

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE MEDICINA
MOLECULAR

AVALIAÇÃO DE INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO
VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANO TIPO 1
POR TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE PÓSITRONS,
CITOCINAS, QUIMIOCINAS E CARGA PROVIRAL

LUIZ CLÁUDIO FERREIRA ROMANELLI

BELO HORIZONTE

2017

LUIZ CLÁUDIO FERREIRA ROMANELLI

AVALIAÇÃO DE INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO
VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANO TIPO 1
POR TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE PÓSITRONS,
CITOCINAS, QUIMIOCINAS E CARGA PROVIRAL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação de Medicina Molecular da Faculdade de Medicina da UFMG como requisito para obtenção do grau de Doutor em Medicina Molecular.

Orientador: Prof. Rodrigo Nicolato
Co-Orientadoras: Prof^a. Débora Marques de Miranda; Prof^a. Anna Bárbara de Freitas Carneiro Proietti.

Belo Horizonte

2017

Romanelli, Luiz Cláudio Ferreira.
R758a Avaliação de indivíduos infectados pelo Vírus Linfotrópico de Células T Humano Tipo 1 por tomografia por emissão de pósitrons, citocinas, quimiocinas e carga proviral [manuscrito] / Luiz Cláudio Ferreira Romanelli. - - Belo Horizonte: 2017.
106f.: il.
Orientador (a): Rodrigo Nicolato.
Co-orientador (a): Débora Marques de Miranda.
Co-orientador (a): Anna Bárbara de Freitas Carneiro Proietti.
Área de concentração: Medicina Molecular.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Vírus 1 Linfotrópico T Humano. 2. Paraparesia Espástica Tropical. 3. Tomografia por Emissão de Pósitrons. 4. Dissertações Acadêmicas. I. Nicolato, Rodrigo. II. Miranda, Débora Marques de. III. Proietti, Anna Bárbara de Freitas Carneiro. IV. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. V. Título.

NLM: QW 168

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor: Prof. Jaime Arturo Ramirez

Vice-reitora: Prof^ª. Sandra Regina Goulart Almeida

Pró-reitora de Pós-graduação: Prof^ª. Denise Maria Trombert de Oliveira

Pró-reitor de Pesquisa: Prof. Ado Jório de Vasconcelos

Faculdade de Medicina

Diretor: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Vice-diretor: Prof. Humberto José Alves

Coordenador do Centro de Pós-graduação: Prof. Luiz Armando C. de Marco

Subcoordenador do Centro de Pós-graduação: Prof. Edson Samesima Tatsuo

Programa de Pós-graduação Medicina Molecular

Coordenador: Prof. Luiz Armando Cunha de Marco

Membros do Colegiado da Pós-graduação

Prof. Andy Petroianu

Prof^ª. Ana Cristina Simões e Silva

Prof^ª. Carolina Cavalieri Gomes

Prof. Humberto Correa da Silva

A minha esposa Roberta e meu filho Lucas,
com todo amor e carinho.

“O saber a gente aprende com os mestres
e os livros. A sabedoria se aprende é com
a vida e com os humildes.”
Cora Carolina

AGRADECIMENTOS

A todos que tornaram possível a execução deste trabalho, em especial meus orientadores, pela atenção, dedicação, estímulo e que supriram com conhecimento e experiência às minhas dúvidas e dificuldades.

Aos funcionários e colegas do Serviço de Pesquisa da Fundação Hemominas e do CiMol, pelo apoio e colaboração indispensáveis para que este trabalho pudesse ser realizado.

Aos professores e pesquisadores do Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em HTLV (GIPH) fonte contínua de conhecimento e estímulo.

Aos participantes da Coorte GIPH e outros pacientes que contribuíram para que este estudo pudesse acontecer, desprendidos de tempo, dificuldades de deslocamento, do seu próprio corpo e da mente, nas dúvidas e incertezas que a doença traz, fonte de sabedoria e confortados na busca de encontrar um tratamento não somente para si, mas para todos os acometidos.

Em especial agradeço a minha esposa Roberta pelo incentivo, carinho e colaboração, assumindo parte das minhas atividades familiares para que sobrasse mais tempo para o término deste trabalho. Ao Lucas agradeço sua compreensão, alegria e entusiasmo, fonte de energia para continuação e finalização desta missão. Aos meus pais agradeço a dedicação, carinho, estímulo e exemplo de vida que permanecem mesmo na ausência provocada pela morte ou pela doença, sentimentos que serão eternos.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	Asymptomatic Group
18F-FDG	18 fluorodesoxiglicose
18F-FDG-ET	18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography
ATL	Adult T-cell leukemia/lymphoma
BBB	Blood-brain Barrier
CG	Control Group
CiMol	Centro de Imagem Molecular
CNS	Central Nervous System
FH	Fundação Hemominas
GIPH	Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em HTLV
GLUT-1	Glucose transporter 1
HAM	HTLV-1 associated myelopathy
HAM/TSP	HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis
HBV	Vírus da hepatite B
HCV	Vírus da hepatite C
HG	HAM/TSP Group
HIV	Vírus da Imunodeficiência Adquirida
HLA	Human leukocyte antigen
HS	Heparan Sulfate
HSPG	Heparan Sulfate Proteoglycans
HTLV-1	Human T cell Lymphotropic Virus type 1
INCT-MM	Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Medicina Molecular
NRP-1	Neuropilin 1
NVU	Neurovascular Unit
PET/CT	Positron Emission Tomography/Computed Tomography
SG	Symptomatic Group
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
SU	Surface Unit
SUV	Standard Uptake Value
TC	Tomografia Computadorizada

TSP	Tropical Spastic Paraparesis
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
WB	Western Blot
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
	Referências.....	13
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	15
2.1	Artigo de revisão.....	15
	Referências.....	27
3	OBJETIVOS E HIPÓTESES.....	31
3.1	Objetivo geral.....	31
3.2	Objetivos específicos e hipóteses.....	31
4	MÉTODOS.....	33
4.1	Desenho do estudo.....	33
4.2	Local, população e período do estudo.....	33
4.3	Critérios de inclusão.....	34
4.4	Critérios de exclusão.....	34
4.5	Protocolo do estudo.....	34
4.5.1	Aprovação do projeto no Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).....	34
4.5.2	Primeira etapa – Fase clínica.....	34
4.5.3	Segunda etapa – Coleta e realização exames complementares.....	35
4.5.4	Terceira etapa – Aquisição, organização e análise dos resultados.....	36
4.5.5	Quarta etapa – Orientação aos participantes.....	38
4.6	Desfecho Clínico de Interesse.....	38
4.7	Definições.....	39
4.7.1	Grupo HAM/TSP (HG).....	39
4.7.2	Grupo sintomático sem critério definido para HAM/TSP.....	39
4.7.3	Grupo assintomático.....	40
4.7.4	Grupo controle.....	40
4.7.5	Escala expandida do estado de incapacidade (EDSS).....	40
4.7.6	Geriatric depression scale - 15 itens (GDS - 15).....	40
4.7.7	Tomografia por emissão de pósitrons/Tomografia computadorizada.....	40

4.7.8	Flúor 18-Fluorodesoxiglicose (18F-FDG).....	41
4.7.9	Índice padronizado de captação/standardized uptake value (SUV).....	41
4.8	Análise estatística.....	42
4.9	Metodologia da revisão da literatura.....	42
4.10	Financiamento.....	42
	Referências.....	44
5	RESULTADOS.....	45
5.1	Artigo original	44
	Referências	71
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	74
7	ANEXOS.....	80
8	APÊNDICES.....	93

1. INTRODUÇÃO

O vírus linfotrópico de células T humana tipo 1 (HTLV-1) é um retrovírus endêmico em algumas regiões do planeta. A maior prevalência da infecção pelo HTLV-1 em grupos populacionais distintos é atribuída principalmente às vias de transmissão, vertical e sexual, em associação a rotas migratórias transcontinentais ocorridas no decorrer de milhares de anos.¹ É difícil estimar a real prevalência da infecção pelo HTLV-1 no mundo por existirem poucos estudos populacionais, sendo a maioria dos estudos baseados em populações específicas, como doadores de sangue, gestantes e outros grupos que podem sub ou superestimar a real prevalência desta infecção, estimada a comprometer 10 a 20 milhões de pessoas mundialmente.² As rotas de origem do HTLV-1 ao Brasil ocorreram em três momentos distintos: durante a migração da Ásia para América do Norte pelo Estreito de Beringa milhares de anos atrás e conseqüentemente para América do Sul; em um segundo momento através do tráfico de escravos durante a colonização portuguesa; e na migração japonesa da primeira metade do século passado.¹

O Brasil é considerado uma das áreas endêmicas da infecção pelo HTLV-1, com taxa de prevalência considerada média, entre 1-2 % da população geral, com distribuição heterogênea nas diversas regiões do país, mas suficiente para ser considerado o país com a maior população de infectados no mundo. A infecção é mais prevalente em populações com níveis socioeconômicos e culturais mais baixos e origem afrodescendente.^{3,4} No entanto, o país não possui políticas públicas de saúde para diagnóstico, atendimento e tratamento da população infectada pelo HTLV, o que contribui para que grande parte dos profissionais da saúde e da população continuem desconhecendo a infecção e as doenças associadas ao HTLV-1.⁵

O HTLV-1 foi descrito inicialmente como um oncovírus, isolado de uma cultura de linfócitos de um paciente com linfoma cutâneo de células T do adulto (ATL) em 1980.⁶ Posteriormente, foi associado a uma doença neurológica que cursa com uma mielopatia, Gessain et al., 1985 (paraparesia espástica tropical)⁷ e Osame et al., 1986 (mielopatia associada ao HTLV-1)⁸, que foram definidas como a mesma doença por Román e Osame, 1988, com a denominação de HTLV-1 *associated myelopathy/tropical spastic paraparesis* (HAM/TSP).⁹ Com o passar dos anos, além

destas duas doenças clássicas e inicialmente associadas ao HTLV-1, ATL e HAM/TSP, outras foram também associadas, destacando-se: as síndromes inflamatórias (uveíte, artropatia, polimiosite, Sjögren, etc) e infecciosas (estrongiloidiase, escabiose, dermatite infecciosa, hanseníase e tuberculose).^{2,10}

Em relação ao acometimento neurológico decorrente da infecção pelo HTLV-1, atualmente, existem evidências suficientes para não considerar a HAM/TSP como a única manifestação neurológica da infecção. O comprometimento de todos os segmentos do sistema nervoso central (SNC) e do sistema nervoso periférico (SNP), não somente do segmento medular torácico, tem sido demonstrado em várias publicações ao longo do tempo.¹¹ Mesmo assim, os critérios ainda utilizados para o diagnóstico de doença neurológica associado ao HTLV-1 são os inicialmente descritos pela World Health Organization (WHO), 1988 ou propostos por Castro-Costa, et al., 2006.^{11,12} Estes critérios são adequados para o diagnóstico da HAM/TSP, mas insuficientes para o diagnóstico de outros comprometimentos neurológicos associados ao HTLV-1. A impressão de que o HTLV-1 tem baixa morbidade neurológica pode decorrer desta falta de critérios diagnósticos para outros comprometimentos que não preenchem os critérios definidos para HAM/TSP.^{13,14}

Existem várias teorias sobre os mecanismos fisiopatológicos no desenvolvimento da HAM/TSP, no entanto, a mais aceita é a de um processo inflamatório crônico, progressivo, desmielinizante, citotóxico, induzido pelo tipo e intensidade da resposta imunológica individualizada do hospedeiro ao vírus. Esse processo inflamatório seria precedido pela perda do controle imunológico e aumento da carga proviral. Os portadores da HAM/TSP teriam uma resposta pró-inflamatória, tipo Th1, com desequilíbrio imunológico, quebra da barreira hematoencefálica e passagem de linfócitos infectados, provírus, para dentro do SNC, com produção de citocinas e quimiocinas inflamatórias e subsequente dano local.¹⁵ Estudos genéticos correlacionam como fatores de risco ou proteção alguns antígenos leucocitários humanos (HLA) específicos, podendo explicar inclusive uma maior prevalência de doenças associadas ao HTLV-1 em alguns grupos familiares.¹⁶ Em parte, essa teoria pode explicar como uma infecção crônica, ao longo de décadas, provocaria doença somente em parte dos infectados pelo HTLV-1. Outros fatores, quando presentes, também são considerados como de maior risco para o desenvolvimento destas doenças: sexo feminino, carga

proviral elevada no sangue e principalmente no líquido.¹⁷ No entanto, até o momento, não foram definidos marcadores biológicos, inclusive os acima citados, que contribuam de forma efetiva e sejam marcadores específicos na determinação e definição de doença associada ao HTLV-1.^{18,19}

Este estudo foi desenvolvido com a finalidade de avaliar o real grau de comprometimento neurológico determinado por esta infecção através de uma avaliação metabólica pela tomografia por emissão de pósitrons. Outros marcadores biológicos já estudados e descritos na literatura, carga proviral e perfil imunológico no sangue e no líquido, foram também estudados.

De acordo com as normas do Curso de Pós-Graduação em Medicina Molecular, esta tese está sendo apresentada em duas partes distintas e complementares em formato de artigo. A primeira é constituída pelos seguintes tópicos: revisão da literatura com introdução de pontos ainda não esclarecidos ou pouco mencionados e com provável relevância, sob formato de artigo de revisão, denominado: “Proposta para o diagnóstico sindrômico e topográfico da HAM/TSP, com base na apresentação clínica da doença e conhecimento na literatura.” Segue após o artigo de revisão: objetivos, amostra e métodos. A segunda parte engloba resultados, discussão, conclusões e será apresentada no formato de um artigo original: “Predição da HAM/TSP pela 18-F FDG PET/CT, carga proviral, citocinas e quimiocinas no sangue e no líquido. Por fim, as considerações finais, anexos e apêndices. As referências bibliográficas estão dispostas ao final de cada artigo ou seção. Para as citações do texto foi utilizado o sistema denominado Vancouver (*Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication* - www.icmje.org).

REFERÊNCIAS

1. Sonoda S, Li HC, Tajima K. Ethnoepidemiology of HTLV-1 related diseases: Ethnic determinants of HTLV-1 susceptibility and its worldwide dispersal. *Cancer Sci* 2011; 102(2): 295–301.
2. Verdonck K, González E, Dooren SV, Vandamme AM, Vanham G, Gotuzzo E. Human T-lymphotropic virus 1: recent knowledge about an ancient infection. *Lancet Infect Dis* 2007; 7: 266–81.
3. Proietti FA, Carneiro-Proietti ABF, Catalan-Soares B, Murphy EL. Global epidemiology of HTLV-I infection and associated diseases. *Oncogene* 2005; 24: 6058–6068.
4. Catalan-Soares B, Carneiro-Proietti ABF, Proietti FA. 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 Pública* 2005; 21(3): 926-931.
5. Casseb J. Is Human T Cell Lymphotropic Type 1 (HTLV-1)- Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis (HAM/TSP) Syndrome a Neglected Disease? *Plos* 2009; 3(11): 487.
6. Poiesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, Bunn P, Minna JD, Gallo RC. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 7415-19.
7. Gessain A, Barin F, Vernant JC, Gout O, Maurs L, Calender A, et al. Antibodies to human T lymphotropic virus type I in patients with tropical spastic paraparesis. *Lancet* 1985, 2:407-410.
8. Osame M, Usuku K, Izumo S, Ijichi N, Amitani H, Igata A, et al. HTLV-I associated myelopathy: a new clinical entity. *Lancet* 1986;1:1031-1032.
9. Román GC, Osame M. Identity of HTLV-I-associated tropical spastic paraparesis and HTLV-I-associated myelopathy. *Lancet* 1988;1 (8586):651.
10. Romanelli LC, Caramelli P, Carneiro-Proietti ABF. Human Tcell Lymphotropic Virus (HTLV) 1: when should infection be suspected? *Rev Assoc Med Bras.* 2010; 56(3): 340-7.

11. World Health Organization. Report of the scientific group on HTLV-I and associated diseases, Kagoshima, Japan, December 1988: Virus diseases. Human T lymphotropic virus type I, HTLV-I. *Wkly Epidem Rec.* 1989; 49: 382-383.
12. Castro-Costa CM, Araújo AQ, Barreto MM, Takayanagui OM, Sohler MP, da Silva EL, et al. Proposal for diagnostic criteria of tropical spastic paraparesis/HTLV-I-associated myelopathy (TSP/HAM). *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2006; 22(10): 931-5.
13. Araujo AQC, Silva MTT. The HTLV-1 neurological complex. *Lancet Neurol.* 2006; 5: 1068–76.
14. Souza A, Tanajura D, Toledo-Cornell C, Santos S, Carvalho EM. Immunopathogenesis and neurological manifestations associated to HTLV-1 infection. *Rev Soc Bras Med Trop.* 45(5): 545-552, Sep-Oct, 2012.
15. Fuzii HT, Dias GAS, Barros RJS, Falcão LFM, Quaresma JAS. Immunopathogenesis of HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *Life Sciences* 2014; 104: 9–14.
16. Alvarez C, Gotuzzo E, Vandamme AN, Verdonck K. Family aggregation of Human T-lymphotropic Virus-1 associated diseases: a systematic review. *Front Microb.* 2016; 7: 1674.
17. Carod-Artal FJ. Immunopathogenesis and treatment of the myelopathy associated to the HTLV-I virus. *Rev Neurol.* 2009; 48 (3), pp. 147-155.
18. Martins ML, Guimarães JC, Ribas JG, Romanelli LCF, Carneiro-Proietti ABF. Long-term follow-up of HTLV-1 proviral load in asymptomatic carriers and in incident cases of HAM/TSP: what is its relevance as a prognostic marker for neurologic disease? *J Neurovirol.* 2016; published online: 27.
19. Chaves DG, Sales CC, Gonçalves PC, Silva-Malta MCF, Romanelli LCF, Ribas JG, et al. Plasmatic Proinflammatory Chemokines Levels Are Tricky Markers to Monitorin HTLV-1 Carriers. *J Med Virol.* 2016; 88: 1438–47.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Artigo de revisão

CONSIDERATIONS ABOUT SYNDROMIC AND TOPOGRAPHICAL DIAGNOSIS OF HTLV-1 ASSOCIATED MYELOPATHY (HAM/TSP)

Romanelli LCF^{1,2}, Miranda DM^{1,4}, Carneiro-Proietti ABF², Martins ML², Nicolato R^{1,3}.

¹ Molecular Medicine Postgraduate Program (INCT-MM), Federal University of Minas Gerais (UFMG), Brazil

² HTLV-1 Interdisciplinary Research Group (GIPH), Hemominas Foundation, Belo Horizonte, Brazil

³ Health Mental Department of Federal University of Minas Gerais (UFMG), Brazil

⁴ Pediatrics Department of Federal University of Minas Gerais (UFMG), Brazil

Abstract

For the last 30 years, Human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) has been isolated and associated with neoplastic, inflammatory and infectious diseases. The HTLV Interdisciplinary Research Group (GIPH cohort) has clinically followed HTLV-1 infected individuals since 1997. From high prevalence areas, it is known that the neurological disorder associated with HTLV-1 comprises HTLV-1 associated myelopathy (HAM/TSP) or any other isolated symptoms.

Based on our observations, and in association with other information published in literature over these years, we review and propose a syndromic and topographical diagnosis concept for HAM/TSP, myelopathy characterized clinically by spastic paraparesis associated with autonomic dysfunction, pain, which develops after a long period of HTLV-1 infection, most commonly in the third and fourth decades of life and in women. This topographic and syndromic HAM/TSP diagnosis allows us to differentiate it from other infectious, inflammatory and nutritional myelopathies. We

believe that the initial pathophysiological process of central nervous system (CNS) impairment by HTLV-1 may be due to microvasculopathy and consequent blood-brain barrier (BBB) breakdown and immune-mediated mechanisms would increase neuronal injury after BBB breakdown.

This diagnostic proposal allows us to explain neurological symptoms and signs that do not meet defined HAM/TSP diagnostic criteria. The concept of low HTLV-1 morbidity in humans can be modified if neurological isolated symptoms and signs are more easily diagnosed and associated with virus, and this would result in a more effective design of public health policies.

Keywords: Diagnosis, differential; HTLV-associated myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis (HAM/TSP); Human T-cell leukemia virus type-I; physiopathology; Spinal cords disease.

Introduction

For the last 30 years, the Human T-cell Lymphotropic Virus type 1 (HTLV-1) was identified as an infectious agent in humans and was associated with oncological, neurological and systemic diseases.¹⁻³ But the infection of humans by this virus can be tracked back thousands of years, resulting in many years of interaction and adaptation between the agent and the host.⁴

The initial impression was that the HTLV-1 associated diseases were of low prevalence. Neurological diseases associated with HTLV-1 seem to affect only 5 % of those infected, what has been questioned in studies published in literature and by research groups that follow infected individuals. There are many doubts about how other neurological manifestations that do not meet the criteria for the diagnosis of HAM/TSP should be taken into account.⁵

There is evidence that HTLV-1 affects the nervous system in the brain, in the spinal cord and peripheral segments.⁶ Myelopathy has been considered the most serious neurological disease related to HTLV, but other less severe neurological impairments are also present in infected individuals.^{4,6}

Through the knowledge available in literature and the twenty years of experience in Interdisciplinary HTLV Research Group – GIPH cohort, this review aimed to compile and add new concepts about HTLV-1 infection in humans, reinterpreting the in the area as it is.

The World Health Organization (WHO)⁸ and Castro-Costa's⁹ HAM/TSP diagnostic criteria, defined in 1989 and 2006, respectively, are the criteria used to define neurological disease associated with HTLV-1. These two criteria fail to clearly define neurological impairments that do not meet the criteria for HAM/TSP. Consequently, these neurological impairments associated with HTLV-1 that do not meet the criteria for HAM/TSP are not taken into account and this fact may contribute to the impression of low neurological morbidity associated with this infection.

We intend to demonstrate in this review that clinical symptoms, signs, disease progression, anatomical involvement and pathological mechanisms of neurological impairment by HTLV-1 are distinctive from other infectious, metabolic or toxic myelopathies.

Methodology

This is a narrative review of the literature, which seeks to clarify how and why a systemic infection affects the thoracic spinal cord preferentially. The literature review was based on the following topics: HAM/TSP autopsy studies; spinal cord anatomy; HTLV-1 infection and neurological diseases; and other acquired myelopathies. The articles of interest were selected using the following descriptors and filters: descriptors (Human T-lymphotropic virus 1; HTLV-I Infections; paraparesis, tropical spastic; HTLV-I associated myelopathie; autopsy; spinal cord; anatomy; pathology; spinal cord diseases) and filters (human; English, Spanish or Portuguese language; abstract).

