATTEL E., CAVROIS M., GESSAIN A., WAIN-HOBSON S. Clonal Expansion of Infected Cells: a Way of Life for HTLV-I. **J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.** 13 Suppl 1: S92-S99, 1996.

WOLFE N.D., HENEINE W., CARR J.K., GARCIA A.D., SHANMUGAM V., TAMOUFE U., TORIMIRO J.N., PROSSER A.T., LEBRETON M., MPOUDI-NGOLE E., MCCUTCHAN F.E., BIRX D.L., FOLKS T.M., BURKE D.S., SWITZER W.M. Emergence of Unique Primate T-Lymphotropic Viruses Among Central African Bushmeat Hunters. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 102: 7994-7999, 2005.

YAMAGUCHI T., OHSHIMA K., KARUBE K., TUTIYA T., KAWANO R., SUEFUJI H., SHIMIZU A., NAKAYAMA J., SUZUMIYA J., MOROI Y., URABE K., FURUE M., KOGA T., KIKUCHI M. Clinicopathological Features of Cutaneous Lesions of Adult T-Cell Leukaemia/Lymphoma. **British J. Dermatol.** 152: 76-81, 2005.

YANG Y.C., HSU T.Y., LIN R.H., SU I.J., CHEN J.I., YANG C.S. Resistance to tumor necrosis factor- α -induced apoptosis in human T-lymphotropic virus type I-infected T cell lines. **AIDS Res. Hum. Retrovir.** 18 (3): 207-212, 2002.

YANG X., JIN T., PRESS R., QUEZADA H.C., FREDRIKSON S. ZHU J. The expression of TNF- α receptors 1 and 2 on peripheral blood mononuclear cells in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. **J. Neuroimmunol.** 200: 129-132, 2008.

YE J., XIE L., GREEN P. Tax overlapping Rex sequences do not confer the distinct transformation tropisms of Human T-cell leukemia virus types 1 and 2. **J. Virol.** 77 (14): 7728-7735, 2003.

YOSHIDA Y., IKEMATSU S., MURAMATSU H., SAKAKIMA H., MIZUMA N., MATSUDA F., SONODA K., OHKUBO R., MATSUURA E., GOTO M., OSAME M., MURAMATSU T. Expression of the heparin-binding growth factor midkine in the cerebrospinal fluid of patients with neurological disorders. **Int. Med.** 1: 83-89, 2008.

ZIEMSEN T., KÜMPFELL T., KLINKERT W.E.F., NEUHAUS O., HOHLFELD R. Glatiramer acetate-specific Thelper 1 and 2-cell lines produce BDNF: implications for multiple sclerosis therapy. **Brain.** 125: 2381-2391.

ZLOTNIK A., YOSHIE O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. **Immunity**. 12: 121-127, 2000.

ZUCKER-FRANKLIN D., FRAIG M., GRUSKY G. Interaction of Human Immunodeficiency Virus Type 1, Human T-Cell Leukemia/Lymphoma Virus Type I (HTLV-I), and HTLV-II with in Vitro-Generated Dendritic Cells. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.** 2: 343-348, 1995.