HTLV-1 associated myelopathy clinical presentation and anatomical correlates

HTLV-1 was associated to the tropical spastic paraparesis (TSP) by Gessain et al in 1985¹ and to the HTLV-1 associated myelopathy (HAM) by Osame et al in 1986.² Román & Osame concluded that these were the same disease in 1988, at that time called HAM/TSP.³ Since then, HAM/TSP became the classical neurological manifestation associated with this infection, with diagnostic criteria defined by WHO in 1989⁷ and reviewed by Costa et al. in 2006.⁸ These two diagnostic criteria are important for guiding the HAM/TSP diagnosis, but, since their elaboration, many studies have shown that neurologic impairment reaches other segments of the nervous system.^{5,6}

HAM/TSP is characterized by spastic paraparesis, often asymmetric, with the presence of pyramidal signs.⁹ Urinary, sexual and bowel dysautonomic symptoms are usually present and can be the first symptoms of myelopathy.¹⁰⁻¹² Patients with myelopathy often complain of nociceptive and neuropathic pain in the low back and lower limbs.⁵

The first autonomic and motor symptoms suggest an initial impairment of the middle and the lower thoracic level of spinal cord. There is a degeneration of the lateral corticospinal tract. Autopsy studies showed that the primarily affected regions in HAM/TSP are the 'watershed' zones of the spinal cord.¹³⁻¹⁵ Spinal cord regions are disproportionately vascularized, resulting in a heterogeneous blood supply through the cord. The thoracic region of spinal cord has a larger peripheral vascular distribution

than the central area. In the lower thoracic region, before the vessels merging point, the anterior spinal artery becomes so thin that it may be indistinguishable from other arteries. There are few central arteries in the thoracic region, and the blood supply is scarcer than in the cervical and lumbosacral regions. A central artery in the thoracic region provides a blood flow through a distance around 3.0 cm. In the cervical region, central artery blood flow covers no more than 1.2 cm, and in the lumbosacral region, no more than 1.7 cm. Considering the vasculature of the spinal cord, the white matter is not served by capillary flow as the gray matter is. In fact, the density of the capillary flow is five times greater in gray matter than in white matter.¹⁶ Besides, morphologically, the thoracic cord below T6 has proportionally more white than gray matter.¹⁷ These anatomical peculiar aspects of vascularization of the thoracic cord, especially in the white matter, suggest a scarce blood supply in this region. The reduced blood flows in the white matter of the middle and lower thoracic cord may be one of the main risk factors for the development of the spinal cord impairment associated with HTLV-1. Figure 1 summarizes the anatomy and vascularization of the thoracic cord below T6.

The lateral corticospinal fibers are arranged somatotopically, with the more medial fibers representing higher segments of body. Considering this distribution, proximal muscles of the lower limbs are more likely to be affected in the earliest stages of myelopathy. The lateral corticospinal and rubrospinal tracts stimulate the flexor motor neurons and inhibit extensor motor neurons. Reticulospinal and fastigiospinal fibers help maintain posture. These fibers tend to excite extensors and inhibit flexor motor neurons and they are important for maintaining posture; compromising these fibers can cause postural and gait disorders. The raphespinal fibers help to modulate the transmission of nociceptive information in the spinal levels and their impairment may be related to the painful symptoms often seen in HTLV-1 infected individuals. The hypothalamospinal fibers modulate general visceral efferent motor neurons of the intermediary lateral column cells.¹⁷ The involvement of these tracts and fibers located in the most medial portion of the lateral funiculus explain bowel, urinary and sexual disturbs, which are usually the first signs and symptoms observed in HAM/TSP. In addition, other tracts with more peripheral location in the lateral column, as the anterior and posterior spinocerebellar tracts, as well as the anterior and posterior columns of the medulla, are not commonly affected in the HAM/TSP.

The initial clinical presentation, pathological findings and vascular anatomy of the spinal cord suggest an involvement of the central portion of the lateral columns, as a syndromic and topographic localization the initial pathophysiological process of HAM/TSP. The progression of HAM/TSP in relation to topographic impairment suggests a commitment in less vascularized areas of the most central portion of the lateral columns, corresponding to the watershed areas. This topography, as well as peculiarities of the initial clinical presentation, differs HAM/TSP from other metabolic, nutritional, infectious and hereditary myelopathies. Table 1 summarizes topographic, syndromic and clinical myelopathy characteristics to guide the differential diagnosis with HAM/TSP.¹⁸ The positive HTLV-1 serologic confirmation, symptoms, signs and clinical course of the myelopathy are important information in the differentiation of HAM/TSP and other myelopathies. In most cases, HAM/TSP presents, clinically, a slow and chronic evolution, from months to years. Occasionally, there are individuals who course with regression or stabilization of signs and symptoms in the initial phase of HAM/TSP. However, the vast majority of them have a progressive worsening of neurological impairment.

Blood-brain barrier breakdown in HAM/TSP pathogenesis

The central nervous system (CNS) functions are maintained by the highly coordinated activity of multiple cell types within the neurovascular unit (NVU), which includes vascular cells (endothelial, pericytes and smooth muscle cells), glia (astrocytes, oligodendroglia and microglia cells), and neurons. Within the NVU, the endothelial cells form the blood-brain barrier (BBB) that limits entry of potentially neurotoxic components from plasma, immune blood cells, and pathogens into CNS. Furthermore, these endothelial cells express multiple substrate-specific transport systems that control transport of nutrients, energy, metabolites, and other essential molecules from blood into the CNS and the transport of metabolic waste products from the interstitial fluid of CNS into blood.¹⁹

Cellular factors are involved in HTLV-1's entry into specific cells in the CNS. In infected individuals, HTLV-1 is primarily found in CD4+ T cells, but other hematopoietic, synovial and glial cells are also infected. Jones et al. propose three steps

for HTLV-1 entry in the cell.²⁰ First, virus attachment is mediated through interaction of HTLV-1 surface unit (SU) with heparan sulfate (HS) chains, most likely on cell surface heparan sulfate proteoglycans (HSPG). In a second step, HSPG that interacts with HTLV-1 SU also interacts with Neuropilin 1 (NRP-1). Lastly, stable binding of the HTLV-1 SU to HSPGs/NRP-1 complexes triggers conformational changes within the SU, allowing glucose transporter 1 (GLUT-1) binding, which allows entry of the HTLV-1 core in the cell cytoplasm.²⁰ It has been shown that HSPGs and NRP-1 cooperate functioning as co-receptors for the pro-angiogenic vascular endothelial growth factor (VEGF). VEGF induces microvascular permeability and plays a central role in angiogenesis. VEGF regulation is critical to angiogenesis in physiological and pathological conditions. Normally, the CNS has low VEGF expression.^{21,22} As previously discussed, low blood supply to the thoracic cord, particularly in the watershed areas, could be responsible for higher expression of angiogenic factors and facilitate HTLV-1 entry through blood-brain barrier cells of this region. Afonso et al. observed that human brain endothelial cells could be infected in vitro by HTLV-1, with consequent alterations in the BBB and its breakdown. The breakage of BBB results in migration of lymphocytes into the CNS and the subsequent immune responses responsible for demyelination and axonal degeneration.²³

Other HAM/TSP risk factors

Currently, the interaction between HTLV-1 and the host's immune response are considered a major factor in the pathogenesis of HAM/TSP. In this aspect, multiple factors emerged and can result in a high proviral load and a pro-inflammatory immune response observed in infected individuals who develop HAM/TSP. Among these factors, some should be highlighted: transmission route, gender, time of infection, reinfection and type of host immune response.²⁴ Transmission route may influence the acute or long-term immune response (blood>vertical>sexual).²⁴ The reason why HAM/TSP is three times more common in females than in males has not yet been clarified. One possible explanation for the fact that HAM/TSP develops more often in women may be related to the means of route transmission of HTLV-1. Sexual route is the most common and with greater risk of transmission for women, who may also have

an even increased risk for reinfection. Type of host immune response seems to relate their HLA haplotypes, some considered protective (HLA*02; CW*08) and other at risk (DRB1*0101).²⁴

Other neurological and systemic disorders described in HTLV-1 infection

Several other neurological and systemic diseases have been related to HTLV-1 infection: adult T-cell lymphoma (ATL), amyotrophic lateral sclerosis, polymyositis, inclusion corpuscle myositis, fibromyalgia, depression, erectile and urinary dysfunction, arthritis, synovitis, dermatological, ophthalmologic, lacrimal and salivary gland involvement.²⁵

Peripheral nervous system and neuromuscular impairment may occur in HTLV-1 infection, independently of the diagnosis of HAM/TSP. Electroneuromyography studies show polyneuropathy in 50% of patients with HAM/TSP.^{26,27} Autonomic nervous system involvement has also been evidenced clinically or through compliant tests on HTLV-1 infected individuals with and without HAM/TSP.²⁸ Cognitive impairment was also evidenced in HTLV-1 infected patients, regardless of the diagnosis of HAM/TSP. This diagnosis is observed through neuropsychological assessments, since it does not meet criteria for dementia, but courses with an impact on the functional performance of those infected.²⁵

Other central nervous system segments have been observed in complementary imaging findings of HTLV-1 infected individuals. Non-specific white matter lesions of the brain on magnetic resonance, T2-weighted images, have been observed in higher proportion in HTLV-1 infected individuals with or without HAM/TSP.^{29, 30} Studies with brain and spinal evoked potentials have also shown neurological impairment in HAM/TSP and non-HAM/TSP HTLV-1 infected individuals, in relation to uninfected controls.³¹ Taniguchi et al., using fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography (18F-FDG-PET), observed that glucose metabolism in the watershed areas between middle and posterior cerebral arteries in the occipital lobes was significantly lower in patients with HAM/TSP in relation to controls.³²

Discussion

Based on the current knowledge in relation to HTLV-1 infection in humans, we may consider the inclusion of important concepts. The correlation between clinical presentation, anatomical studies and vascular distribution of thoracic spinal cord informs how and why a systemic infection would cause an initial, localized and specific neurological impairment in this segment of CNS.¹³⁻¹⁷ Reduced blood flow in the middle and lower thoracic cord segments are well documented in literature and their association with the pathogenesis of HAM/TSP has previously been mentioned by Johson since 1998.³³ Furthermore, some anatomopathological studies have identified watershed areas involved initially in pathogenesis of HTLV on the CNS.¹³⁻¹⁴ Thus, we deduce that macro and microcirculation may have an important role in the development of the disease in this specific CNS segment. Based on this discussion, we believe that the development of HAM/TSP is related to specific characteristics of the vascular blood supply of the thoracic spinal cord. Findings on brain magnetic resonance of white matter T2 hypersignal in HTLV-1 infected individuals are suggestive of microcirculation impairment, too. New therapeutic strategy can be considered with microcirculatory involvement in the initial pathogenesis process of HTLV-1 diseases in humans. Earlier clinical trials showed HAM/TSP therapeutic response with use of pentoxifyline, a drug to treat peripheral artery disease, supporting this association.³⁴

There are still many questions to be answered regarding HTLV-1 infection in humans, but we have advanced the understanding of the pathophysiological mechanisms involved in HAM/TSP. Would the areas of low perfusion and higher expression of VEGF from CNS be more vulnerable to HTLV-1 entry and BBB breakdown, with subsequent CNS immune exposition, secondary demyelination and axonal degeneration? More empirical studies are deeply required. Another important point for consideration is that mild or isolated CNS symptoms (mild cognitive impairment, fatigue, pain, urinary and sexual dysfunction, and others) can already be considered diseases associated with HTLV-1, if the infection is confirmed and other possible causes are excluded. The true impact of these mild or isolated symptoms on the daily life of HTLV-1 infected individuals is not yet well-defined, but we observed that they are sufficient to damage the performance of our patients in work and social

activities and it is very important that these symptomatic individuals have their diagnosis correctly done.³⁵

The syndromic and topographic diagnosis proposed in this article, as well as microcirculatory involvement in the pathogenesis of the neurological diseases associated with HTLV-1 bring perspectives for future studies.

Conflicts of Interest

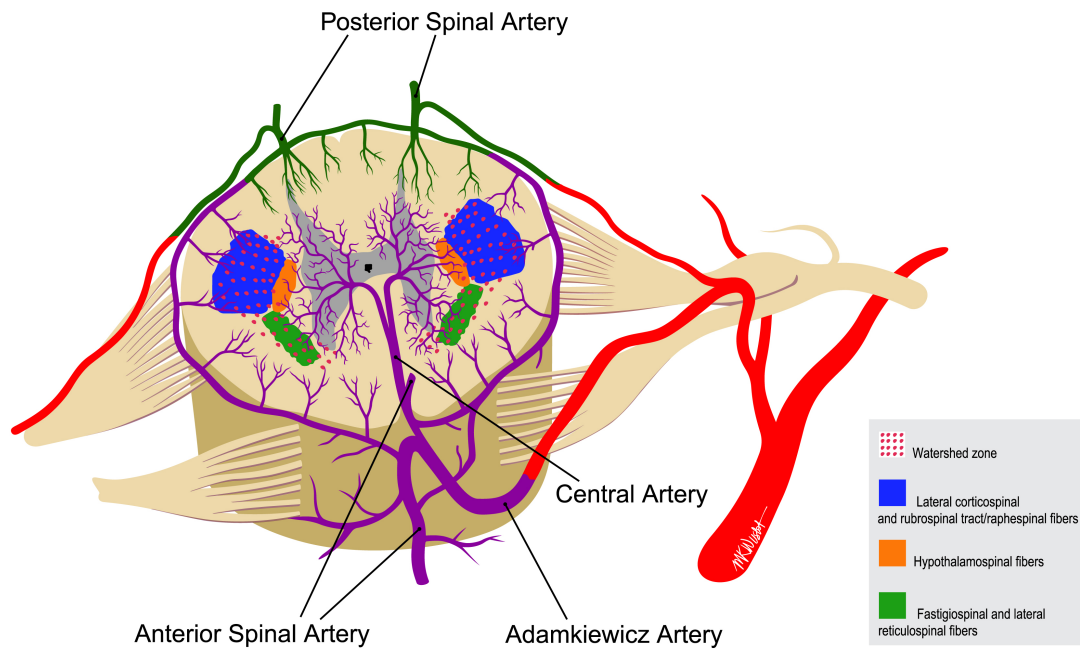
The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Acknowledgements

The authors thank Dr. Nicholas Theodore, MD, for his permission to use and modify figure IM 00576-01.

Authors' contributions

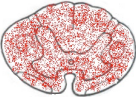
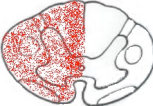

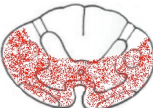
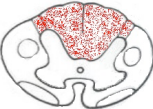
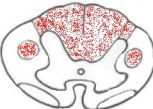
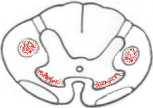
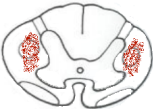
Romanelli LCF contributed with the design of the work, data acquisition, interpretation, drafting and critical revision of the manuscript. Miranda DM, Carneiro-Proietti ABF, Martins ML and Nicolato R contributed with data acquisition and critical revision of the manuscript. All authors gave their approval on the final version of the manuscript and take accountability for all aspects of the work.



Vascularization of lumbar spinal cord. Contribution of the ASA and PSA in supplying the blood to the spinal cord. Modified with permission from Nicholas Theodore, M.D.

Figure 1 - The figure highlights the watershed zone in the central part of the lateral funiculus.¹⁶

Table 1. Differential diagnosis of myelopathies.

Topographic spinal cord syndromes	Illustration	Clinical symptoms	Diseases and presentation
Complete		- Complete loss of spinal cord function below the affected segment with pyramidal, sensory and autonomic dysfunction	- Acute compressive lesion - Necrotizing myelitis - Trauma (acute)
Brown-Séquard		- Loss of pain and temperature sense on the side of the lesion - Pyramidal weakness and loss of vibration and joint position sense the opposite side of the lesion	- Multiple sclerosis - Myelitis (viral; autoimmune) (subacute) - Compressive disorders (acute; subacute)
Central		- Autonomic dysfunction - Spinothalamic deficits - Pyramidal weakness below the level of the lesion	- Syringomyelia (chronic) - Optic neuromyelitis (acute)
Anterior		- Acute flaccid weakness - Spinothalamic dysfunction - Preserved dorsal column function	- Spinal artery occlusion (acute)
Posterior		- Isolated loss of vibration and joint position sense	- Neurosyphilis (Tabes dorsalis) (subacute; chronic)
Posterolateral		- Loss of vibration and joint position sense - Pyramidal involvement	- Vitamin B12, copper deficiency (subacute)
Other isolated tract involvements		- Isolated tract involvement other than dorsal columns - Cortico spinal tract is most commonly involved	- Paraneoplastic (subacute) - Motor neuron diseases (subacute; chronic)
Watershed zone anterior circulation		- Spastic paraparesis - Pyramidal signs - Urinary, sexual and bowel dysfunction - Low back and lower limbs pain	- HAM/TSP (chronic)

Definition of neurological impairment regarding its time of evolution: acute – of sudden installation to hours; subacute – days to weeks; chronic – months to years.¹⁸

REFERENCES

1. Gessain A, Barin F, Vernant JC, Gout O, Maurs L, Calender A, et al. Antibodies to human T lymphotropic virus type I in patients with tropical spastic paraparesis. *Lancet*. 1985;2: 407-10.
2. Osame M, Usuku K, Izumo S, Ijichi N, Amitani H, Igata A, et al. HTLV-I associated myelopathy: a new clinical entity. *Lancet*. 1986; 1:1031-2.
3. Román GC, Osame M. Identity of HTLV-I-associated tropical spastic paraparesis and HTLV-I-associated myelopathy. *Lancet*. 1988; 1:651.
4. Ujvari SC. A história da humanidade contada pelos virus, bactérias, parasitas e outros microorganismos. In Ujvari SC. São Paulo: Editora Contexto, 2015.
5. Souza A, Tanajura D, Toledo-Cornell C, Santos S, Carvalho EM. Immunopathogenesis and neurological manifestations associated to HTLV-1 infection. *Rev Soc Bras Med Trop*. 45(5): 545-552, Sep-Oct, 2012.
6. Romanelli LCF, Caramelli P, Carneiro-Proetti ABF. Human T cell lymphotropic virus (HTLV-1): when to suspect infection? *Rev Assoc Med Bras* 2010; 56 (3): 340-7.
7. World Health Organization. Report of the scientific group on HTLV-I and associated diseases, Kagoshima, Japan, December 1988: Virus diseases. Human T lymphotropic virus type I, HTLV-I. *Wkly Epidem Rec*.1989;49: 382-383.
8. De Castro-Costa CM, Araújo AQ, Barreto MM, et al. Proposal for diagnostic criteria of tropical spastic paraparesis/HTLV-I-associated myelopathy (TSP/HAM). *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2006; 22:931-5.
9. Franzoi AC, Araújo AQC. Disability and determinants of gait performance in tropical spastic paraparesis/HTLV-I associated myelopathy (HAM/TSP). *Spinal Cord* 2007; 45: 64–68.
10. Oliveira P, Castro NM, Carvalho EM. Urinary And Sexual Manifestations Of Patients Infected by HTLV-I. *Clinics* 2007; 62(2): 191-6.
11. Castro N, Oliveira P, Freitas D, Rodrigues Jr W, Muniz A, Carvalho E. Erectile dysfunction and HTLV-I infection: a silent problem. *Int J Impot. Res*. 2005; 17: 364–369.

12. Castro NM, Freitas DM, Rodrigues Jr W, Muniz A, Oliveira P, Carvalho EM. Urodynamic Features of the Voiding Dysfunction in HTLV-1 Infected Individuals. *Inter Braz J Urol.* 2007; 33 (2): 238-245.
13. Izumo S, Ijichi T, Higuchi I, Tashiro A, Takahashi K, Osame M. Neuropathology of HTLV-1-associated myelopathy- a report of two autopsy cases. *Acta Paediatr Jpn.* 1992; 34(3): 358-64.
14. Izumo S. Neuropathology of HTLV-1 associated myelopathy (HAM/TSP). *Neuropathology* 2010; 30: 480-85.
15. Osame M. Pathological mechanisms of human T-cell lymphotropic virus type I-associated myelopathy (HAM/TSP). *J Neurovirol.* 2002; 8 (5): 359-64.
16. Martirosyan NL, Feuerstein JS, Theodore N, Cavalcanti DD, Spetzler RF, Preul MC. Blood supply and vascular reactivity of the spinal cord under normal and pathological conditions. *J Neurosurg Spine* 2011; 15:238-51.
17. Haines DE, Mihailoff GA, Yezierski RP. Spinal Cord. In: Haines DE. *Fundamental neuroscience for basic and clinical applications.* Translation Varga VRS. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. Pp 174-76; 183-86.
18. West TW, Christopher Hess C, Cree BAC. Acute transverse myelitis: demyelinating, inflammatory and infectious myelopathies. *Semin Neurol* 2012; 32: 97–113.
19. Zhao Z, Nelson AR, Betsholtz C, Zlokovic BV. Establishment and Dysfunction of the Blood-Brain Barrier. *Cell* 2015; 163(5): 1064-78.
20. Jones KS, Lambert S, Bouttier M, Bénit L, Ruscetti FW, Hermine O and Pique C. Molecular Aspects of HTLV-1 Entry: Functional Domains of the HTLV-1 Surface Subunit (SU) and Their Relationships to the Entry Receptors. *Viruses* 2011; 3: 794-810.
21. Robinson CJ and Stringer SE. The splice variants of vascular endothelial growth factor (VEGF) and their receptors. *J Cell Sci.* 2001;114(5):853-65.
22. Vempati P, Popel AS, Mac Gabhann F. Extracellular regulation of VEGF: isoforms, proteolysis, and vascular patterning. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2014; 25(1): 1-19.
23. Afonso PV, Ozden S, Cumont M, Seilhean D , Cartier L, Rezaie P , Mason S, Lambert S , Huerre M, Gessain A, Couraud P, Pique C , Ceccaldi P and Romero

- IA. Alteration of Blood–Brain Barrier Integrity by Retroviral Infection. *PloS Pathog.* 2008 Nov;4(11):e1000205.
24. Carod-Artal FJ. Immunopathogenesis and treatment of the myelopathy associated to the HTLV-I virus. *Rev Neurol.* 2009; 48 (3), pp. 147-155.
 25. Araujo AQC, Silva MTT. The HTLV-1 neurological complex. *Lancet Neurol.* 2006; 5: 1068-76.
 26. Grindstaff P, Gruener G. The peripheral nervous system complications of HTLV-1 Myelopathy (HAM/TSP) Syndromes. *Semin Neurol.* 2005; 25: 315-27.
 27. Sawa H, Nagashima T, Nagashima K, Shinohara T, Chuma T, Mano Y, et al. Clinicopathological and virological analyses of familial human T-lymphotropic virus type I—associated polyneuropathy. *J Neurovirol.* 2005; 11:199-207.
 28. Raza SM, Pyatt JR. Nocturnal hypertension and autonomic dysfunction due to human T-lymphotropic virus type-1 (HTLV-1)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *Int J Cardiol.* 2006; 107: 424-6.
 29. Bagnato F, Butman JA, Mora CA, Gupta S, Yamano Y, Tasciyan TA, et al. Conventional magnetic resonance imaging features in patients with tropical spastic paraparesis. *J Neurovirol.* 2005; 11(6): 525-34.
 30. Morgan DJ, Caskey MF, Abbehusen C, Oliveira-Filho J, Araujo C, Porto AF, et al. Brain Magnetic Resonance Imaging White Matter Lesions Are Frequent in HTLV-I Carriers and Do Not Discriminate from HAM/TSP. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2007; 23(12): 1499–1504.
 31. Felipe L, Kingma H, Lambertucci JR, Carneiro-Proietti AB, Gonçalves DU. Testing the vestibular evoked myogenic potential (VEMP) to identify subclinical neurological alterations in different phases of human T-lymphotropic virus type 1 infection. *Spine J* 2013; 13(4): 397-401.
 32. Taniguchi A, Mochizuki H, Nagamachi S, Ebihara Y, Ishii N, Shiomi K, Nakazato M. Hypometabolism of watershed areas of the brain in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Neurol Sci.* 2015; 36(11): 2117-20.
 33. Romanelli LCF, Takayanagui OM, Costa CMC. Manifestações Neurológicas Associadas ao HTLV-1. In: Carneiro-Proietti ABF. *HTLV Cadernos Hemominas.* Belo Horizonte: Fundação Hemominas, 2015. P194. (<http://www.hemominas>).

mg.gov.br/publicacoes)

34. Shirabe S, Nakamura T, Tsujino A, Nishiura Y, Furuya T, Goto H, Suenega A, Nakane S, Yoshimura T, Nagataki S. Successful application of pentoxifylline in treatment of HTLV-1 associated myelopathy. *J Neurol Sci* 1997; 151: 97-101.
35. Siqueira IC, Muniz AL, Oliveira P, Carvalho AD, Orge GO, Castro N, Bittencourt VG, Giozza SP, Porto AF, Carvalho EM. Clinical manifestations in a large group of HTLV-1 infected patients. *Gaz Méd Bahia* 2009; 79: 25-29.

3. OBJETIVOS E HIPÓTESES

3.1 Objetivo geral

Avaliar indivíduos infectados (assintomáticos e com manifestações neurológicas) e não infectados pelo HTLV-1 utilizando a tomografia por emissão de pósitrons (PET/CT) com o marcador 18 fluorodesoxiglicose (18F-FDG).

3.2 Objetivos específicos e hipóteses

1) Avaliar a sensibilidade e especificidade da 18-F FDG PET/CT na discriminação do status clínico neurológico dos indivíduos infectados pelo HTLV-1 (assintomáticos, sintomáticos e HAM/TSP).

Hipótese₀: não há diferença metabólica (índice padronizado de captação/*standardized uptake value* - SUV) entre os indivíduos infectados pelo HTLV-1 (assintomáticos, sintomáticos e HAM/TSP).

2) Comparar os resultados da 18-F FDG PET/CT de indivíduos infectados pelo HTLV-1 (assintomáticos, sintomáticos e HAM/TSP) e controles não infectados.

Hipótese₀: não há diferença metabólica (SUV) entre indivíduos infectados pelo HTLV-1 (assintomáticos, sintomáticos e HAM/TSP) e controles não infectados.

3) Correlacionar os resultados da 18-F FDG PET/CT de indivíduos infectados pelo HTLV-1 (assintomáticos, sintomáticos e HAM/TSP) com o grau de comprometimento neurológico, perfil imunológico e carga proviral.

Hipótese₀: não há correlação metabólica (SUV) com o grau de comprometimento neurológico, perfil imunológico e carga proviral nos indivíduos infectados pelo HTLV-1 (assintomáticos, sintomáticos e HAM/TSP).

4) Avaliar através da 18-F FDG PET/CT se o comprometimento do SNC nos indivíduos infectados pelo HTLV-1 encontra-se restrito a medula torácica ou acomete o segmento cervical concomitantemente em relação a controles não infectados pelo HTLV-1.

Hipótese₀: não há diferença metabólica (SUV) no segmento cervical entre indivíduos infectados pelo HTLV-1 e controles não infectados.

5) Buscar esclarecer os mecanismos fisiopatológicos das doenças neurológicas associadas ao HTLV-1, em especial a HAM/TSP, correlacionando os resultados da 18-F FDG PET/CT, perfil imunológico e carga proviral.

4. MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo

Este é um estudo transversal de uma coorte de indivíduos infectados pelos vírus HTLV-1 e um estudo caso-controle aninhado de indivíduos infectados pelo HTLV-1 e controles não infectados pelo HTLV-1 com relação a avaliação metabólica medular pela 18-F FDG PET/CT.

4.2 Local, população e período do estudo

Este estudo foi realizado em Belo Horizonte e incluiu pacientes atendidos no Setor de Pesquisa da Fundação Hemominas (FH) e foi realizado em parceria com o Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Medicina Molecular (INCT-MM) da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

A amostra foi não probabilística e composta por 50 indivíduos participantes da coorte do Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em HTLV (GIPH). A coorte GIPH possui registro de 1200 participantes entre ex-doadores de sangue com diagnóstico de infecção pelos vírus HTLV-1 e 2, seus parceiros sexuais, parentes, pacientes encaminhados e controles. Trata-se de uma coorte prospectiva, aberta, com início em 1997. A amostra para este estudo foi oriunda de um grupo de 300 participantes da coorte, infectados pelo HTLV-1, que passaram por no mínimo uma avaliação neurológica entre 2007 e 2014. Os participantes foram admitidos no período de 01/07/2013 a 10/04/2015 e os dados coletados e analisados até dezembro de 2016.

Foi criado um grupo controle de indivíduos que realizaram PET/CT em outros estudos realizados no INCT-MM, equiparado em relação a idade e sexo, excluindo doenças inflamatórias como esclerose múltipla, lúpus eritematoso sistêmico e neoplásicas com comprometimento do SNC. Este grupo foi realizado com 10 indivíduos sem doença, controles do INCT-MM. Para aumento da amostra foram incorporados ao grupo mais 20 indivíduos que participaram de estudos no INCT-MM portadores de neoplasia de próstata e intestino grosso, sem envolvimento do SNC.

4.3 Critérios de inclusão HTLV-1 infectados

- 1) Infecção pelo HTLV-1 confirmada pelo exame Western Blot (WB HTLV 2.4, Genelabs Diagnostics, Singapore) ou real-time PCR;¹
- 2) Quatro ou mais anos de educação formal concluídos;
- 3) Mínimo de dezoito anos e máximo de setenta anos de idade;
- 4) Estar de acordo com o protocolo da pesquisa e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

4.4 Critérios de exclusão HTLV-1 infectados

- 1) Possibilidade de coinfeção evidenciada por exames sorológicos positivos para o vírus da imunodeficiência humana (HIV), vírus da hepatite C (HCV), vírus da hepatite B (HBV), doença de Chagas ou sífilis;
- 2) Comprometimento ou doença neurológica diagnosticada decorrente de outra etiologia.
- 3) Não estar de acordo com o protocolo da pesquisa e não assinar o TCLE.

4.5 Protocolo do estudo

4.5.1 Aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)

O projeto foi elaborado e aprovado no CEP das duas instituições, FH (Anexo 1) e UFMG (Anexo 2).

4.5.2 Primeira etapa – Fase clínica

Uma lista de participantes da coorte GIPH elegíveis para o estudo foram convocados para uma entrevista inicial na FH. Nesta entrevista os participantes receberam informações sobre o estudo: etapas, objetivos e exames que seriam submetidos. Todos passaram por uma avaliação neurológica (Apêndice A e B) e caso aptos, preenchendo os critérios de inclusão e concordantes em participar, assinaram o

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice C) em três vias e foram encaminhados para avaliação neuropsicológica e coleta de sangue para estudo sorológico de possíveis coinfeções: HIV, HCV, HBV, doença de Chagas e sífilis.

Os dados clínicos e neurológicos coletados na consulta foram sistematizados e registrados através de um banco de dados confeccionado no programa Epidata 3.1 (Apêndice A e B).

4.5.3 Segunda etapa – Coleta e realização exames complementares

Após conclusão da primeira etapa os participantes elegíveis para continuar o estudo foram agendados para realização dos exames complementares restantes no Centro de Imagem Molecular (CiMol), vinculado ao INCT-MM da Faculdade de Medicina da UFMG: carga proviral e perfil imunológico no sangue e no líquido; 18F-FDG PET/CT de todo o corpo. Os participantes eram orientados e admitidos em jejum de 6 horas, suas glicemias eram avaliadas. Acesso venoso foi estabelecido, momento em que se aproveitou para realizar a coleta do sangue para os exames supracitados. O acesso venoso foi mantido com soro fisiológico 0,9% até a finalização do exame.

Em seguida os participantes recebiam 5,18 MBq/kg do radiomarcador 18F-FDG, em bolus, por via de administração endovenosa. Os participantes então eram colocados em repouso durante 50 minutos em uma sala com pouca luminosidade e estímulo. As imagens do PET foram adquiridas após o repouso em um intervalo de tempo de aproximadamente de 10 minutos, e reconstruídas em uma matriz de 192 x 192 x 47 utilizando o algoritmo OSEM (*Ordered Subsets Expectation Maximization*), com 2 interações e 20 subconjuntos. A correção de atenuação foi realizada utilizando imagens de tomografia computadorizada (TC).

Após a aquisição das imagens da PET/CT os participantes foram submetidos a punção lombar, com anestesia local e coleta de 8 a 10 ml de líquido. Em seguida recebiam um lanche e eram orientados a permanecerem de repouso em seus domicílios pelo período de 24 horas.

4.5.4 Terceira etapa – Aquisição, organização e análise dos resultados

Os materiais coletados para estudo da carga proviral no sangue e no líquido foram encaminhados no dia da coleta para o laboratório de pesquisa da FH e imediatamente foram centrifugados a 3.000 x g por 5 minutos para obtenção da camada de *buffy coat* e do precipitado celular, respectivamente, usados para a obtenção do DNA. O DNA foi extraído usando-se o kit QIAamp DNA Blood (Qiagen GmbH, Hilden, Germany), de acordo com as instruções do fabricante. A quantificação da carga proviral foi realizada por PCR em tempo real pelo método SYBR Green, utilizando-se primers para a região viral pol (SK110 [5'-CCCTACAATCCAACCAGCTCAG-3'] e SK111 [5'-GTGGTGAAGCTGCCATCGGGTTTT-3']) e para o gene da albumina (ALB-S [5'-GCTGTCATCTCTTGTGGGCTGT-3'] e ALB-AS [5'-AAACTCATGGGAGCTGCTGGTT-3']) para determinar o número total de células. Para ambos os genes, pol e albumina, as amplificações foram realizadas em reações separadas usando-se 5 µL de DNA de sangue (240 ng) ou de líquido (não quantificado por apresentar baixa concentração), 1x SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA), e 200 nM de cada primer. A PCR em tempo real foi feita no equipamento ABI Prism 7300 *Sequence Detector System* (Applied Biosystems), nas seguintes condições de temperatura: 2 min a 50°C e 10 min a 95°C seguido por 50 ciclos de 15 s a 95°C e 1 min a 65°C. As curvas de *melting* foram realizadas após o final dos ciclos de amplificação para validar a especificidade dos produtos amplificados. As curvas padrão foram geradas utilizando-se diluições seriadas de 1:10 de DNA de células MT2 (10^4 - 10^1 células) e normalizadas para três cópias do gene pol do HTLV-1 e duas cópias do gene de albumina humana por célula MT2. Todas as diluições das curvas padrão e amostras individuais foram executadas em duplicata para ambas as quantificações, HTLV-1 e albumina. As curvas padrão foram aceitas quando os slopes estavam entre -3.10 e -3.74 e o r^2 foi > 0,99. O valor da carga proviral foi calculado como [(número médio de cópias pol/número médio de cópias de albumina/2)] x 10.000 e expresso como o número de cópias proviral/10.000 células. O coeficiente médio de variação de Ct para pol em intra-ensaios e inter-ensaios foi de 1,4 e 2%, respectivamente. Para a albumina, o coeficiente médio de variação de Ct em intra-ensaios e inter-ensaios foi de 0,4 e 1,5%, respectivamente.

O perfil imunológico do sangue e LCR dos participantes foi avaliado no laboratório de Neurociência, da Faculdade de Medicina da UFMG. Após a punção lombar, o LCR foi recolhido num tubo de polipropileno e centrifugado a 1.500 x g durante 10 minutos. O sobrenadante foi fracionado em 5 frascos, que foram armazenados a -80 ° C. O plasma foi extraído do sangue periférico, coletado em tubos de coleta de EDTA. As amostras de sangue foram centrifugadas a 3000 × g, a 4°C, durante 15 minutos, e o plasma foi aliqotado em seis frascos, que foram mantidos a -80 ° C até serem analisados. O kit de imunoensaio utilizado foi o Milliplex MAP human high sensitivity T cell assay (HSTCMAG-28K - EMD Millipore) para quantificar os níveis de expressão de 19 citocinas no plasma e paralelamente no LCR. Foram avaliados os seguintes analitos: ITAC, GM-CSF, Fractalkine, IFN-gama, TNF-a, MIP-3a, IL-1b, IL-12, IL-13, IL-17A, IL 2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10 e IL-21, em placas de 96 poços, de acordo com as instruções do fabricante. As placas foram lidas utilizando um sistema Luminex 100/200. Foi estabelecida aquisição entre 8.000 e 15.000 eventos para discriminar quaisquer eventos duplos e para garantir que apenas micropartículas únicas fossem medidas. Cerca de 50 microlitros, por ensaio, foram recolhidos individualmente em cada poço, utilizado, posteriormente, para gerar a intensidade média de fluorescência (IMF) para um dado marcador. As intensidades médias de fluorescência foram convertidas em concentrações (pg/mL) utilizando a equação derivada da escala padrão de cada analito pelo software Milliplex Analyst. Cada amostra foi medida em duplicata. As análises foram realizadas em amostras que não passaram por processo de descongelamento.

O exame 18F-FDG PET/CT de todo o corpo seguiu o protocolo descrito previamente na segunda etapa e o laudo final foi elaborado por médico especializado em medicina nuclear, conforme protocolo padrão do serviço. Para análise direcionada do sistema nervoso central, em especial da medula espinhal, foi criado um protocolo específico de avaliação. Neste protocolo objetivou-se avaliar o índice padronizado de captação do radiotraçador 18F-FDG, em inglês descrito como: *standard uptake value* (SUV), em segmentos específicos da medula torácica e cervical. O índice padronizado de captação é a atividade levantada e normalizada para o peso corporal/a área de superfície corporal e a dose injetada do radiotraçador. Considerando a dose do radiotraçador uniformemente distribuída por todo o corpo, o índice SUV aproximado

seria 1,0. Defini-se o SUV como uma medida de captação relativa. Na medula torácica o SUV foi medido nos níveis T6, T8 e T10, e na coluna cervical nos níveis C5, C6 e C7. Os níveis medulares foram localizados através da imagem da TC acoplada a PET, utilizando o plano sagital para definição dos níveis dos segmentos medulares e o plano axial para localização da medula no canal central da coluna espinhal. O SUV foi mensurado em uma área oval com diâmetro látero-lateral de 12 mm e ântero-posterior de 6 mm para cada segmento supracitado. O próprio software da PET forneceu o SUV médio mensurado na área dos segmentos medulares determinados. As fotos 1 e 2 (Apêndice D) ilustram o protocolo utilizado.

Os dados demográficos, epidemiológicos, clínicos e resultado dos exames dos participantes do estudo foram organizados e analisados no programa SPSS versão 22.0.

4.5.5 Quarta etapa – Orientação aos participantes

Todos os indivíduos participantes do estudo foram comunicados e receberam cópia do resultado do exame 18-F FDG PET/CT. Os participantes com resultado alterado foram convocados para consulta de reavaliação e caso necessário submetidos a exames para esclarecimento diagnóstico e/ou encaminhados para avaliação especializada e tratamento.

Como achados sistêmicos observados na PET/CT destaca-se um sujeito do gênero masculino, 57 anos, com hipermetabolismo no canal anal, em que a colonoscopia evidenciou diverticulose leve, colite com ulcerações aftoides difusas e pólipos séssil no ceco, cujo o exame anatomopatológico evidenciou adenoma tubular com displasia de baixo grau e dois sujeitos do gênero feminino, 31 e 63 anos, com bócio e áreas hipermetabólicas na tireoide.

4.6 Desfecho clínico de interesse

O desfecho clínico de interesse foi quanto a presença de doença neurológica: HAM/TSP definida ou sintoma ou sinal de doença neurológica que não preenche os critérios para HAM/TSP definida.

4.7 Definições

4.7.1 Grupo HAM/TSP (HG)

Foi considerado grupo com HAM/TSP os pacientes com quadro de mielopatia associada ao HTLV-1, que caracteriza-se por uma paraparesia espástica, inicialmente assimétrica, com comprometimento da musculatura proximal dos membros inferiores e associada a sinais de liberação piramidal: hiperreflexia, clônus e sinal de Babinski. Sintomas autonômicos como constipação intestinal, urgeincontinência e/ou retenção urinária e disfunção sexual geralmente fazem parte do quadro já em sua fase inicial, assim como a presença de lombalgia. Ainda hoje, os critérios diagnósticos estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde (WHO) em 1989 (Anexo 3) ou revisados e publicados por Castro-Costa et al. 2006 (Anexo 4) são os utilizados para definição da HAM/TSP e encontram-se sumarizados em tabelas nos respectivos anexos.^{2,3} Os participantes do estudo definidos como HAM/TSP preenchem os critérios supracitados.

4.7.2 Grupo sintomático sem critério definido para HAM/TSP (SG)

São os participantes do estudo com sintomas ou sinais no exame neurológico que não preenchem os critérios para HAM/TSP definida. Dada a evolução crônica e lenta da progressão do acometimento neurológico, anos a décadas, muitos indivíduos infectados pelo HTLV-1 com comprometimento clínico monossintomático são definidos como HAM/TSP provável durante muitos anos, termo que ocasiona dúvida na relação do sinal ou sintoma presente e a infecção pelo HTLV-1. Participantes com sintomas e sinais isolados ou associados, como: bexiga neurogênica, constipação intestinal, disfunção sexual, dor neuropática, distúrbios discretos da marcha e do equilíbrio, depressão ou fadiga, na ausência de sinais inequívocos de comprometimento neurológico no exame físico, foram classificados neste grupo denominado sintomático.

4.7.3 Grupo assintomático (AG)

Indivíduo infectado pelo HTLV-1 que não apresenta sinais e/ou sintomas de acometimento neurológico, exceto por sintomas isolados, ocasionais e sem associação com alterações no exame físico neurológico.

4.7.4 Grupo controle (CG)

Indivíduos selecionados do banco de exames do CiMol. Foram utilizados 10 indivíduos saudáveis, grupo controle do CiMol e outros 20 indivíduos que participaram de outros estudos, câncer de próstata e intestinal, com realização da 18-F FDG PET/CT e que não apresentavam acometimento aparente do SNC pela doença de base. Foram pareados por sexo e idade ao grupo infectado pelo HTLV-1.

4.7.5 Escala Expandida do Estado de Incapacidade (EDSS)

A EDSS (Anexo 5) é uma escala criada para quantificar o comprometimento neurológico de portadores de esclerose múltipla, considerando oito sistemas fisiológicos (Anexo 6).⁴ Esta escala também tem sido utilizada para quantificar o grau de comprometimento neurológico em estudos com portadores da HAM/TSP.

4.7.6 Geriatric Depression Scale – 15 itens (GDS -15)

Foi a escala usada para avaliar sintomas depressivos em nossa amostra de indivíduos infectados pelo HTLV-1. Esta escala é um instrumento muito utilizado para avaliar a presença de sintomas depressivos na população geriátrica e foi escolhida em consideração a idade, limitações físicas e cognitivas da população avaliada.⁵

4.7.7 Tomografia por emissão de pósitrons/tomografia computadorizada (PET/CT)

A PET fornece imagens moleculares de funções biológicas em vez de anatômicas. A tomografia computadorizada acoplada a PET permite imagens anatômicas que ajudam no processamento e na atenuação das imagens obtidas na PET, melhorando as

imagens obtidas e a velocidade de processamento. O radiotraçador mais comumente utilizado na PET é o [flúor 18] fluorodesoxiglicose (18F-FDG) que se comporta como uma molécula de glicose. Tão logo o 18F-FDG atinge um tecido, ele é transportado através da membrana celular por facilitadores de transporte da glicose (GLUT), mais comumente o GLUT-1. O 18F-FDG permanece retido no tecido após sua fosforilação pela hexoquinase e como consequência deste fato uma imagem estática única obtida 40 a 60 minutos após a injeção do 18F-FDG reflete a taxa relativa do metabolismo de glicose naquele tecido. O sinal obtido no PET relativo ao metabolismo do 18F-FDG em um tecido é multifatorial e pode ser dependente: do fluxo sanguíneo, densidade celular e da densidade de GLUT-1 presente nas membranas celulares do tecido avaliado.⁶

4.7.8 Flúor 18-fluorodesoxiglicose (18F-FDG)

O comportamento metabólico do radiotraçador 18F-FDG é muito semelhante ao da glicose. Uma vez no sangue, ele pode penetrar no interstício, continuar no sangue e ser eliminado via renal, ser transportado para dentro de uma célula, retornar para o interstício ou plasma e ser eliminado via renal. Na célula o 18F-FDG sofrerá fosforilação e ficará quimicamente preso na via glicolítica, terminando com o decaimento do flúor-18. A PET realizada 40 a 60 minutos após a injeção do 18F-FDG, pelo rápido clareamento do 18F-FDG da corrente sanguínea e do organismo, avalia o acúmulo do 18F-FDG metabolizado, em contraste ao ruído de fundo. O metabolismo da glicose nos diversos órgãos (cérebro, coração, etc) está intimamente relacionado com o fluxo sanguíneo. Em lesões tumorais malignas existe desacoplamento entre o fluxo-metabolismo, com aumento do metabolismo de glicose em comparação ao tecido normal circundante, independente do aumento do fluxo sanguíneo. Para estimação semiquantitativa da concentração do 18 F-FDG criou-se um índice padronizado de captação (SUV).⁶

4.7.9 Índice padronizado de captação/*standardized uptake value* (SUV)

O índice padronizado de captação é a atividade mensurada na PET e normalizada para: o peso corporal/a área de superfície corporal e a dose injetada do radiotraçador.

Considerando a dose do radiotraçador uniformemente distribuída por todo o corpo, o índice SUV aproximado seria 1,0. O SUV é definido como uma medida de captação relativa.⁷

4.8 Análise estatística

A análise descritiva dos grupos incluiu a distribuição de frequência e percentual de variáveis categóricas, medidas de tendência central conforme a melhor adequação. A análise comparativa entre grupos incluiu teste X^2 ou teste de Fisher para variáveis categóricas, Teste t ou ANOVA para variáveis quantitativas com distribuição normal e Teste de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney para dados não paramétricos. Coeficientes de correlação de Pearson ou Spearman foram utilizados conforme a distribuição paramétrica ou não paramétrica dos dados, respectivamente. Curva ROC foi realizada para avaliação da acurácia, sensibilidade, especificidade e melhor *cutoff* para algumas variáveis. Análise de regressão univariada e multivariada foi realizada para definir quais variáveis do estudo apresentam melhor predição para o desenvolvimento de HAM/TSP. A significância estatística foi considerada quando $p \leq 0,05$, exceto para entrada da regressão multivariada onde foi considerado $p \leq 0,10$.

4.9 Metodologia da revisão da literatura

O levantamento bibliográfico e a leitura crítica dos artigos foram realizados desde a elaboração do projeto em 2013 e durante todas as etapas do projeto até a sua conclusão em 2016. As bases de busca utilizadas foram: Pubmed e Medline. Foram selecionados artigos disponíveis nas línguas português, inglês e espanhol e disponíveis nas bases de dados do Portal CAPES, Biblioteca Regional de Medicina (BIREME) e Rede Informática de Medicina Avançada (RIMA).

4.10 Financiamento

O presente estudo foi realizado no Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Medicina Molecular (INCT-MM), polo de desenvolvimento da tecnologia de

PET/CT no Estado de Minas Gerais, em parceria técnica e científica com o Serviço de Pesquisa da Fundação Hemominas de Belo Horizonte.

Os exames de PET/CT, citocinas e quimiocinas foram realizados com recursos disponíveis do INCT-MM e os exames de carga proviral foram realizados no laboratório do Serviço de Pesquisa da Fundação Hemominas, exames disponíveis na rotina dos serviços e financiados pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

1. Andrade RG, Ribeiro MA, Namen-Lopes MS, Silva SM, Basques FV, Ribas JG, et al.. Evaluation of the use of real-time PCR for human T cell lymphotropic virus 1 and 2 as a confirmatory test in screening for blood donors. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010; 43:111–115.
2. World Health Organization. Report of the scientific group on HTLV-I and associated diseases, Kagoshima, Japan, December 1988: Virus diseases. Human T lymphotropic virus type I, HTLV-I. *Wkly Epidem Rec.* 1989; 49: 382-383.
3. Castro-Costa CM, Araújo AQ, Barreto MM, Takayanagui OM, Sohler MP, da Silva EL, et al. Proposal for diagnostic criteria of tropical spastic paraparesis / HTLV-I-associated myelopathy (TSP/HAM). *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2006; 22(10): 931-5.
4. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurol.* 1983; 33:1444-52.
5. Yesavage JA, Brink TL, Rose TL, Lum O, Huang V, Adey M, et al. Development and validation of a geriatric depression screening scale: a preliminary report. *J Psychiatr Res.* 1982-1983; 17 (1): 37-49.
6. Korn RL, Coates A, Millstine J. The role of glucose and FDG metabolism in the interpretation of PET studies. In: Lin EC and Alavi A. *PET and PET/CT: a clinical guide.* New York: Thieme Medical Publishers, 2009; P 22-23.
7. Thie JA. Understanding the standardized uptake value, its methods, and implications for usage. *J Nuc Med* 2004; 45 (9): 1431-1434.

5 RESULTADOS

5.1 Artigo Original

SPINAL CORD HYPOMETABOLISM BY 18-F FDG PET/CT AND PROVIRAL LOAD, CYTOKINES AND CHEMOKINES IN HTLV-1 INFECTED INDIVIDUALS

Romanelli LCF^{1,2}, Miranda DM^{1,4}, Carneiro-Proietti ABF², Mamede M¹, Mendes HM¹, Martins ML², Ferreira ASD², Valadão D¹, Paula JJ¹, Romano-Silva MA¹, Vertchenko SB², Nicolato R^{1,3}.

¹ Molecular Medicine Postgraduate Program (INCT-MM), Federal University of Minas Gerais (UFMG), Brazil

²HTLV-1 Research Interdisciplinary Group (GIPH), Hemominas Foundation, Belo Horizonte, Brazil

³ Health Mental Department of Minas Gerais Federal University (UFMG), Brazil

⁴Pediatrics Department of Minas Gerais Federal University (UFMG), Brazil

Abstract

Introduction – This study aimed to evaluate HTLV-1 infected individuals using 18-F FDG PET/CT and correlate this results with potential risk factors to neurological presentation. **Methods** – This is a cross-sectional study of a cohort of HTLV-1 infected individuals clinically classified as asymptomatic-**AG** (N = 21), symptomatic-**SG** (N = 11) and HAM/TSP-**HG** (N = 16) and a nested case-control study between HTLV-1 infected individuals-**HIG** (N = 48) and HTLV-1 non infected controls-**CG** (N = 30) in relation to spinal cord analysis by 18-F FDG PET/CT. HTLV-1 infected individuals had 18-F FDG PET/CT results analyzed with clinical and demographic data, proviral load, cytokines and chemokines in the blood and liquor fluid (CSF). **Results** – 18-F FDG PET/CT showed thoracic spinal cord hypometabolism in the HTLV-1 infected individuals and it was an accurate method (94.4%) to identify HAM/TSP. 18-F FDG PET/CT showed a greater involvement of thoracic spinal cord, but also a compromise

of cervical spinal cord segment. Positive unidirectional correlation between blood and CSF proviral load was observed, $r_s = 0.65$, $R^2 = 0.42$, $p < 0.001$. All groups have similar ratio between CSF and blood proviral load, $p = 0.670$. Individuals with HAM/TSP showed a pro-inflammatory immune profile in comparison to asymptomatic and symptomatic groups, with a higher rate of ITAC, IL-6, IL-12p70 in the plasma, ITAC, IL-4, IL-5, IL-8 and TNF-alpha in the CSF. In regression, thoracic spinal cord SUV and CSF ITAC were HAM/TSP predictor in the multivariate model, with correct classification of 81.3% to distinguish between asymptomatic and HAM/TSP groups.

Conclusions - 18-F FDG PET/CT hypometabolism in CNS was observed in most of HTLV-1 infected individuals, regardless of the presence of clinical symptoms. Thoracic spinal cord hypometabolism and CSF ITAC were predictors of HAM/TSP in the multivariate model.

Keywords: Human T-cell leukemia virus type-I; HTLV-1 associated myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis (HAM/TSP); Positron-Emission Tomography; Viral Load; Cytokines; Chemokines.

Introduction

Human T-cell lymphotropic virus (HTLV-1) was associated with tropical spastic paraparesis (TSP) in 1985 and HTLV-1 associated myelopathy (HAM) in 1986.^{1,2} Both diseases were recognized as the same neurological disorder in 1988 and called HAM/TSP.³ Since then, inflammatory, neoplastic, and infectious diseases have been related to HTLV-1 infection.⁴ Different neurological impairments have been described associated with HTLV-1 infection, without meeting the criteria for defined HAM/TSP, but sufficient to compromise the labor capacity and social life of infected individuals.^{5,6} The pathophysiological mechanisms involved in central and peripheral nervous system involvement by HTLV-1 are not fully understood. The virus interaction and type of immune response of the host has been considered the main cause for the onset of disease in only a small part of the individuals infected.⁷ There is none accurate marker to define the presence of neurological disease related to HTLV-1. Many years may elapse from the first clinical signs and symptoms to a clear diagnosis of HAM/TSP. To have this clear diagnosis of HTLV-1-associated myelopathy are necessary a long follow-up and exclusion of other causes of myelopathy.^{8,9}

Female gender, transmission pathway, high proviral load and proinflammatory immune response of the host are risk factors for the development of neurological disease.¹⁰ Imaging studies using magnetic resonance imaging (MRI) of the spinal cord showed low sensitivity in the initial and intermediate phases of HAM/TSP. The most common and non-specific finding is atrophy of the thoracic spinal cord that commonly appears after several years of onset of the disease.¹¹ Difficulties in diagnosis of the neurological diseases associated with HTLV-1 hinder the emergence of effective therapies in the treatment of this infection.

In this context, we developed this study in HTLV Research Interdisciplinary Group (GIPH) cohort with HTLV-1 infected asymptomatic, symptomatic and HAM/TSP. Positron emission tomography (PET) using 18-Fluoro Fluorodeoxyglucose (18F-FDG) radiotracer, blood and CSF proviral load, cytokines and chemokines were tested in a regression model to determine predictive markers of the HAM/TSP.

MATERIAL AND METHODS

Approval in the Research Ethics Committee

The project was submitted and approved in the Research Ethic Committee of the two participating institutions, Hemominas Foundation and Federal University of Minas Gerais.

Study Design

This is a cross-sectional study of a cohort of HTLV-1 infected individuals and a nested case-control study between HTLV-1 infected individuals and HTLV-1 non infected controls in relation to spinal cord analysis by 18-F FDG PET/CT.

Place, population, period and groups of study

The sample was non-probabilistic and composed of 50 individuals participating in the HTLV Research Interdisciplinary Group (GIPH) cohort, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. The GIPH cohort has a record of 1,200 participants among former blood donors diagnosed with HTLV-1 and 2 infection, their sexual partners, relatives, patients referred, and controls. It is an open prospective cohort started in 1997. The sample for this study came from a group of 300 HTLV-1 infected cohort participants who underwent at neurological evaluation realized between 2007 and 2014. Participants were admitted in the period from January of 2013 to October of 2015 and the data collected and analyzed until December 2016.

Two of the 50 subjects invited for this study were excluded. One presented HIV co-infection. The second showed positive ELISA test for HTLV-1, with confirmatory WB indeterminate and qualitative PCR negative in blood in two tests. The 48 HTLV-1 infected individuals who remained in the study were subdivided in three groups according to neurological impairment observed in appointment performed on the day of the signature of the consent term and the complementary tests were performed up to 60 days of this appointment. The group referred to as asymptomatic (AG) was formed by

participants who did not present symptoms, or with few or common symptoms observed in the general population, insufficient to suspect of neurological impairment. All individuals classified as asymptomatic group had a normal neurological physical examination. Symptomatic group (SG) consisted of individuals with symptoms of proximal weakness in the lower limbs or hyperactive muscle stretch reflexes. The third group had individuals with persistent symptoms and impairment in neurological physical examination compatible with myelopathy and fulfilling the established diagnostic criteria for HAM/TSP.^{12,13} Control group was paired for sex and age with case-group. Control group was performed only for 18-F FDG PET/CT and composed by 10 healthy individuals and 20 individuals with prostate and colon cancer without CNS involvement. All individuals enrolled gave written informed consent and allowed their PET/CT image to be used in scientific research.

The sample evaluated in this study is representative when considering the magnitude of the effect between the symptoms and signs observed in asymptomatic (<10%) and HAM/TSP group (> 50%), for $\alpha = 0.05$ (bilateral) and $\beta = 0.20$, 16 individuals per group is predicted. The same can't be attributed to the symptomatic.

Inclusion Criteria for HTLV-1 infected individuals

The inclusion criteria were: HTLV-1 infection confirmed by Western blotting (WB HTLV 2.4, Genelabs Diagnostics, Singapore) or real-time PCR; four or more years of formal education, minimum of 18 and maximum of 70 years old.

Exclusion criteria for HTLV-1 infected individuals

Exclusion criteria included: co-infection evidenced by positive serological tests for human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis C virus (HCV), hepatitis B virus (HBV), Chagas disease or syphilis; and neurological impairment or disease due to another etiology.

Study steps

The study was divided into four steps: clinical, laboratory exams, orientation to participants with altered results and statistical analysis.

Clinical - Individuals of the GIPH cohort, eligible for the project, were called for an individual appointment. In this first contact they were informed about project objectives and steps. Those interested in participating signed the Term of Consent and then underwent a neurological appointment, neuropsychological assessment and blood collection to perform serology of possible co-infections: HIV, HCV, HBV, Chagas disease and syphilis. The clinical and neurological classification data collected in the appointment were systematized and recorded through a database made up by Epidata 3.1 program.

Complementary exams – Eligible participants were scheduled to perform the remaining complementary exams at the Molecular Imaging Center (CT-MedMol/UFMG): proviral load and immunological profile in the blood and in the CSF; 18F-FDG PET/CT of the whole body. The participants arrived with fasting of 6 hours. First, blood glucose was evaluated by capillary glycemia, venous access was obtained and used to perform the blood proviral load, cytokines and chemokines. The venous access was maintained with 0.9% saline until the examination was completed. Subsequently the participants received 18-F FDG radiotracer bolus, 5.18 MBq/Kg, by intravenous administration. The participants rest for 50 minutes in a room with low light and stimulation. After the acquisition of the PET/CT images the participants underwent to a lumbar puncture with local anesthesia for collection of 8 to 10 ml of CSF. Techniques used to perform the exams:

1) PET/CT - images were acquired after resting in a time interval of approximately 10 minutes, and reconstructed in a 192 x 192 x 47 matrix using the OSEM (Ordered Subsets Expectation Maximization) algorithm, with 2 iterations and 20 subsets. Attenuation correction was performed using computed tomography (CT) images.

2) PET thoracic and cervical spinal cord - for a targeted analysis of the central nervous system, especially the spinal cord, a specific evaluation protocol was performed. The objective of this protocol was to evaluate the standardized uptake value (SUV) in specific segments of the thoracic and cervical spinal cord. The standardized rate of

uptake is the activity raised and normalized to: body weight /body surface area and injected dose of radiotracer. Considering the dose of the radiotracer evenly distributed throughout the body, the approximate SUV index would be 1.0. The SUV was defined as a measure of relative uptake. In the thoracic spinal cord the SUV was measured on the T6, T8 and T10 levels, and at the cervical spinal cord on the C5, C6 and C7 levels. The spinal cord levels were located through the CT image, using the sagittal plane to define the levels and axial plane to locate the medulla in the central canal of the spinal column. The SUV was measured in an oval area with 12 mm and 6 mm diameter, lateral-lateral and anterior-posterior, respectively. The PET software provided the average SUV measured in the oval area of the particular spinal cord segments. The mean of the SUVs of the three cervical and three thoracic spinal cord segments were used in the statistical analysis.

3) Cytokine and chemokine biomarker - following lumbar puncture, CSF was collected in a polypropylene tube and centrifuged at $1,500 \times g$ for 10 minutes. Supernatant was aliquoted in five vials and stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. CSF samples were obtained from all patients, except 2 patients from HAM/TSP group. Plasma was extracted from peripheral blood collected in EDTA collection tubes. Blood samples were centrifuged at $3,000 \times g$, at 4°C , for 15 minutes, and plasma was aliquoted in six vials and kept at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ until analyzed. Immunobead assay Milliplex MAP human high sensitivity T cell assay (EMD Millipore) was used to quantify expression levels of 19 cytokines in plasma and CSF. The HSTCMAG-28SK kit was designed to detect the following analytes: ITAC, GM-CSF, Fractalkine, IFN-gamma, TNF- α , MIP-3 α , IL-1b, IL-12, IL-13, IL-17A, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-21. In a 96-well plate according to the manufacturer instructions. Plates were read using a Luminex100/200 system. An acquisition gate between 8,000 and 15,000 was set to discriminate against any double events and to ensure that only single microbeads were measured. About 50 beads per assay were individually collected for each well, which was used to generate the median fluorescence intensity (MFI) for a given marker. MFIs were converted to concentrations (pg/ml) using the equation derived from standard range of each analyte using Milliplex Analyst Software. Each sample was measured in duplicate. Analyses were carried out in samples without being thawed and re- frozen.

4) Blood and CSF proviral load - The materials collected to study the proviral load in

blood and cerebrospinal fluid were immediately centrifuged at 3,000 x g for 5 minutes to obtain the buffy coat layer and the cell pellet respectively, used to obtain DNA. The DNA was extracted using the QIAamp DNA Blood Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany), according to the manufacturer's instructions. The quantification of the proviral load was performed by real-time PCR using the SYBR Green method, using primers for the viral region pol (SK110 [5'-CCCTACAATCCAACCAGCTCAG-3'] and SK111 [5'-GTGGTGAAGCT GCCATCGGGTTTT-3']) and for the albumin gene (ALBS [5'-GCTGTCATCTCTTGTTGGGCTGT-3'] and ALB-AS [5'-AAACTCATGG GAGCTGCTGGTT-3']) to determine the total number of cells. For both genes, pol and albumin, amplifications were performed in separate reactions using 5 µl of blood (240 ng) or CSF (not quantified for low concentration) DNA, 1x SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA), and 200 nM of each primer. Real-time PCR was done on the ABI Prism 7300 Sequence Detector System (Applied Biosystems) at the following temperature conditions: 2 min at 50° C and 10 min at 95° C followed by 50 cycles of 15 sec at 95° C and 1 min at 65° C. The melting curves were performed after the end of the amplification cycles to validate the specificity of the amplified products. Standard curves were generated using serial dilutions of 1:10 MT2 cell DNA (104-101 cells) and normalized to three copies of the HTLV-1 pol gene and two copies of the human albumin gene per MT2 cell. All dilutions of standard curves and individual samples were run in duplicate for both quantifications HTLV-1 and albumin. Standard curves were accepted when the slopes were between -3.10 and -3.74 and r² was > 0.99. The proviral charge value was calculated as [(average number of copies pol/average number of albumin copies/2)] x 10,000 and expressed as the number of proviral copies/10,000 cells. The mean coefficient of variation from Ct to pol in intra-assays and inter-assays was 1.4 and 2%, respectively. For albumin, the mean coefficient of variation of Ct in intra-assays and inter-assays was 0.4 and 1.5%, respectively. The proviral load in the blood and CSF results were not obtained in some participants due to technical difficulties in collecting the material or in the processing of the test: asymptomatic (blood 1 and CSF 3) and HAM/TSP (blood 2 and CSF 4).

Statistical analysis - demographic, epidemiological, clinical neurological and laboratory data were collected and analyzed in the SPSS 22.0 program. The descriptive analysis of the groups included the distribution of frequency and percentage of categorical variables, measures of central tendency according to the best suitability for quantitative variables. The comparative analysis between groups included X^2 test or Fisher test for categorical variables, t test or ANOVA for quantitative variables with normal distribution, Kruskal-Wallis and Mann-Whitney test for non-parametric data. Pearson or Spearman correlation coefficients were used according to the parametric or non-parametric distribution of the data, respectively. Curve ROC was used to calculate the accuracy, sensitivity, specificity and cutoff of the some variables. Trying to define which variables would form the best predictor model for HAM/TSP was performed univariate and multivariate regression. Statistical significance was considered when $p \leq 0.05$, except for multivariate entry where $p = 0.10$ was considered.

RESULTS

Demographic and clinical groups data

The subjects of study were grouped according to their clinical neurological conditions. Significant statistical difference was not observed between groups with respect to age and follow-up time at GIPH. There was a statistically significant difference with respect to gender due to the higher proportion of female in the symptomatic and HAM/TSP group. The degree of neurological impairment was measured by Expanded Disability Status Scale (EDSS), which showed a statistically significant difference between infected HTLV-1 groups. Demographic data are summarized in Table 1. The most neurological symptoms and signs were statistically different between HTLV-1 infected groups. Prevalent clinical diseases, smoking and alcoholism were not statistically different between HTLV-1 infected groups, except sicca syndrome with 19% prevalence in HAM/TSP group. Only two HAM/TSP patients use low-dose corticosteroids. The prevalence of depression was investigated in HTLV-1 infected individuals using the Geriatric Depression Scale – 15 items (GDS -15)¹⁴ and

may be underestimated since individuals on psychotropic drug treatment were not invited to participate in this study. Clinical information are summarized in Table 2.

Spinal cord standardized uptake value (SUV) - 18-F FDG PET/CT

A reduction in metabolism in the spinal cord was observed in 18-F FDG PET/CT in HTLV-1 infected groups compared to uninfected controls and the degree of hypometabolism correlated with the degree of neurological impairment. Thoracic spinal cord SUV and EDSS score had a negative correlation $r_s = - .526$, $R^2 = 0.28$, $p < .001$.

Cervical ($p = 0.514$) and thoracic ($p = 0.602$) spinal cord SUV were equally distributed with respect to gender. The average SUV obtained in cervical and thoracic spinal cords segments were compared between HAM/TSP and other groups and also between HTLV-1 infected group and control group. In both analyzes, the results showed a statistically significant difference in the comparison between the average SUV of the groups (Table 3). In the multiple comparisons between groups, post ROC analysis, there was significant statistical difference between control group compared to asymptomatic, $p = 0.041$ (CI 95%, 0.01- 0.65) and HAM/TSP, $p = 0.006$ (CI 95%, 0.10- 0.78) with respect to the cervical spinal cord segment. Post ROC thoracic spinal cord SUV analysis showed a statistically significant difference between average SUV of the control group and all HTLV- 1 infected groups: asymptomatic group, $p = 0.043$ (CI 95% 0.005-0.415); symptomatic, $p < 0.001$ (95% CI 0.232-0.740); and HAM/TSP, $p < 0.001$ (CI 95% 0.273-0.719). The asymptomatic and HAM/TSP groups also showed a significant statistical difference in relation to thoracic spinal cord SUV, $p = 0.012$ (CI 95% 0.047-0.525). Thoracic spinal cord SUV of symptomatic was similar to that observed in HAM/TSP, $p = 1.00$. Thoracic spinal cord SUV presented an accuracy of 94.4%, 85.7% and 81.6%, in the correct classification of the groups: HAM/TSP and control ($p < 0.001$; CI 95% 0.89-1.00), HAM/TSP and asymptomatic ($p = 0.001$; CI 95% 0.72-0.97) and HTLV-1 infected and control ($p < 0.001$ CI 95% 0.72-0.91), respectively. The thoracic spinal cord SUV ≤ 1.15 diagnosed individuals of HAM/TSP with 75% sensitivity and 100% specificity in relation to the control group and 76.5% sensitivity and 85.7% specificity in relation to asymptomatic. The thoracic spinal cord SUV ≤ 1.32 diagnosed individuals of HTLV-1 infected group with 68.8% sensitivity

and 80% specificity in relation a control group. Cervical spinal cord segment SUV presented an accuracy of 72.2% ($p = 0.001$; CI 95% 0.60-0.84) in the correct classification between HTLV-1 infected group and control group, with 64.6% of sensitivity and 70% of specificity for SUV value ≤ 1.42 . SUV from the cervical spinal cord was not able to discriminate between the HTLV-1 infected groups. Another point observed in the cervical and thoracic SUV was a progressive reduction in the standard deviation as the neuronal impairment increased, which was higher in control group and lower in HAM/TSP group.

Thoracic spinal cord SUV also showed correlation with CSF IL-5 and TNF-alpha (Table 6).

Blood and CSF Proviral Load

Blood ($p = 0.566$) and CSF ($p = 0.721$) proviral load distribution were not statistically different with respect to gender. The blood ($r = 0.47$) and CSF ($r = 0.63$) proviral load were statistically different between asymptomatic, symptomatic and HAM/TSP groups (Table 4). Positive correlation between blood and CSF proviral load was observed, $r_s = .810$, $R^2 = 0.66$, $p < .001$. Proviral copies in CSF were not detected in 10/21 asymptomatic (55.6%) and 7/11 symptomatic (72.2 %), but were detected in all HAM/TSP individuals. In these individuals with proviral load not detectable in the CSF the proviral load in the blood were also low: 15.7 ± 24.3 (0-67) copies/ 10^3 cells in the asymptomatic; 25.2 ± 49.6 (0-146) copies/ 10^3 cells in the symptomatic. On the other hand, CSF proviral load were higher than blood proviral load in all individuals with detectable CSF proviral load, except in an individual of the HAM/TSP group in which CSF proviral load was 33% lower than blood proviral load. In the other subjects with proviral load detectable in the CSF ($N = 22$) the ratio between CSF and blood proviral load showed an average increase of 9 ± 19.6 (1.38 to 95.64) times, median of 3.5 times. There was no statistically significant difference between the groups with regard to CSF and blood proviral load ratio ($p = 0.670$): $N = 8$, 4.6 ± 3.1 (1.4-9.4) times, median of 3.1 times in the asymptomatic group; $N = 3$, 5.3 ± 5.2 (1.4-11.2) times, median of 3.2 times in the symptomatic; and $N = 11$, 13.2 ± 27.5 (2.1-95.6) times, median 4.2 times in the HAM/TSP group.

Blood and CSF proviral load accuracy, sensitivity, specificity and cutoff in the discrimination between asymptomatic e HAM/TSP group are described in Table 5. CSF proviral load correlated with blood proviral load, plasma ITAC and CSF ITAC, IL-5, TNF-alpha and blood proviral load correlated with blood ITAC, CSF ITAC, and CSF proviral load (Table 6).

Cytokine and chemokine biomarker

The distribution of cytokines in relation to gender by group did not present significant statistical difference in HAM/TSP group. The cytokines that presented significant statistical difference in relation to gender in asymptomatic and symptomatic groups are described in Table 7.

The cytokines that presented significant statistical difference between HTLV-1 infected groups were: ITAC ($r = 0.43$), IL-12p/70 ($r = 0.26$), IL-17 A ($r = 0.28$) in the plasma, and ITAC ($r = 0.41$), INFgamma ($r = 0.25$), IL-5 ($r = 0.33$), IL-8 ($r = 0.34$) and TNF-alpha ($r = 0.32$) in the CSF. The averages, standard deviations, medians cytokines and p values of the comparison between the HTLV-1 infected groups are described in Table 4. The Bonferroni correction was applied for a post HOC analysis with all effects tested at the significance level of 0.0167. The cytokines and chemokines that presented significant statistical difference between asymptomatic and HAM/TSP groups were: plasma ITAC ($p = 0.003$), CSF ITAC ($p = 0.001$) and IL-8 ($p = 0.010$). Symptomatic and HAM/TSP groups showed statistical difference only CSF ITAC ($p = 0.003$). Asymptomatic and symptomatic groups did not present significant statistical difference in relation to the cytokines and chemokines analyzed.

Only plasma ITAC correlated with its similar in CSF ($N = 45$; $r_s = 0.56$, $p < 0.001$).

Table 5 summarizes accuracy, sensitivity, specificity, cutoff, and confidence intervals determined by the ROC curve of cytokines that individually presented a significant statistical difference and were able to discriminate asymptomatic and HAM/TSP groups.

Plasma ITAC ($N = 44$; $U = 132.0$, $p = 0.034$, $r = -0.32$; M_e : 10.52 and 8.85), IL-5 ($N = 44$; $U = 305.5$, $p = 0.029$, $r = 0.33$; M_e : 0.37 and 0.51) and CSF ITAC ($N=43$; $U =$

930.0, $p = 0.006$, $r = 0.41$; M_e : 71.51 and 45.87) presented significant statistical difference in relation to high or low blood proviral load, respectively. But, when only the asymptomatic group was analyzed, there was no statistically significant difference of the cytokines in relation to high or low blood proviral load.

Table 6 describes correlations of cytokines that presented a statistically significant difference between the groups and also showed their correlation with thoracic spinal SUV, proviral load and EDSS.

Variables correlated with EDSS

The functionality index, EDSS score, was correlated with multiple variables: plasma ITAC and IL-17 A; CSF ITAC, INF-gamma, IL-5, IL-8, TNF-alpha and proviral load; and thoracic spinal cord SUV (Table 6).

Analysis of risk factors for the development of HAM/TSP

In this analysis, only the asymptomatic and HAM/TSP groups were considered, since the subjects of the symptomatic were considered clinically undetermined. Univariate analysis indicated that female gender, thoracic spinal cord SUV, blood proviral load, plasma IL-6, CSF ITAC, INF-gamma and IL-8 were predictors to HAM/TSP, when they were taken as independent risk factors. Only thoracic spinal cord SUV and CSF ITAC fit in the multivariate model, with a correct classification between asymptomatic and HAM/TSP individuals of 81.3%, as described in Table 8.

DISCUSSION

In this study we sought to better understand the HTLV-1 infection and its clinical manifestations. We enrolled infected individuals and classified them according to their neurological status in asymptomatic, symptomatic and HAM/TSP groups. These groups were statistically different regarding neurological symptoms and signs, EDSS score and gender, but showed no statistically significant differences with regard to age and for distribution of systemic diseases. Female gender was more prevalent in

symptomatic (4.5:1) and HAM/TSP groups (4.3:1).¹⁵ For this reason, statistical analyzes of the variables described in this paper were also analyzed in relation to gender, with the purpose of evaluate the possible influence of the greater proportion of women in those groups.

First, we would like to discuss two questions. Are there HTLV-1 infected individuals without CNS impairment? Is HTLV-1 related CNS impairment restricted to the thoracic spinal cord? The 18-F-FDG PET/CT study shown hypometabolism in the cervical and thoracic segments of the spinal cord in all the three groups of HTLV-1 infected individuals including the group considered asymptomatic, compared to controls. Schütze et al., also showed diffuse cerebral hypometabolism in symptomatic and asymptomatic HTLV-1 infected individuals when compared to controls.¹⁶ The neuropsychological evaluation of this population also showed worse cognitive performance in individuals infected with HTLV-1 in relation to controls matched by age, sex and educational level (unpublished data). Other studies have shown that other neurological manifestations are present in HTLV-1 infection in addition to HAM/TSP.^{5,6} The results of 18-F-FDG PET/CT associated with clinical data lead us to conclude that in most HTLV-1 infected individuals there is commitment of the evaluated structures of CNS, despite of the lack of clinical symptoms. The 18-F FDG PET/CT was able to show greater involvement of the thoracic spinal cord, with excellent accuracy in the discrimination between HTLV-1 infected individuals (81.6%) and HAM/TSP patients (94.4%) and control group, as well as between HTLV-1 infected asymptomatic and HAM/TSP groups (85.7%).

Currently, immune-mediated chronic inflammatory process, with consequent CNS injury is the main pathophysiological concept to explain the development of neurological disease associated with HTLV-1, highlighted HAM/TSP.⁷ Within this concept, we expected that 18-F FDG PET/CT showed in the initial phase of neurological impairment, prior to the neurodegenerative process, a metabolic increase due to inflammation. However, HTLV-1 infected individuals have a hypometabolism in 18-F FDG PET/CT in comparison to the control group, including HTLV-1 infected individuals with no apparent neurological impairment. This fact leads us to rethink about the pathophysiological process to explain the hypometabolism of CNS in HTLV-1 infection.

The 18-F FDG behaves like glucose in the vascular and interstitial compartments and is transported to the intracellular compartment by passive transport, using glucose transporter proteins (GLUT), especially GLUT-1, present in most tissues and in the CNS. However, in the intracellular compartment the 18-F FDG is phosphorylated like glucose and stops its metabolization process, its negative charge keeps it trapped in the intracellular compartment and allows the measurement of tissue metabolism.¹⁷ PET/CT hypometabolism may result from low tissue metabolism, hypoperfusion with low supply of glucose to the tissue, or blockage of glucose entry into the intracellular environment. Asymptomatic HTLV-1 infected individuals show no signs of CNS involvement to explain observed hypometabolism due to tissue injury. Considering the mechanism of HTLV-1 entry into cells as described by Jones et al., who proposed the participation of heparan sulfate proteoglycans (HSPG), Neuropilin 1 (NRP-1) and GLUT-1.¹⁸ We then assume that hypoperfused areas of the CNS, such as the thoracic spinal cord and watershed areas of the brain, are susceptible to homeostatic mechanisms of angiogenesis and increased expression of vascular endothelial growth factor (VEGF). Consequently, VEGF increases the presence of HSPG and NRP-1 on the surface of endothelial and dendritic cells, facilitating the entry of HTLV-1 into these cells. Our study evidenced a strong negative unidirectional correlation between thoracic hypometabolism and neurological impairment, but there was no correlation between blood and CSF proviral load and thoracic spinal cord hypometabolism.

High proviral load is described as an important risk factor for the development of HAM/TSP. The literature demonstrate that HAM/TSP carriers have a higher blood and CSF proviral load, but there is not a cut-off point and reproducibility between the studies, which defines blood or CSF proviral load as a CNS disease marker.¹⁹⁻²¹ In this study we observed accuracy of blood and CSF proviral load in the discrimination between asymptomatic and HAM/TSP groups, but lower than thoracic spinal cord SUV. There was a strong unidirectional positive correlation between the blood and CSF proviral load, with an average increase of CSF proviral load of 9 times and median of 3.5 times the blood proviral load, but this average increase of CSF proviral load in relation to blood proviral load was not statistically different between the three HTLV-1 infected groups. Blood and CSF proviral load of symptomatics were much lower than those observed in asymptomatics and HAM/TSP groups. On the other hand, thoracic

spinal cord SUV of symptomatics was similar to that observed in HAM/TSP group ($p = 1.00$), suggesting possible incipient neurological involvement with low proviral load in this group. This fact also reinforces the possibility of another mechanism unrelated to proviral load and immune-mediated process in CNS involvement by HTLV-1.

The interaction between interleukins, chemokines and immune system cells is complex and the literature, until now, does not define a specific standard as an immunological marker for diseases associated with HTLV-1 infection.^{7,22} The cytokines and chemokines evaluated did not differ between asymptomatics and symptomatics, but both groups showed differences with respect to HAM/TSP. HAM/TSP showed in relation to asymptomatic and symptomatic, higher rate of plasma ITAC, CSF ITAC and IL-8. ITAC, also call CXCL₁₁ is a chemoattractant of T cells and monocytes with strong leukocyte adhesion property to activated endothelial cells. IL-8, also called CXCL₈, has chemotactic properties on neutrophils and other granulocytic cells, and is also related to angiogenesis. Plasma ITAC, IL-12p/70 and CSF ITAC, INF-gamma, IL-5, IL-8 and TNF-alpha showed accuracy in a ROC curve in the discrimination between asymptomatic and HAM/TSP groups, evidencing a predominant Th1 immune response in the HAM/TSP group. IL-17A also showed accuracy in a ROC curve in the discrimination between asymptomatic and HAM/TSP groups, with lower levels in the HAM/TSP. Th17 pathway is involved in distinct pathophysiological mechanisms of inflammatory, infectious, autoimmune and neoplastic diseases.²³ In this study, IL-17A and IL-21 important biomarkers of Th17 pathway activity had lower levels in the HAM/TSP compared to asymptomatic and symptomatic. Individuals with high proviral load also demonstrated lower levels of IL-17A than subjects with low proviral load. In this case, the pro-inflammatory immune profile observed in HAM/TSP cannot be explained by Th17 pathway. It is possible that Th17 suppression pathway in HAM/TSP could explain the higher prevalence of extra cellular infectious diseases due to bacteria and fungi described in the literature in this population.²⁴ Infected HTLV-1 asymptomatic women also had a pro-inflammatory cytokine profile, however about IL-17A and IL-21 there is no statistically significant difference in relation to asymptomatic men. On the other hand, women of the symptomatic group had lowest IL-17A, IL-21 and highest CSF Fractalkine chemokine, also called CX₃CL₁, with a statistically significant difference compared to the men of the symptomatic group. Fractalkine has

properties chemoattractant of T cells, monocytes and leukocyte adhesion to active endothelial cells. It is possible that this proinflammatory immune profile in asymptomatic women may predispose to the increased risk of HAM/TSP in female gender. The immunological profile of women in association with 18-F FDG PET/CT thoracic spinal SUV in symptomatic group suggest to an incipient immune-mediated process.

In the regression analysis several independent predictors did not adhere to the multivariate model, it is possible that this was due to the small sample number and the multiple correlations observed between cytokines, chemokines and proviral load, which can be observed in Table 6. Thoracic spinal cord SUV and CSF ITAC that adhered to the multivariate model were jointly good predictors of HAM/TSP, correctly classifying 81.3 % individuals in asymptomatic and HAM/TSP groups. This result corroborates our thinking about the pathophysiological process of HAM/TSP. We highlight as previously mentioned, a probable microangiopathy, demonstrated by the 18-F FDG PET/CT hypometabolism, associated with immune-mediated process, demonstrated by CSF ITAC, which has as one of its main inducers of the INF-gamma, a main cytokines of the Th1 pathway.

We are aware of the limitations of our study, such as the small sample size, the absence of a control group for cytokines, chemokines, and the PET/CT control group that was not tested for HTLV-1 infection. In this last point, we considered a low risk of HTLV-1 infection in control group given the estimated prevalence of this infection in the general Brazilian population of 1%⁴ and that HTLV-1 infected individuals in this group would reduce the magnitude of the effect observed in 18-F FDG PET/CT, which were otherwise very relevant.

In conclusion, HTLV-1 infection compromises the CNS of most infected individuals even in absence of clinical symptoms. The thoracic spinal cord is the CNS segment most affected by HTLV-1, but other CNS segments are also compromised. 18-FDG PET/CT seems a promising diagnostic tool to evaluate CNS compromise. Complimentary pathophysiological explanations are necessary, such as possible microcirculatory impairment and immune mediated mechanism in HAM/TSP pathophysiology. Our findings open space for new studies considering immune

response and microvascular involvement in neurological impairment of HTLV-1 infected individuals.

Conflicts of Interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Financing

The present study was conducted in partnership between the National Institute of Science and Technology in Molecular Medicine (INCT-MM/CT-MM) and the Research Service of the Hemominas Foundation, both institutions have funding from the governmental research agencies in State of Minas Gerais Research Foundation (FAPEMIG) and the National Council of Scientific and Technological Development (CNPq).

Authors' contributions

Romanelli LCF contributed with the design of the work, data acquisition, interpretation, drafting and critical revision of the manuscript. Miranda DM, Romano-Silva MA, Carneiro-Proietti ABF, Martins ML and Nicolato R contributed with data acquisition and critical revision of the manuscript. Mamede M and Mendes HM were responsible for PET/CT. Martins ML and Ferreira ASD performed the proviral load tests. Pereira NC and Valadão D performed cytokine and chemokine tests. Paula JJ contributed to the statistical analysis. Vertchenko SB participated in the preparation of the neurological database. All authors gave their approval on the final version of the manuscript and take accountability for all aspects of the work.

Table 1 – Demographic data of HTLV-1 infected patients and control group.

Groups	N (%)	GENDER		AGE		EDSS SCORE		GIPH TIME	
		Female (%)		\bar{X} Years (SD)		Interval (Me)		\bar{X} Years (SD)	
AG	21 (27)	9	(43)	51	(10)	0-0	(0)	11	(5)
SG	11 (14)	9	(82)	46	(13)	0-2	(1)	10	(6)
HG	16 (21)	13	(81)	51	(17)	2-8	(5)	9	(5)
CG	30 (38)	17	(57)	47	(15)	NA	NA	NA	NA
Total	78 (100)	48	(62)	49	(14)	0-8	(1)	10	(5)
	<i>p</i>	0.045 ^a		0.689 ^b		< 0.001 ^c		0.186 ^c	

Groups	N (%)	GENDER		AGE		EDSS SCORE		GIPH TIME	
		Female (%)		\bar{X} Years (SD)		Interval (Me)		\bar{X} Years (SD)	
HIG	48 (62)	31	(67)	51	(11)	0-8	(1)	10	(5)
CG	30 (38)	17	(57)	47	(15)	NA	NA	NA	NA
Total	78 (100)	48	(62)	49	(14)	0-8	(1)	10	(5)
	<i>p</i>	0.633 ^a		0.486 ^d		NA		NA	

EDSS - Expanded disability status scale; SD - Standard deviation; NA - Not applicable

^a Chi-square test - Exact of Fisher; ^b ANOVA ; ^c Kruskal Wallis test; ^d t-test.

AG = Asymptomatic Group, SG = Symptomatic Group, HG = HAM/TSP, CG = Control Group, HIG = HTLV-1 infected Group

Table 2 – Neurological symptoms and signs, clinical diseases, social habits and corticosteroid use in HTLV-1 infected individuals.

CLASSIFICATION GROUPS	AG	SG	HG	χ^2	Phi	P
	N (%)	N (%)	N (%)			
SYMPTOMS						
WEAKNESS	0(00)	4(36)	14(88)	29.8	0.78	<0.001
IMBALANCE	1(05)	3(27)	13(81)	23.4	0.70	<0.001
CHANGES IN GAIT	1(05)	3(27)	15(94)	30.3	0.80	<0.001
CONSTIPATION BOWEL	2(10)	4(36)	15(94)	26.5	0.74	<0.001
URINARY DYSFUNCTION	0(00)	6(55)	16(100)	37.0	0.88	<0.001
ERECTILE DYSFUNCTION ^a	0(00)	1(50)	2(67)	9.0	0.73	0.011
ORGASMIC DYSFUNCTION	2(10)	2(18)	6(38)	4.4	0.30	0.112
FATIGUE	0(00)	5(46)	11(69)	20.3	0.65	<0.001
CRAMPS	2(10)	6(55)	10(63)	12.6	0.51	0.002
BACKACHE	3(14)	4(36)	12(75)	14.1	0.54	0.001
MYALGIA	0(00)	2(18)	06(38)	9.2	0.44	0.010
NEUROLOGICAL SIGNS						
TACTILE SENSATION ^{b,c}	1(05)	1(09)	6(38)	7.6	0.40	0.022
POSITION SENSATION	0(00)	0(00)	1(06)	2.0	0.21	0.360
VIBRATION SENSATION	0(00)	1(09)	7(44)	13.1	0.52	0.001
BABINSKI SIGN	0(00)	0(00)	12(75)	32.0	0.81	<0.001
HYPERACTIVE MSRUE	1(05)	2(18)	7(44)	8.4	0.42	0,019
HYPERACTIVE MSRLE	4(19)	4(36)	12(75)	11.9	0.49	0,003
WEAKNESS UE (C5-C6)	0(00)	0(00)	2(13)	4.2	0.30	0.124
WEAKNESS LE (L2-S1) ^d	0(00)	8(73)	14(88)	32.2	0.82	<0.001
SPASTIC PARAP. GAIT	0(00)	0(00)	13(81)	35.7	0.86	<0.001
ROMBERG SIGN ^e	0(00)	0(00)	2(14)	2.3	0.22	0.323
SPASTICITY	0(00)	1(09)	10(63)	21.6	0.67	<0.001
SYSTEMIC DISEASES						
HYPERTENSION	5(24)	2(18)	6(38)	1.4	0.17	0.488
DIABETES	2(10)	1(09)	1(06)	0.2	0.05	0.933
HYPOTHYROIDISM	1(05)	0(00)	3(19)	3.6	0.28	0.163
HYPERTIREOIDISM	0(00)	0(00)	1(06)	2.0	0.21	0.360
DYSLIPIDEMIA	1(05)	3(27)	4(25)	3.8	0.28	0.147
SICCA SYNDROME	0(00)	0(00)	3(19)	6.4	0.37	0.041
DEPRESSION ^{f,g}	0(00)	1(09)	2(13)	2.6	0.23	0.270
SMOKING	3(14)	3(27)	2(13)	1.2	0.16	0.555
ALCOHOLISM ^h	4(19)	2(18)	1(06)	1.3	0.18	0.511
CORTICOSTEROID ⁱ	0(00)	0(00)	2(13)	4.2	0.30	0.124
TOTAL	21(100)	11(100)	16(100)			

MSRUE - Muscle stretch reflexes of the upper extremities; MSRLE - Muscle stretch reflexes of the lower extremities; MSR - Muscle stretch reflexes; UE - upper extremities; LE - lower extremities; ^aConsidered men only; ^bSensory changes due to leprosy sequel (AG); ^cHypoesthesia below T1 with normal MRI (SG). It evolved with spontaneous clinical improvement; ^dMuscle weakness compromised the myotomes in the following proportion: L2 (88%), L4-L5 (38%), S1 (25%) and L3 (13%) in HG and L2 (73%) in SG; ^eIt was not evaluated in 2 restricted individuals the wheelchair (HG); ^fThe prevalence of depression may be underestimated. Participants of the GIPH cohort with uncontrolled psychiatric illness and high doses of psychotropic medications were not invited for this study. ^gGeriatric Depression Scale – 15 itens (GDS -15), ^hWHO (>15 doses/week-men and >10 doses/week-women), dose - 8 a 13 g of ethanol; ⁱ0.25 e 0.75 mg dexamethasone/day. AG = Asymptomatic Group, SG = Symptomatic Group, HG = HAM/TSP, CG = Control Group

Table 3 - Standardized uptake value (SUV) in cervical and thoracic spinal cord of HTLV-1 infected individuals and control group.

CNS Segment SUV	Toracic Spinal Cord			Cervical Spinal Cord	
	N	\bar{X}	(SD)	\bar{X}	(SD)
GROUPS					
Asymptomatic (AG)	21	1.38	(0.27)	1.40	(0.35)
Symptomatic (SG)	11	1.10	(0.27)	1.35	(0.31)
HAM/TSP (HG)	16	1.09	(0.16)	1.28	(0.28)
Control (CG)	30	1.59	(0.32)	1.72	(0.55)
ANOVA		F (3, 74) = 15.29; r = 0.45		F (3, 74) = 4.98; r = 0.41	
		p < 0.001		p = 0.003	
GROUPS	N	\bar{X}	(SD)	\bar{X}	(SD)
HTLV-1 infected(HIG)	48	1.22	(0.27)	1.35	(0.32)
Control (CG)	30	1.59	(0.32)	1.72	(0.55)
t-test		t (76) = - 5.413; r = 0.53		t (76) = -3.842; r = 0.40	
		p < 0.001		p = 0.001	

\bar{X} - Average; SD - Standard deviation; SUV - Standardized uptake value.

Table 4- Cytokines, blood and CSF proviral load of HTLV-1 infected individuals.

GROUPS	AG (N = 21)		SG (N = 11)		HG (N = 15)		
Plasma (pg/ml)	\bar{X} (SD)	M_e	\bar{X} (SD)	M_e	\bar{X} (SD)	M_e	p^a
ITAC	11.3(8.8)	8.8	10.0(5.0)	8.3	16.3(8.6)	15.2	0.003
GMCSF	28(63)	6.5	19.1(16.2)	13.5	14.1(12.7)	9.4	0.395
Fracktalkine	66(36)	68.5	57.1(26.2)	52.7	53.0(21.1)	50.1	0.241
IFNgamma	7.7(11.7)	5.3	5.6(2.7)	5.8	4.6(1.9)	4.2	0.193
IL-10	1.1(0.5)	0.9	1.1(0.6)	0.9	1.0(0.6)	0.7	0.652
Mip3alpha	4.5(1.9)	3.7	4.5(2.2)	3.8	3.7(0.5)	3.8	0.289
IL-12p70	1.2(1.1)	0.7	0.8(0.8)	0.4	1.7(1.1)	1.9	0.035
IL-13	2.1(1.8)	1.7	1.9(1.2)	1.7	1.7(1.5)	1.3	0.665
IL-17-A	5.5(3.3)	4.7	5.0(3.0)	4.5	3.5(1.6)	3.1	0.027
IL-1beta	0.6(0.4)	4.9	0.6(0.2)	0.6	0.6(0.1)	0.6	0.079
IL-2	1.9(1.8)	1.1	1.7(1.0)	1.2	2.0(1.1)	1.5	0.172
IL-21	2.0(4.9)	0.7	0.8(0.5)	0.9	0.8(0.4)	0.7	0.987
IL-4	3.1(3.1)	1.7	2.3(1.7)	2.2	1.8(1.1)	1.4	0.360
IL-23	71(41)	67.7	67.1(29)	58.2	62.8(19.1)	60.8	0.552
IL-5	0.6(0.5)	0.4	0.7(0.3)	0.5	0.5(0.2)	0.4	0.724
IL-6	0.7(0.4)	0.7	0.7(0.5)	0.6	1.0(0.6)	1.0	0.065
IL-7	1.0(1.3)	0.3	0.4(0.4)	0.2	0.7(0.6)	0.3	0.630
IL-8	2.3(1.4)	2.0	2.1(1.5)	1.5	2.0(0.9)	2.0	0.343
TNF-alpha	0.9(0.8)	0.6	0.5(0.2)	0.5	0.8(0.6)	0.7	0.797
CSF (pg/ml)	AG (N = 21)		SG (N = 11)		HG (N = 14)		
ITAC	58.3(32.3)	51.7	55(32.3)	44.4	117(64.2)	100.5	0.002
GMCSF	0.7(0.2)	0.7	0.8(0.2)	0.8	0.8(0.3)	0.7	0.317
Fracktalkine	141(32.8)	131.5	155(26.1)	148.1	134(32.2)	142.7	0.489
IFNgamma	1.0(0.9)	0.6	1.8(1.7)	0.6	3.0(3.3)	2.0	0.043
IL-10	4.3(2.8)	4.4	4.8(5.8)	2.7	5.3(2.4)	5.4	0.250
Mip3alpha	33.0(6.5)	31.8	30.9(5.7)	32.8	30.8(7.7)	28.5	0.207
IL-12p70	1.1(0.9)	0.8	1.0(0.5)	0.8	1.6(1.0)	1.2	0.108
IL-13	4.3(2.5)	5.0	5.4(2.2)	5.7	4.2(2.7)	5.1	0.879
IL-17-A	0.3(0.4)	0.3	0.2(0.1)	0.2	0.2(0.1)	0.2	0.574
IL-1beta	0.3(0.4)	0.2	0.3(0.5)	0.3	0.3(0.02)	0.3	0.574
IL-2	1.1(0.3)	1.2	1.1(0.7)	1.2	1.3(0.4)	1.2	0.288
IL-21	3.0(2.1)	2.3	3.7(1.4)	3.9	3.0(1.8)	3.6	0.892
IL-4	0.6(0.4)	0.4	0.3(0.1)	0.4	0.5(1.2)	0.4	1.000
IL-23	29.2(15.7)	25.2	40.5(18.2)	37.8	32.6(20.0)	34.6	0.623
IL-5	3.2(1.1)	2.9	3.3(1.0)	2.9	3.7(0.8)	3.8	0.012
IL-6	5.6(2.7)	5.0	5.0(1.5)	5.4	4.7(1.2)	4.4	0.189
IL-7	6.9(5.3)	6.3	7.6(4.5)	7.9	8.6(5.1)	8.7	0.521
IL-8	25.8(5.3)	25.0	26.0(6.0)	25.6	30.5(5.8)	29.6	0.010
TNF-alpha	0.8(0.9)	0.4	0.6(0.4)	0.7	1.5(0.9)	1.5	0.015
Blood proviral load	AG (N = 20)		SG (N = 11)		HG (N = 14)		
load (Copies/10 ³ cells)	142(173)	89.5	29(42)	13.0	336(301)	291.5	0.001
CSF proviral load	AG (N = 18)		SG (N = 11)		HG (N = 12)		
load (Copies/10 ³ cells)	515(1035)	0.0	50(105)	0.0	1228(1086)	945.5	<0.001

^aKruskal-Wallis Test; \bar{X} - average; SD - Standard deviation; ; M_e - median; AG - Asymptomatic Group; SG- Symptomatic Group; HG- HAM/TSP Group; CSF - Cerebrospinal Fluid.

Table 5 - ROC curve of variables that individually discriminated between asymptomatic and HAM/TSP groups.

Variable	Area	p	Cutoff	Sens. (%)	Spec. (%)	CI 95%
Plasma ITAC	0.790	0.003	≥ 10.02	86.7	71.4	0.637-0.994
Plasma IL-12p/70	0.708	0.036	≥ 0.875	66.7	61.9	0.540-0.876
Plasma IL-17A	0.719	0.027	≤ 4.230	73.3	71.4	0.549-0.889
CSF ITAC	0.811	0.002	≥ 71.13	71.4	76.2	0.668-0.954
CSF INF-gamma	0.696	0.053	≥ 1.445	57.1	71.4	0.504-0.887
CSF IL-5	0.753	0.012	≥ 3.355	85.7	66.7	0.578-0.929
CSF IL-8	0.759	0.010	≥ 25.85	85.7	61.9	0.599-0.918
CSF TNF-alpha	0.747	0.015	≥ 0.830	71.4	66.7	0.582-0.911
Blood PVL	0.741	0.018	≥ 193.5	71.4	75.0	0.573-0.909
CSF PVL	0.815	0.004	≥ 399.5	91.7	72.2	0.660-0.969
Thoracic SC SUV	0.838	0.001	≤ 1.150	75.0	85.7	0.706-0.969

CSF - Cerebrospinal fluid; SC - Spinal Cord; Sens. - Sensitivity; Spec. - Specificity.

Table 6 - Correlation between the variables that presented a statistically significant difference between the infected HTLV-1 groups.

Variables	Plasma ITAC	Plasma IL-6	Plasma IL-17 A	CSF ITAC	CSF INF- gamma	CSF IL-5	CSF IL-8	CSF TNF- alpha	Blood PVL	CSF PVL	Thorac. SUV	EDSS
Plasma Coef.	1.000	.424**	-.050	.559**	.317*	.210	.153	.314*	.407**	.483**	.006	.365*
ITAC 2 Ext.		.003	.740	.000	.034	.166	.314	.036	.006	.002	.967	.012
N	47	47	47	45	45	45	45	45	44	40	47	47
Plasma Coef.	.424**	1.000	.368*	.264	.440**	.159	.050	.243	.262	.247	-.029	.229
IL-6 2 Ext.	.003		.011	.079	.003	.297	.742	.108	.085	.125	.846	.122
N	47	47	47	45	45	45	45	45	44	40	47	47
Plasma Coef.	-.050	.368*	1.000	-.314*	-.107	.048	-.065	-.155	-.183	-.238	.147	-.350*
IL-17A 2Ext.	.740	.011		.036	.484	.756	.671	.309	.235	.138	.324	.016
N	47	47	47	45	45	45	45	45	44	40	47	47
CSF Coef.	.559**	.264	-.314*	1.000	.524**	.296*	.353*	.524**	.504**	.651**	-.179	.452**
ITAC 2 Ext.		.000	.079	.036		.000	.046	.016	.000	.001	.235	.002
N	45	45	45	46	46	46	46	46	43	41	46	46
CSF Coef.	.317*	.440**	-.107	.524**	1.000	.237	.300*	.410*	.181	.297	-.082	.339*
INF- 2 Ext.	.034	.003	.484	.000		.113	.043	.005	.244	.059	.587	.021
gamma N	47	45	45	46	46	46	46	46	43	41	46	46
CSF Coef.	.210	.199	.159	.296*	.237	1.000	.466**	.512**	.161	.426**	-.308*	.346*
IL-5 2 Ext.	.166	.189	.297	.046	.133		.001	.000	.302	.006	.038	.019
N	45	45	45	46	46	46	46	46	43	41	46	46
CSF Coef.	.153	.050	-.065	.353*	.300*	.466**	1.000	.508**	-.085	.165	-.187	.423**
IL-8 2 Ext.	.314	.742	.671	.016	.043	.001		.000	.587	.303	.213	.003
N	45	45	45	46	46	46	46	46	43	41	46	46
CSF Coef.	.3148	.243	-.155	.524**	.410**	.512**	.508**	1.000	.188	.392*	-.361*	.407**
TNF- 2 Ext.	.036	.108	.309	.000	.005	.000	.000		.228	.011	.014	.005
alpha N	45	45	45	46	46	46	46	46	43	41	46	46
Blood Coef.	.407**	.262	-.183	.504**	.181	.161	-.085	.188	1.000	.810**	.062	.234
PVL 2 Ext.	.006	.085	.235	.001	.244	.302	.587	.28		.000	.686	.122
N	44	44	44	43	43	43	43	43	45	40	45	45
CSF Coef.	.483**	-.029	-.238	.651**	.297	.426**	.165	.392*	.810**	1.000	-.246	.395**
PVL 2 Ext.	.002	.846	.138	.000	.059	.006	.303	.011	.000		.122	.011
N	40	47	40	41	41	41	41	41	40	41	41	41
Thorac. Coef.	.006	-.062	.147	-.179	-.082	-.308*	-.187	-.361*	.062	-.246	1.000	-.526**
SUV 2 Ext.	.967	.679	.324	.235	.587	.038	.213	.014	.686	.122		.000
N	47	47	47	46	46	46	46	46	45	41	48	48
EDSS Coef.	.365*	.229	-.350*	.452**	.339*	.346*	.423**	.407**	.234	.395*	-.526**	1.000
2 Ext.	.012	.122	.016	.002	.021	.019	.003	.005	.122	.011	.000	
N	47	47	47	46	46	46	46	46	45	41	48	48

Spearman Correlation. CSF - Cerebrospinal fluid; PVL - Proviral load; SUV - Standardized uptake value; EDSS – Expanded disability status scale. **The correlation is significant at the 0.01 level (2 extremities) and *the correlation is significant at the 0.05 level (2 extremities).

Table 7- Cytokines and chemokines that presented significant statistical difference with respect to gender.

CYTOKINES (pg/ml)	N	Female M_e	Male M_e	U	R	P
ASYMPTOMATIC GROUP						
Plasma FRACKTAL	21	90.95	44.32	83.00	0.45	0.041
Plasma INF-gamma	21	6.61	4.20	90.00	0.55	0.009
Plasma IL-12p 70	21	2.13	0.34	87.00	0.51	0.018
Plasma IL-13	21	3.15	1.28	92.00	0.59	0.006
Plasma IL-17 A	21	6.53	4.33	82.00	0.43	0.049
Plasma IL-1 beta	21	0.67	0.41	88.50	0.54	0.012
Plasma IL-2	21	2.22	0.94	95.00	0.63	0.002
Plasma IL-21	21	1.33	0.44	89.00	0.54	0.012
Plasma IL-5	21	0.90	0.29	94.00	0.62	0.003
Plasma IL-6	21	1.06	0.46	98.00	0.68	0.001
Plasma IL-7	21	1.52	0.06	95.50	0.64	0.002
Plasma TNF-alpha	21	1.23	0.43	81.50	0.42	0.049
CSF FRACKTAL	21	168.63	124.52	81.50	0.43	0.049
CSF IL-7	21	10.98	2.76	92.50	0.60	0.004
SYMPTOMATIC GROUP						
Plasma IL-17 A	11	4.42	10.41	0.00	-0.43	0.036
Plasma IL-21	11	0.54	1.49	0.50	-0.61	0.036
CSF FRACKTAL	11	148.08	123.9	17.50	0.61	0.036
HAM/TSP GROUP						

16 There was no statistically significant difference in the distribution of cytokines in relation to gender.

M_e - median; U- Mann-Whitney test.

Table 8 - Risk factors predictive of HAM/TSP in univariate and multivariate regression.

VARIABLES	UNIVARIATE				MULTIVARIATE			
	B	OR	95 % CI	P	B	OR	95 % CI	P
Thoracic SC SUV	-6.904	0.001	0.001-0.118	0.011	-8.536	0.001	0.001-0.141	0.011
CSF ITAC	0.026	1.027	1.006-1.047	0.024	0.032	1.033	1.004-1.062	0.006
Female gender	1.754	5.778	1.258-26.53	0.024				0.124
Plasma IL-6	1.514	4.545	1.005-20.55	0.049				0.141
CSF IFN-gamma	0.608	1.836	1.041-3.238	0.036				0.323
CSF IL-8	0.165	1.179	1.014-1.372	0.033				0.421
Blood proviral load	0.004	1.004	1.000-1.008	0.050				0.312

Multivariate conditional backward stepwise (Wald) model with imput $p = 0.100$, constant $p = 0.048$. Adjusted R^2 of the multivariate model: 0.654. Hosmer-Lemeshow test, $p = 0.297$.

REFERENCES

1. Gessain A, Barin F, Vernant JC, Gout O, Maurs L, Calender A, et al. Antibodies to human T lymphotropic virus type I in patients with tropical spastic paraparesis. *Lancet*. 1985; 2: 407-10.
2. Osame M, Usuku K, Izumo S, Ijichi N, Amitani H, Igata A, et al. HTLV-I associated myelopathy: a new clinical entity. *Lancet*. 1986; 1:1031-2.
3. Román GC, Osame M. Identity of HTLV-I-associated tropical spastic paraparesis and HTLV-I-associated myelopathy. *Lancet*. 1988; 1:651.
4. Verdonck K, González E, Dooren SV, Vandamme AM, Vanham G, Gotuzzo E. Human T-lymphotropic virus 1: recent knowledge about an ancient infection. *Lancet Infect Dis* 2007; 7: 266–81.
5. Romanelli LC, Caramelli P, Carneiro-Proietti ABF. Human Tcell Lymphotropic Virus (HTLV) 1: when should infection be suspected? *Rev Assoc Med Bras*. 2010; 56(3): 340-7.
6. Souza A, Tanajura D, Toledo-Cornell C, Santos S, Carvalho EM. Immunopathogenesis and neurological manifestations associated to HTLV-1 infection. *Rev Soc Bras Med Trop*. 45(5): 545-552, Sep-Oct, 2012.
7. Fuzii HT, Dias GAS, Barros RJS, Falcão LFM, Quaresma JAS. Immunopathogenesis of HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *Life Sciences* 2014; 104: 9–14.
8. World Health Organization. Report of the scientific group on HTLV-I and associated diseases, Kagoshima, Japan, December 1988: Virus diseases. Human T lymphotropic virus type I, HTLV-I. *Wkly Epidem Rec*. 1989; 49: 382-383.
9. Castro-Costa CM, Araújo AQ, Barreto MM, Takayanagui OM, Sohler MP, da Silva EL, et al. Proposal for diagnostic criteria of tropical spastic paraparesis /HTLV-I- associated myelopathy (TSP/HAM). *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2006; 22(10): 931-5.
10. Carod-Artal FJ. Immunopathogenesis and treatment of the myelopathy associated to the HTLV-I virus. *Rev Neurol*. 2009; 48 (3), pp. 147-155.

11. Bagnato F, Butman JA, Mora CA, Gupta S, Yamano Y, Tasciyan TA, et al. Conventional magnetic resonance imaging features in patients with tropical spastic paraparesis. *J Neurovirol.* 2005; 11(6): 525-34.
12. World Health Organization. Report of the scientific group on HTLV-I and associated diseases, Kagoshima, Japan, December 1988: Virus diseases. Human T lymphotropic virus type I, HTLV-I. *Wkly Epidem Rec.* 1989; 49: 382-383.
13. Castro-Costa CM, Araújo AQ, Barreto MM, Takayanagui OM, Sohler MP, da Silva EL, et al. Proposal for diagnostic criteria of tropical spastic paraparesis/HTLV-I-associated myelopathy (TSP/HAM). *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2006; 22(10): 931-5.
14. Yesavage JA, Brink TL, Rose TL, Lum O, Huang V, Adey M, Leirer VO. Development and validation of a geriatric depression screening scale: a preliminary report. *J Psychiatr Res.* 1982-1983; 17 (1): 37-49.
15. Champs AP, Passos VM, Barreto SM, Vaz LS Ribas JG. Mielopatia associada ao HTLV-1: análise clínico-epidemiológica em uma série de casos de 10 anos. *Ver Soc Bras Med Trop.* 2010; 43: 688-72.
16. Schütze M, Romanelli LC, Rosa DV, Carneiro-Proietti ABF, Nicolato R, Romano-Silva MA, Brammer M, Miranda DM. Brain Metabolism Changes in Patients Infected with HTLV-1. *Front Mol Neurosci.* 2017; 10:52
17. Korn RL, Coates A, Millstine J. The role of glucose and FDG metabolism in the interpretation of PET studies. In: Lin EC and Alavi A. *PET and PET/CT: a clinical guide.* New York: Thieme Medical Publishers, 2009; P 22-23.
18. Jones KS, Lambert S, Bouttier M, Bénit L, Ruscetti FW, Hermine O and Pique C. Molecular Aspects of HTLV-1 Entry: Functional Domains of the HTLV-1 Surface Subunit (SU) and Their Relationships to the Entry Receptors. *Viruses* 2011; 3: 794-810.
19. Montanheiro PA, Penalva de Oliveira AC, Posada-Vergara MP, Milagres AC, Tauil C, Marchiori PE, Duarte AJS, Casseb J. Human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) proviral DNA viral load among asymptomatic patients and patient with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Braz J Med Biol Res.* 2005; 38:1643-1647
20. Lezin A, Olindo S, Olière S, Varrin-Doyer M, Marlin R, Cabre P, Smadja D,

- Cesaire R. Human T Lymphotropic Virus Type I (HTLV-I) Proviral Load in Cerebrospinal Fluid: A New Criterion for the Diagnosis of HTLV-I–Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis? *J Infect Dis.* 2005; 191:1830–4
21. Martins ML, Guimarães JC, Ribas JG, Romanelli LC, de Freitas Carneiro-Proietti AB. Long-term follow-up of HTLV-1 proviral load in asymptomatic carriers and in incident cases of HAM/TSP: what is its relevance as a prognostic marker for neurologic disease? *J Neurovir.* 2017; 23(1):125-133.
 22. Chaves DG, Sales CC, Gonçalves PC, Silva-Malta MCF, Romanelli LC, Ribas JG, Carneiro-Proietti ABF, Martins ML. Plasmatic Proinflammatory Chemokines Levels Are Tricky Markers to Monitoring HTLV-1 Carriers. *J Med Virol.* 2016; 88:1438-1447.
 23. Iwakura Y, Ishigame H, Saijo S, Naka S. Functional Specialization of Interleukin-17 Family Members. *Immun.* 2011; 34(2): 149-62.
 24. Dantas L, Netto E, Glesby M, Carvalho E, Machado P. Dermatological Manifestations of Individuals Infected with Human T-cell Lymphotropic Virus type 1. *Int J Dermatol.* 2014; 53(9): 1098-1102.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Permanecem muitas dúvidas sobre esta complexa relação entre o HTLV-1 e humanos, mesmo com todo o conhecimento gerado nos últimos 30 anos. Este estudo foi elaborado com o propósito de responder parte destas dúvidas, com foco no comprometimento neurológico e do CNS. Após a descoberta do HTLV-1 em 1980 e sua associação a doenças neoplásica e inflamatórias, prevaleceu o conceito de baixa morbidade associada a esta infecção em humanos. Esta baixa morbidade tem sido questionada nos últimos anos em decorrência de técnicas e exames com maior sensibilidade na detecção de doença neurológica associada ao HTLV-1. O grau e frequência do comprometimento neurológico associado ao HTLV-1 ainda não está totalmente esclarecido. Na busca de evidenciar a extensão do comprometimento neurológico associado a esta infecção, utilizamos a 18-F FDG PET/CT, um exame de alta sensibilidade para avaliação metabólica tecidual e concomitantemente avaliação funcional do tecido analisado. Em associação ao exame de 18-F FDG PET/CT nós tentamos utilizar alguns dos principais preditores de risco para HAM/TSP descritos na literatura, visto que a HAM/TSP é definida como a doença neurológica clássica associada a esta infecção. Com base em nossos resultados nós conseguimos responder nossos objetivos e hipóteses e destacamos alguns novos e importantes conceitos sobre a doença neurológica associada ao HTLV-1 em humanos, que descrevemos a seguir.

A 18-F FDG PET/CT da medula torácica (SUV) apresentou boa acurácia na discriminação do status clínico neurológico dos indivíduos infectados pelo HTLV-1, evidenciando diferença metabólica estatisticamente significativa entre os indivíduos infectados pelo HTLV-1: assintomáticos, sintomáticos, HAM/TSP. Como também dos indivíduos infectados pelo HTLV-1 e grupo controle.

A 18-F FDG PET/CT da medula torácica (SUV) de indivíduos infectados pelo HTLV-1 demonstrou uma correlação inversa com o grau de comprometimento neurológico mensurado pela escala EDSS e as citocinas IL-5 e TNF alpha do líquido, mas não correlacionou com a carga proviral do sangue e do líquido.

A 18-F FDG PET/CT da medula cervical (SUV) foi acurada para discriminar entre HTLV-1 infectados e grupo controle, apresentou diferença estatística significativa entre os grupos: assintomático, sintomático e HAM/TSP, mas não foi capaz de os

discriminar e de demonstrar que há comprometimento metabólico em outro segmento do SNC além da medula torácica. Com base nos resultados observados na 18-F FDG PET/CT confirmamos como observado em estudos clínicos, de imagem e neurofisiológicos, que o comprometimento neurológico associado ao HTLV-1 não se encontra restrito a medula torácica, envolvendo outros segmentos do SNC, mas a 18-F FDG PET/CT também demonstrou que o segmento medular torácico encontra-se mais acometido que o segmento cervical.

A escala EDSS também correlacionou positivamente com as quimiocinas: ITAC do plasma, ITAC e IL- 8 do líquido; citocinas do líquido: INF-gamma, IL-5 e TNF-alpha; e a carga proviral do líquido. Com a IL- 17 A do plasma a escala EDSS apresentou uma correlação negativa.

Durante a elaboração do projeto, conforme dados da literatura, consideramos o mecanismo fisiopatológica do comprometimento do SNC pelo HTLV-1 de origem inflamatória, imunomediada, por dano circundante. Porém fomos surpreendidos pelo hipometabolismo observado na 18-F FDG PET/CT da medula torácica e cervical inclusive nos indivíduos assintomáticos infectados pelo HTLV-1. Para responder este achado de hipometabolismo na 18-F FDG PET/CT, partimos inicialmente para elucidar como uma doença infecciosa sistêmica acomete inicialmente e de forma mais pronunciada o segmento medular torácico. Como descrito na literatura, a porção torácica da medula espinhal é considerada uma região com fluxo sanguíneo deficiente (*watershed area*) em relação aos demais segmentos do SNC. Uma interposição de conhecimentos considerando a anatomia da medula torácica, estudos anatomopatológicas da HAM/TSP, descrições clínicas das doenças neurológicas associadas ao HTLV-1, em especial da HAM/TSP, e também de exames de imagem e neurofisiológicos, nos levaram a concluir que fatores vasculares inerentes a macrocirculação do segmento vascular torácico e também a microcirculação de todos os segmentos do SNC poderiam estar envolvidos no processo fisiopatológico associado ao comprometimento do SNC pelo HTLV-1. Baseado em estudos anatomopatológicos de indivíduos com HAM/TSP, que demonstram maior comprometimento de *watershed area* da medula torácica média e inferior, concluímos que áreas do SNC com baixa perfusão sanguínea e sujeitas a hipóxia são mais vulneráveis ao acometimento pelo HTLV-1. Seguindo este raciocínio, surgiu uma segunda pergunta, porque regiões do

SNC mais susceptíveis a hipóxia seriam preferencialmente acometidas pelo HTLV-1? Em paralelo, uma redução da perfusão tecidual do SNC explica o hipometabolismo observado na 18-F FDG PET/CT.

Considerando os mecanismos de entrada do HTLV-1 em células não infectadas, utilizando as proteínas de parede celular: heparan sulfato proteoglicanas (HSPG), Neuropilina-1 (NRP-1), importantes para a ligação da célula infectada pelo HTLV-1 a célula não infectada, proporcionando alterações conformacionais do HTLV-1, que facilitam sua entrada através do transportador de glicose tipo 1 (GLUT-1). Retornando ao relato de maior vulnerabilidade do SNC em áreas de menor fluxo sanguíneo e sujeitas a hipóxia, concluímos que nestes segmentos com menor perfusão sanguínea há maior expressão de fator de crescimento vascular (VEGF), importante na angiogênese. O VEGF₁₆₅ encontra-se principalmente ligado as proteínas de parede HSPG e NRP-1 também utilizadas pelo HTLV-1. Considerando esta possível correlação, deduzimos que as os segmentos do SNC sujeitos a hipóxia apresentam maior expressão de VEGF₁₆₅, com maior exposição das proteínas HSPG e NRP-1 na parede celular e conseqüente facilitação da entrada do HTLV-1 na célula não infectada.

Outro ponto importante a ser discutido, quais células seriam passíveis da entrada do HTLV-1 para ocasionar comprometimento do SNC e o hipometabolismo observado na 18-F FDG PET/CT? Temos evidências na literatura que suportam a infecção pelo HTLV-1 de células dendríticas e possivelmente endoteliais da barreira hematoencefálica. A infecção destas células pelo HTLV-1 poderiam então comprometer os mecanismos de angiogênese nestes segmentos mais vulneráveis a hipóxia, com conseqüente dano tecidual e quebra da barreira hematoencefálica.

Diante das observações previamente expostas, consideramos como possível processo fisiopatológico inicial no comprometimento de segmentos do SNC pelo HTLV-1 uma microangiopatia na substância branca de *watershed area*, com conseqüente quebra da barreira hematoencefálica, passagem de linfócitos infectados e processo secundário imunomediado que se somaria a microangiopatia.

Destacamos dois pontos em nossos resultados que corroboram com as considerações previamente expostas: primeiro, quanto ao grupo sintomático que apresentou perfil imunológico de citocinas parecido com a do grupo assintomático, carga proviral baixa no sangue e no líquido, mas com metabolismo na medula torácica

observado na 18-F FDG PET/CT muito próximo ao observado no grupo HAM/TSP; segundo, a não correlação da 18-F FDG PET/CT com a carga proviral do sangue e do líquido. Estes dois pontos sugerem que há outro mecanismo fisiopatológico para explicar o comprometimento do SNC, distinto do imunológico, visto não haver o perfil inflamatório de citocinas e carga proviral elevada, em um contexto de hipometabolismo da medula torácica e de comprometimento neurológico incipiente.

Apresentação clínica e a evolução natural da HAM/TSP associada ao conhecimento anatômico, anatomopatológico e de exames complementares, nos levou a concluir que *watershed area* na medula torácica seriam a região de maior vulnerabilidade para o acometimento neurológico em sua fase inicial e também crônica. Os tratos e fibras da coluna lateral do segmento medular torácica: tratos corticoespinal lateral e rubroespinal, fibras rafeespinais, hipotalamoespinais, fastigioespinais e reticuloespinais são prioritariamente envolvidos, correlacionando com a apresentação clínica da HAM/TSP e de outros sinais e sintomas neurológicos observados.

A HAM/TSP se diferencia de outras mielopatias infecciosas, inflamatórias e nutricionais tanto do ponto de vista topográfico como sindrômico. Topograficamente se destaca o comprometimento da coluna lateral em sua porção mais medial, *watershed area*. Sindrômicamente destaca a presença de paraparesia espástica, sintomas autonômicos, dor neuropática, com discreto ou ausente acometimento da sensibilidade superficial, proprioceptiva e da coordenação, evidenciando menor acometimento de outras áreas da medula, como: o cordão posterior, a coluna anterior e a porção periférica da coluna lateral correspondente aos tratos espinocerebelares.

A carga proviral do líquido apresenta correlação e foi proporcionalmente mais elevada que a carga proviral do sangue entre os grupos assintomático, sintomático e HAM/TSP. A razão da carga proviral do líquido pela do sangue não foi estatisticamente diferente entre os três grupos de infectados. O grupo HAM/TSP apresentou a carga proviral mais elevada, seguida pelo grupo assintomático. O grupo sintomático apresentou carga proviral bem mais baixa tanto no sangue como no líquido em comparação ao grupo HAM/TSP e sintomático. Nossos achados sugerem que a carga proviral alta tanto no sangue como no líquido é um fator de risco para o desenvolvimento da HAM/TSP, mas a carga proviral elevada não explica ou parece ser um fator causal direto para o acometimento do SNC, e não deve ser considerada como marcadora de

doença. Chama atenção para este fato o grupo sintomático, que apresentou carga proviral baixa no sangue e no líquido, mas perfil metabólico pelo 18-F FDG PET/CT na medula torácica semelhante ao observado no grupo HAM/TSP, por outro lado indivíduos assintomáticos com carga proviral elevada tanto no sangue como no líquido.

O grupo HAM/TSP apresentou um perfil de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias mais elevadas em relação aos grupos assintomático e sintomático, que não apresentaram diferença estatística significativa entre si. Algumas destas citocinas e quimiocinas se correlacionaram positivamente com a escala EDSS, exceto a IL-17 A que se correlacionou negativamente, nos parecendo que esta via se encontra inibida em indivíduos com carga proviral elevada.

Para concluir, tentamos avaliar entre as variáveis estudadas quais seriam as preditoras de HAM/TSP em um modelo multivariado entre grupos assintomático e HAM/TSP. Em uma análise de regressão univariada foram preditoras independentes as variáveis: gênero feminino, SUV da medula torácica, IL-6 no plasma, ITAC, INF-gamma e IL-8 no líquido e carga proviral no sangue. O SUV da medula torácica e a ITAC do líquido foram as únicas variáveis independentes que aderiram ao modelo multivariado, com uma classificação de 81,3% entre indivíduos do grupo assintomático e HAM/TSP. Este resultado corrobora com a ideia de que o processo fisiopatológico da HAM/TSP possa decorrer de uma associação entre: microangiopatia, evidenciada pelo hipometabolismo na medula torácica observado na PET/CT e processo imunomediado, evidenciado pela ITAC do líquido, quimiocina com propriedade quimiotática sobre células T, induzida principalmente pelo IFN-gamma, uma das principais citocinas representantes da via Th1.

Uma das principais limitações de nosso estudo se refere ao pequeno tamanho amostral que pode ter influenciado nos resultados obtidos. Outra limitação, que consideramos de menor importância foi a de o grupo controle do 18-F FDG PET/CT não ter realizado teste sorológico para afastar infecção pelo HTLV-1. Com relação a este fato consideramos de baixa probabilidade a infecção pelo HTLV-1 em indivíduos do grupo controle dada a prevalência de infectados pelo HTLV-1 na população brasileira de 1%. Outro aspecto a ser considerado é que a presença de HTLV-1 infectados no grupo controle levaria a redução da magnitude do efeito observado nos resultados da 18-F FDG PET/CT entre infectados pelo HTLV-1 e grupo controle. A

terceira e última limitação é a ausência de grupo controle para citocinas e quimiocinas, que limitou nossas observações a comparação apenas entre os grupos de infectados.

Concluímos que a infecção pelo HTLV-1 compromete o SNC da maioria dos indivíduos infectados. A medula torácica é o segmento do SNC mais acometido pelo HTLV-1, mas outros segmentos do SNC também são comprometidos. Há um provável comprometimento microcirculatório associado a processo imunomediado na fisiopatologia da HAM/TSP, ambos os processos se interagem e associam no processo de entrada do HTLV-1 em células da barreira hematoencefálica de segmentos do SNC susceptíveis à hipóxia. Nossos achados abrem espaço para estudos envolvendo os mecanismos associados a microangiopatia e resposta imune em indivíduos infectados pelo HTLV-1.

FUNDAÇÃO HEMOMINAS-MG



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do Uso da Tomografia por Emissão de Pósitrons no Diagnóstico da Mielopatia Associada ao Vírus Linfotrópico de Células T Humanas Tipo 1

Pesquisador: LUIZ CLÁUDIO FERREIRA ROMANELLI

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 20784913.0.0000.5118

Instituição Proponente: FUND CENTRO HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DE MINAS GERAIS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 490.021

Data da Relatoria: 05/12/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se de estudo transversal de sujeitos infectados pelo HTLV-1 da coorte GIPH, assintomáticos, sintomáticos sem HAM/TSP, HAM/TSP incipiente, HAM/TSP definida, com fins de avaliação do valor da tomografia por emissão de pósitrons no auxílio diagnóstico da HAM/TSP e de outras possíveis doenças neurológicas e sistêmicas associadas ao HTLV-1.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o uso da PET/CT no diagnóstico da HAM/TSP em fase precoce e tardia da doença, com avaliação da sua sensibilidade e especificidade como exame complementar no diagnóstico desta mielopatia.

Objetivo Secundário:

- 1- Avaliar o valor da PET/CT no diagnóstico de outros acometimentos neurológicos na presença ou ausência da HAM/TSP em pacientes HTLV-1 soropositivos.
- 2- Comparar a sensibilidade e especificidade da PET/CT com método de imagem por ressonância

Endereço: Alameda Ezequiel Dias. 321

Bairro: Santa Efigênia

CEP: 30.130-110

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (313)248--4587

Fax: (313)248--4600

E-mail: cep@hemominas.mg.gov.br

Continuação do Parecer: 490.021

magnética no auxílio diagnóstico da HAM/TSP.

3- Confrontar resultados obtidos na PET/CT com: estágio clínico dos portadores do HTLV-1 (assintomáticos, sintomáticos sem HAM/TSP, HAM/TSP incipiente e HAM/TSP definida) e não portadores do vírus (controle);

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Inerente à coleta habitual de sangue, como na coleta de exames de rotina. Possibilidade de reação ao contraste. Risco de infecção, dor ou desconforto no local da punção e dor de cabeça pós punção.

Benefícios:

A possibilidade de um diagnóstico precoce da HAM/TSP em sua fase inicial com esclarecimento fisiopatológico da doença, avaliação da eficácia e monitoramento da resposta a novos tratamentos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Apresentação de ementa ao projeto já aprovado por esse CEP.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram apresentados.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A ementa ao projeto atende os requisitos éticos determinados na Resolução 466/12 e é considerada aprovada.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Ementa aprovada.

Endereço: Alameda Ezequiel Dias. 321

Bairro: Santa Efigênia

CEP: 30.130-110

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (313)248--4587

Fax: (313)248--4600

E-mail: cep@hemominas.mg.gov.br

FUNDAÇÃO HEMOMINAS-MG



Continuação do Parecer: 490.021

BELO HORIZONTE, 12 de Dezembro de 2013

Assinador por:
Felipe Carlos Brito de Souza
(Coordenador)

Endereço: Alameda Ezequiel Dias, 321
Bairro: Santa Efigênia **CEP:** 30.130-110
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (313)248--4587 **Fax:** (313)248--4600 **E-mail:** cep@hemominas.mg.gov.br

Página 03 de 03

Anexo 2 – Aprovação Projeto - COEP UFMG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do Uso da Tomografia por Emissão de Pósitrons no Diagnóstico da Mielopatia Associada ao Vírus Linfotrópico de Células T Humanas Tipo 1

Pesquisador: LUIZ CLÁUDIO FERREIRA ROMANELLI

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 20784913.6.3001.5149

Instituição Proponente: FUND CENTRO HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DE MINAS GERAIS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 603.574-0

Data da Relatoria: 20/12/2013

Apresentação do Projeto:

Adequado

Objetivo da Pesquisa:

Adequado

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Adequado

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Adequado

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequado. Solicitação de emenda para inclusão da UFMG como coparticipante.

"Atualizações e adequações para apresentação ao COEP (UFMG). A folha de rosto não foi alterada, visto não ter ocorrido mudança na mesma com as atualizações e adequações. A instituição coparticipante (UFMG) não apareceu na folha de rosto após as modificações."

Recomendações:

Não há.

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 603.574-0

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Somos pela aprovação da emenda ao projeto "Avaliação do Uso da Tomografia por Emissão de Pósitrons no Diagnóstico da Mielopatia Associada ao Vírus Linfotrópico de Células T Humanas Tipo 1" do pesquisador LUIZ CLÁUDIO FERREIRA ROMANELLI

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovada emenda conforme parecer.

BELO HORIZONTE, 10 de Abril de 2014

Assinador por:

**Maria Teresa Marques Amaral
(Coordenador)**

Este parecer reemitido substitui o parecer número 603574 gerado na data 23/01/2014 11:44:22, onde o número CAAE foi alterado de 20784913.0.0000.5118 para 20784913.6.3001.5149.

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Anexo 3 – World Health Organization – Critérios Diagnósticos HAM/TSP, 1989.

Tabela 1 - Critérios de Diagnóstico para HAM/TSP (WHO, 1989)

Idade e Sexo:

- Mais freqüentemente esporádica e em adultos, mas às vezes familiar, ocasionalmente visto em crianças; predomínio nas mulheres.

Instalação:

- Geralmente insidiosa, mas pode ser súbita.

Principais Manifestações Neurológicas:

- Paraparesia espástica crônica que progride geralmente de forma lenta, às vezes permanece inalterada após progressão inicial.
- Fraqueza dos membros inferiores, de predomínio proximal.
- Distúrbio vesical é uma característica precoce; constipação intestinal ocorre mais tardiamente; impotência e diminuição da libido são freqüentes.
- Sintomas sensitivos como formigamento, agulhadas e queimação, etc. são mais proeminentes do que sinais físicos objetivos.
- Dor lombar baixa com irradiação para os membros inferiores é comum.
- Sensibilidade vibratória é mais freqüentemente comprometida que a proprioceptiva.
- Hiperreflexia dos membros inferiores, freqüentemente com clônus e sinal de Babinski.
- Hiperreflexia dos membros superiores e os sinais de Hoffmann e de Trömner são freqüentes; a fraqueza pode estar ausente.
- Reflexo mandibular exaltado em alguns pacientes.

Achados Neurológicos Menos Freqüentes:

- Sinais cerebelares; atrofia óptica; surdez; nistagmo; déficit de outros nervos cranianos; tremor de mãos; ausência ou diminuição do reflexo aquileu.
- Crises convulsivas, déficit cognitivo, demência ou comprometimento da consciência são raros.

Outras Manifestações Neurológicas:

- Atrofia muscular; fasciculação (rara); polimiosite; neuropatia periférica; polirradiculopatia; neuropatia de nervos cranianos; meningite; encefalopatia.

Manifestações Sistêmicas não neurológicas que podem estar associadas com HAM/TSP:

- Alveolite pulmonar; uveíte; síndrome de Sjögren; artropatia; vasculite; ictiose; crioglobulinemia; gamopatia monoclonal; leucemia/linfoma de células T do adulto.

Diagnóstico Laboratorial:

- Presença de anticorpos anti-HTLV-1 ou de antígenos no sangue e no LCR.
- LCR pode apresentar pleocitose linfocitária moderada.
- Linfócitos lobulados podem estar presentes no sangue e/ou no LCR.
- Pode ocorrer hiperproteínoorraquia leve a moderada.
- Isolamento viral quando Possível no sangue e/ou no LCR.

Anexo 4 – Critérios Diagnósticos para HAM/TSP, revisados Castro-Costa et al. 2006.

Tabela 2 – Critérios Diagnóstica na HAM/TSP – Castro-Costa et al. 2006			
HAM/TSP	Definida	Provável	Possível
CLÍNICA	Paraparesia espástica progressiva, não remissiva, associada à marcha suficientemente comprometida para ser percebida pelo próprio paciente. Sintomas ou sinais sensitivos podem ou não estar presentes. Quando presentes, permanecem sutis e sem nível sensitivo. Sinais ou sintomas esfinterianos anais e urinários podem ou não estar presentes.	Apresentação monossintomática: espasticidade ou hiperreflexia dos membros inferiores ou sinal de Babinski com ou sem sinais sensitivos sutis ou bexiga neurogênica isolada confirmada por testes urodinâmicos.	Apresentação clínica completa ou incompleta.
SOROLOGIA	Presença de anticorpos anti-HTLV-1 no soro e LCR, confirmados por Western blot e/ou detecção do DNA proviral no sangue e/ou LCR		
DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	Exclusão de outras condições que se assemelham a HAM/TSP.		Não exclusão de outras condições que se assemelham a HAM/TSP.

Anexo 5 – Escala EDSS

Escore	Características	Escore Total
0	Exame neurológico normal (todos os SF grau 0; cerebral, grau 1 aceitável)	
1,0	Sem incapacidade (1 SF grau 1)	
1,5	Sem incapacidade (2 SF grau 1)	
2,0	Incapacidade mínima em 1 SF (1 SF grau 2, outros grau 0 ou 1)	
2,5	Incapacidade mínima em 2 SF (2 SF grau 2, outros grau 0 ou 1)	
3,0	Incapacidade moderada em 1 SF (1 SF grau 3, outros grau 0 ou 1) ou incapacidade discreta em 3 ou 4 SF (3/4 SF grau 2, outros grau 0 ou 1). Deambulando plenamente.	
3,5	Deambulação plena, com incapacidade moderada em 1SF (1 SF grau 3) e 1 ou 2 SF grau 2; ou 2SF grau 3; ou 5 SF grau 2 (outros 0 ou 1)	
4,0	Deambulação plena, até 500 m sem ajuda ou descanso (1 SF grau 4, outros 0 ou 1)	
4,5	Deambulação plena, até 300 m sem ajuda ou descanso. Com alguma limitação da atividade ou requer assistência mínima (1 SF grau 4, outros 0 ou 1)	
5,0	Deambulação até 200 m sem ajuda ou descanso. Limitação nas atividades diárias (equivalentes são 1 SF grau 5, outros 0 ou 1; ou combinação de graus menores excedendo o escore 4.0)	
5,5	Deambulação até 100 m sem ajuda ou descanso. Incapacidade impedindo atividades plenas diárias (equivalentes são 1SF grau 5, outros 0 ou 1; ou combinações de graus menores excedendo o escore 4.0)	
6,0	Assistência intermitente ou com auxílio unilateral constante de bengala, muleta ou suporte (equivalentes são mais que 2 SF graus 3+)	
6,5	Assistência bilateral (equivalentes são mais que 2 SF graus 3+)	
7,0	Não anda 5 m mesmo com ajuda. Restrito a cadeira de rodas. Transfere da cadeira para cama (equivalentes são combinações com mais que 1 SF 4+, ou piramidal grau 5 isoladamente)	
7,5	Consegue apenas dar poucos passos. Restrito á cadeira de rodas. Necessita ajuda para transferir-se (equivalentes são combinações com mais que 1 SF grau 4+)	
8,0	Restrito ao leito, mas pode ficar fora da cama. Retém funções de autocuidado; bom uso dos braços (equivalentes são combinações de vários SF grau 4+)	
8,5	Restrito ao leito constantemente. Retém algumas funções de autocuidade e dos braços (equivalentes são combinações de vários SF grau 4+)	
9	Paciente incapacitado no leito. Pode comunicar, não come, não deglute (equivalentes é a maioria de SF grau 4+)	
9,5	Paciente totalmente incapacitado no leito. Não comunica, não come, não deglute (equivalentes são quase todos de SF grau 4+)	
10	Morte por esclerose múltipla	
TOTAL		

Anexo 6 – Sistemas fisiológicos avaliados na EDSS

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

Funções Piramidais

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

Funções Cerebelares

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

Funções do Tronco Cerebral

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

Funções Sensitivas

0. Normal
1. Diminuição de sensibilidade ou estereognosia em 1-2 membros
2. Diminuição discreta de tato ou dor, ou da sensibilidade posicional, e/ou diminuição moderada da vibratória ou estereognosia em 1-2 membros; ou diminuição somente da vibratória em 3-4membros
3. Diminuição moderada de tato ou dor, ou posicional, e/ou perda da vibratória em 1-2 membros; ou diminuição discreta de tato ou dor, e/ou diminuição moderada de toda propriocepção em 3-4 membros
4. Diminuição acentuada de tato ou dor, ou perda da propriocepção em 1-2 membros, ou diminuição moderada de tato ou dor e/ou diminuição acentuada da propriocepção em mais de 2 membros
5. Perda da sensibilidade de 1-2 membros; ou moderada da diminuição de tato ou dor e/ou perda da propriocepção na maior parte do corpo abaixo da cabeça
- V. Desconhecido

Funções Vesicais

0. Normal

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

Funções intestinais

0. Normal

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

Funções Visuais

0. Normal

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

Funções mentais

0. Normal

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

Outras funções

0. Nenhuma

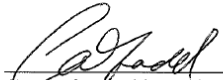
1. Qualquer outro achado devido à EM
2. Desconhecido

Anexo 7 – Permissão de uso e modificação da figura sobre vascularização da medula torácica do artigo 1.



Dr. Nicholas Theodore holds the copyright to figure IM 005776-01 to be used in the grantee's doctoral dissertation at the Graduate Program in Molecular Medicine at the Federal University of Minas Gerais, Brazil. Permission is granted to Dr. Luiz Cláudio Ferreira Romanelli, Neurologist at the Hemominas Foundation, for electronic and print publication of this figure in its original form in the dissertation with distribution rights in all languages throughout the world. All trademark and artist signatures are to remain intact, and the permission is subject to the use of a standard credit line: *Used and modified with permission from Dr. Nicholas Theodore, MD.*

PLEASE NOTE: Permission to use this material in other forms and for other uses requires a separate permission request. Permission to distribute or sell the figure independent of the original print requires a separate permission request. When submitting a request for other uses, please return a copy of this approved permission request to use this material together with the name, anticipated publication date, and tentative price of the other format.


Cassandra Todd, Production Editor
Neuroscience Publications
Barrow Neurological Institute

Date: February 21, 2017

Anexo 8 – Folha de Aprovação



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA MOLECULAR



FOLHA DE APROVAÇÃO

AVALIAÇÃO DE INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANO TIPO 1 POR TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE PÓSITRONS, CITOCINAS, QUIMIOCINAS E CARGA PROVIRAL

LUIZ CLÁUDIO FERREIRA ROMANELLI

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em MEDICINA MOLECULAR, como requisito para obtenção do grau de Doutor em MEDICINA MOLECULAR, área de concentração MEDICINA MOLECULAR.

Aprovada em 11 de agosto de 2017, pela banca constituída pelos membros:

Prof(a). Rodrigo Nicolato - Orientador
UFMG

Prof(a). Ana Barbara Proietti - Coorientadora
Hemominas

Prof(a). Marco Aurelio Romano
UFMG

Prof(a). Debora Marques de Miranda
UFMG



Prof(a). Paulo Pereira Christo
SCBH

Prof(a). João Jardim de Paula
FCMSU

Prof(a). Antonio Toledo Junior
UFMG

Belo Horizonte, 11 de agosto de 2017.

Anexo 9 – Ata da Defesa de Tese

	<p>UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS</p> <p>PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA MOLECULAR</p>	
---	--	---

ATA DA DEFESA DE TESE DO ALUNO LUIZ CLÁUDIO FERREIRA ROMANELLI

Realizou-se, no dia 11 de agosto de 2017, às 14:00 horas, Faculdade de Medicina, Avenida Alfredo Balena, 190., da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de tese, intitulada *AVALIAÇÃO DE INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANO TIPO 1 POR TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE PÓSITRONS, CITOCINAS, QUIMIOCINAS E CARGA PROVIRAL*, apresentada por LUIZ CLÁUDIO FERREIRA ROMANELLI, número de registro 2013732257, graduado no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em MEDICINA MOLECULAR, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Rodrigo Nicolato - Orientador (UFMG), Prof(a). Marco Aurélio Romano (UFMG), Prof(a). Paulo Pereira Christo (SCBH), Prof(a). Jonas Jardim de Paula (FCMMG), Prof(a). Antonio Toledo Junior (UFMG).


A Comissão considerou a tese:


Aprovada

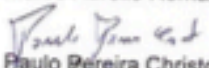
Reprovada


Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.

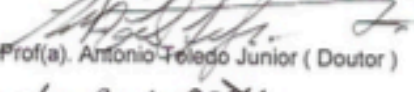
Belo Horizonte, 11 de agosto de 2017.



Prof(a). Rodrigo Nicolato (Doutor)

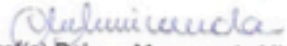

Prof(a). Marco Aurélio Romano (Doutor)


Prof(a). Paulo Pereira Christo (Doutor)


Prof(a). Jonas Jardim de Paula (Doutor)


Prof(a). Antonio Toledo Junior (Doutor)


Prof(a) Ana Barbara Proietti (Doutora)


Prof(a) Debora Marques de Miranda (Doutora)

Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Avaliação do Uso da Tomografia por Emissão de Pósitrons no Diagnóstico da Mielopatia Associada ao Vírus Linfotrófico de Células T Humanas Tipo 1.

As informações abaixo são para tirar suas dúvidas sobre o estudo que será feito.

Além de tirar suas dúvidas, esperamos ter sua autorização para a participação neste estudo.

Queremos fazer esta pesquisa porque existem, hoje em dia, muitas dúvidas a respeito da infecção pelo vírus HTLV-1 nos seres humanos e dificuldades com relação ao diagnóstico das doenças associadas a esta infecção, em especial, o acometimento do sistema nervoso central, da medula, conhecida como mielopatia associada ao vírus HTLV-1 (HAM).

Não existe um benefício direto para você na participação deste estudo. Não existe também nenhum retorno financeiro previsto. No entanto, se você concordar em participar deste estudo, você estará nos ajudando a entender melhor porque alguns pacientes adoecem, se há como prever o surgimento ou facilitar o diagnóstico das doenças neurológicas associadas a este vírus. Você estará contribuindo para que, no futuro, sejam desenvolvidos exames ou testes que ajudem a identificar estas pessoas com maior chance de adoecer, facilitando a identificação e o tratamento delas.

A sua participação consiste em primeiro lugar numa entrevista e exame neurológico, de aproximadamente 40 a 60 minutos, que será seguida por uma avaliação neuropsicológica com duração de 40 a 60 minutos. A avaliação neuropsicológica consiste em uma entrevista, com testes aplicados por uma psicóloga, com a finalidade de avaliar áreas específicas de funcionamento do seu cérebro, como: memória, linguagem, cálculo, orientação espacial, capacidade para executar comandos e tarefas, etc. Estas duas entrevistas, neurológica e neuropsicológica, são importantes para reunir informações sobre seu estado clínico e neurológico. É possível que haja algum desconforto como cansaço e ansiedade. Você poderá solicitar a interrupção da avaliação caso julgue necessário. Uma outra etapa de avaliação consistirá na realização de exames, descritos abaixo. Estes exames serão realizados no Centro de Imagem Molecular da Faculdade de Medicina da UFMG, com agendamento prévio. Para realização dos exames você deverá estar em jejum de 6 horas. O tempo estimado para realização dos exames é de 4 horas e recomenda-se repouso domiciliar no dia após a realização dos mesmos.

- 1- Coleta de sangue, para análise sorológica, perfil imunológico e carga proviral, por meio de punção venosa. Existe risco mínimo de infecção e dor local, inerente à coleta habitual de sangue, como na coleta de exames bioquímicos de rotina. Profissionais treinados e capacitados serão responsáveis pelo procedimento. Observação: pacientes com risco de sangramento, em uso de medicamentos anticoagulantes ou com histórico de discrasias sanguíneas (hemofilia), serão excluídos do estudo. O acesso venoso utilizado para a coleta do sangue será mantido para administração do contraste do exame de neuroimagem.
- 2- Avaliação por meio de exame de neuroimagem (PET/FDG). Você será examinado e conduzido por médico especializado em medicina nuclear, que acompanhará a injeção endovenosa do contraste (FDG). Este procedimento é bem tolerado, relativamente usual em clínica oncológica, com poucos riscos, com remota possibilidade de reação ao contraste.
- 3- Punção lombar realizada por médico neurologista com fins de coleta do líquido cefalorraquidiano (líquor) para estudo rotina do líquor, perfil imunológico e carga proviral. Realizada através de punção na coluna lombar com anestesia na pele. Existe risco mínimo de infecção, dor ou desconforto no local da punção e dor de cabeça.

Após a realização dos exames você receberá um lanche. Você poderá solicitar ajuda de custo para transporte, do dia do exame, no valor de R\$ 10,00 (dez reais). Complicações

relacionadas aos procedimentos, com necessidade de avaliação e seguimento médico, serão encaminhadas, para o pronto atendimento do Hospital das Clínicas da UFMG, conforme parceria firmada com INCT-MM.

Em qualquer etapa do estudo você terá acesso ao pesquisador responsável, Dr. Luiz Cláudio Ferreira Romanelli, para esclarecimento de dúvidas.

Telefones:

Pesquisa Fundação Hemominas – (31) 32484539

Comercial – (31) 25511500/25511499

Celular – (31) 99580636

As informações de todas as pessoas que serão analisadas neste estudo serão mantidas em completo sigilo, como manda a lei. Para isto, os pesquisadores tomarão todas as medidas necessárias para proteger, de quaisquer outras pessoas, suas informações. Seu nome será substituído por um código em todos os materiais. Seu nome e as informações que possam lhe identificar não aparecerão em nenhuma apresentação ou publicação deste trabalho. O Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hemominas de Belo Horizonte, que também tem a finalidade de preservar os indivíduos que participam das pesquisas, pode também ser contatado na Alameda Ezequiel Dias, 321, Santa Efigênia, Belo Horizonte, Minas Gerais, CEP: 30130-110, Tel.:(31) 3248-4587.

Você deve saber também que tem plena liberdade de recusar-se a participar e de se retirar a qualquer momento do projeto de pesquisa, o que não ocasionará qualquer penalização, com manutenção do seu acompanhamento, conforme a rotina habitual do serviço. Você também não está abrindo mão dos seus direitos legais ao assinar este termo.

Confirmo que fui devidamente esclarecido sobre os objetivos e procedimentos deste estudo e, livremente, aceito participar dele e assino este termo de consentimento em três vias, cuja uma delas me será entregue.

Nome por extenso : _____

Assinatura: _____

Belo Horizonte, ____/____/ 201__.

Declaro que expliquei ao participante os propósitos e procedimentos do estudo.

Nome por extenso (PESQUISADOR): _____

Assinatura: _____

Belo Horizonte, ____/____/ 201__.

(3 vias)

Apêndice B – Anamnese neurológica padronizado.

GIPH – Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em HTLV

Protocolo: Neurologia (Dr. Luiz Cláudio Ferreira Romanelli)

1 – Identificação

Data da avaliação: ___/___/___

1.1 – Nome:

1.2 – N° Pesquisa:

2 – Queixa(s) neurológicas (Eu gostaria de saber se nos últimos meses você observou alguma alteração, alguma mudança, no seu corpo referente à):

2.1 – Sua visão? (Visão):

Sim Não Outra etiologia:

Início do sintoma

1 a 30 dias 2 a 6 meses 7 a 11 meses 1 a 2 anos 3 a 4 anos > 4 anos NR

Apresentação

1 sem 2 sem 3 sem a 1 mês 2 a 6 meses 7 a 11 meses > 1 ano

NR

2.2 – Quanto ao cheiro dos alimentos, perfumes? (Olfato):

Sim Não Outra etiologia:

Início do sintoma

1 a 30 dias 2 a 6 meses 7 a 11 meses 1 a 2 anos 3 a 4 anos > 4 anos NR

Apresentação

1 sem 2 sem 3 sem a 1 mês 2 a 6 meses 7 a 11 meses > 1 ano

NR

2.3 – Quanto ao gosto dos alimentos?(Gustação):

Sim Não Outra etiologia:

Início do sintoma

1 a 30 dias 2 a 6 meses 7 a 11 meses 1 a 2 anos 3 a 4 anos > 4 anos NR

Apresentação

1 sem 2 sem 3 sem a 1 mês 2 a 6 meses 7 a 11 meses > 1 ano

NR

2.4 – Dificuldade para engolir, engasgos?(Deglutição):

Sim Não Outra etiologia:

Início do sintoma

1 a 30 dias 2 a 6 meses 7 a 11 meses 1 a 2 anos 3 a 4 anos > 4 anos NR

Apresentação

1 sem 2 sem 3 sem a 1 mês 2 a 6 meses 7 a 11 meses > 1 ano

NR

2.5 – Piora da audição?(Audição):

Sim Não Outra etiologia:

Início do sintoma

1 a 30 dias 2 a 6 meses 7 a 11 meses 1 a 2 anos 3 a 4 anos > 4 anos NR

Apresentação

1 sem 2 sem 3 sem a 1 mês 2 a 6 meses 7 a 11 meses > 1 ano

NR

2.6 – Perda da sensibilidade ou alteração do tato em alguma parte do corpo? Por exemplo: quando você está se enxugando após o banho e passa a toalha?

(Sensibilidade):

Sim Não Outra etiologia:

Início do sintoma

1 a 30 dias 2 a 6 meses 7 a 11 meses 1 a 2 anos 3 a 4 anos > 4 anos NR

Apresentação

1 sem 2 sem 3 sem a 1 mês 2 a 6 meses 7 a 11 meses > 1 ano

NR

2.7 – Diminuição da força do seu corpo, fraqueza, com limitação para alguma atividade?(Força):

Sim Não Outra etiologia:

Início do sintoma

1 a 30 dias 2 a 6 meses 7 a 11 meses 1 a 2 anos 3 a 4 anos > 4 anos NR

Apresentação

1 sem 2 sem 3 sem a 1 mês 2 a 6 meses 7 a 11 meses > 1 ano

NR

2.8 – Perda do equilíbrio?(Equilíbrio):

Sim Não Outra etiologia:

Início do sintoma

1 a 30 dias 2 a 6 meses 7 a 11 meses 1 a 2 anos 3 a 4 anos > 4 anos NR

Apresentação

1 sem 2 sem 3 sem a 1 mês 2 a 6 meses 7 a 11 meses > 1 ano

NR

2.9 – Mudança no seu caminhar? Alguma dificuldade para andar? (Marcha):

Sim Não Outra etiologia:

Início do sintoma

1 a 30 dias 2 a 6 meses 7 a 11 meses 1 a 2 anos 3 a 4 anos > 4 anos NR

Apresentação

1 sem 2 sem 3 sem a 1 mês 2 a 6 meses 7 a 11 meses > 1 ano

NR

2.10 – Controle esfíncteriano:

2.10.1 – O seu intestino está funcionando diferente? (Intestinal):

Sim Não Outra etiologia:

2.10.1.1 – Constipação

2.10.1.2 – Incontinência fecal

2.10.1.3 – Outro:

Início do sintoma

1 a 30 dias 2 a 6 meses 7 a 11 meses 1 a 2 anos 3 a 4 anos > 4 anos NR

Apresentação

1 sem 2 sem 3 sem a 1 mês 2 a 6 meses 7 a 11 meses > 1 ano

NR

2.10.2 – Você consegue controlar a sua vontade de urinar? Você apresenta incontinência/perda ou retenção/dificuldade para soltar a urina?(Vesical):

Sim Não Outra etiologia:

2.10.2.1 – Hesitação, urgência, freqüência, mas continente

2.10.2.2 – Incontinência ou retenção ocasional, sem limitação funcional

2.10.2.3 – Incontinência ou retenção completa

Início do sintoma

1 a 30 dias 2 a 6 meses 7 a 11 meses 1 a 2 anos 3 a 4 anos > 4 anos NR

Apresentação

1 sem 2 sem 3 sem a 1 mês 2 a 6 meses 7 a 11 meses > 1 ano

NR

2.11 – Houve alguma mudança na sua atividade sexual?(Função sexual):

Sim Não Outra etiologia:

2.11.1 – Baixa da libido

2.11.2 – Insuficiência erétil

2.11.3 – Ejaculação precoce

2.11.4 – Dificuldade de orgasmo

2.11.5 – Ausência de orgasmo

2.11.6 – Outro:

Início do sintoma

1 a 30 dias 2 a 6 meses 7 a 11 meses 1 a 2 anos 3 a 4 anos > 4 anos NR

Apresentação

1 sem 2 sem 3 sem a 1 mês 2 a 6 meses 7 a 11 meses > 1 ano

NR

2.12 – Você tem sentido falta de energia? Inicia alguma atividade física ou mental e tem que interromper?(Fadiga):

Sim Não Outra etiologia:

Início do sintoma

1 a 30 dias 2 a 6 meses 7 a 11 meses 1 a 2 anos 3 a 4 anos > 4 anos NR

Apresentação

1 sem 2 sem 3 sem a 1 mês 2 a 6 meses 7 a 11 meses > 1 ano

NR

2.13 – Contrações musculares repentinas e dolorosas tipo câibras?(Câibras):

Sim Não Outra etiologia:

Início do sintoma

1 a 30 dias 2 a 6 meses 7 a 11 meses 1 a 2 anos 3 a 4 anos > 4 anos NR

Apresentação

1 sem 2 sem 3 sem a 1 mês 2 a 6 meses 7 a 11 meses > 1 ano

NR

2.14 – Dor nas costas?(Lombalgia):

Sim Não Outra etiologia:

Início do sintoma

1 a 30 dias 2 a 6 meses 7 a 11 meses 1 a 2 anos 3 a 4 anos > 4 anos NR

Apresentação

1 sem 2 sem 3 sem a 1 mês 2 a 6 meses 7 a 11 meses > 1 ano

NR

2.15 – Dor nos músculos?(Mialgia):

Sim Não Outra etiologia:

Início do sintoma

1 a 30 dias 2 a 6 meses 7 a 11 meses 1 a 2 anos 3 a 4 anos > 4 anos NR

Apresentação

1 sem 2 sem 3 sem a 1 mês 2 a 6 meses 7 a 11 meses > 1 ano

NR

3 – História Patológica Progressiva(Você tem alguma doença?)

3.1 – HAS 3.2 – Diabetes 3.3 – Hipotireoidismo 3.4 – Hipertireoidismo

3.5 – Dislipidemia 3.6 – LES 3.7 – AR 3.8 – S. Sjögren 3.9 – Depressão
3.10 – Epilepsia 3.11 – Outras:

4 – História Social (Você fuma? Você bebe?)

4.1 – Tabagismo: Sim Não cigarros/dia 1 a 5 6 a 10 11 a 15 > 15

4.2 – Etilismo: Sim Não Social Leve Moderado Pesado

5 – Medicamentos em uso (Você está tomando algum medicamento?):

5.1 – Antihipertensivos 5.2 – Hipoglicemiantes orais 5.3 – Insulina

5.4 – Estatinas 5.5 – Estrógeno 5.6 – Progesterona 5.7 – Tiroxina

5.8 – Neurolépticos 5.9 – Antidepressivos 5.10 – Ansiolíticos

5.11 – Anticonvulsivantes 5.12 – Antiparkinsonianos 5.13 – Bloqueadores H2

5.14 – AINH 5.15 – Corticosteróides 5.16 – Analgésicos opióides

5.17 – Analgésicos não opióides 5.18 – Outros:

Descrever medicamentos em uso:

6 – Sono. Como você acha que o seu sono está?

6.1 – Bom 6.1.1 – Regular 6.1.2 – Ruim

6.2 – Você acorda? 6.2.1 – Descansado 6.2.2 – Cansado

6.3 – Você tem dificuldade para dormir?(Insônia): 6.3.1 – Sim 6.3.2 – Não

Inicial Final Intermediária

6.4 – Você tem sono durante o dia? (Sonolência diurna): Sim Não

6.5 – Ronca: Sim Não Não sabe 6.6 – Sono agitado: Sim Não Não sabe

6.7 – Horas de sono/noite: < 4 4 a 6 6 a 8 8 a 10 10 a 12

6.8 – Outras observações:

7 – Humor – Eu gostaria de saber como você está se sentindo em relação a sua vida pessoal, profissional e familiar. Dê uma nota de 0 a 10 para:

7.1 – Satisfação pessoal: 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

7.2 – Satisfação escolar/profissional: 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

7.3 – Satisfação familiar: 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Apêndice C – Exame físico neurológico padronizado

8 – Estado de Consciência

Orientado Confuso Alerta Torporoso Não consta N/aplica N/examinado

9 – Fala

Fluente Disartria Afasia/ Disfasia Outras N/consta N/aplica N/examinado

10 – Nervos Cranianos

Normais Anormais N/consta N/aplica N/examinado

11 – Qual Nervo Acometido?

11.1 – Olfatório Direito Esquerdo

11.2 – Óptico Direito Esquerdo

11.3 – Oculomotor Direito Esquerdo

11.4 – Troclear Direito Esquerdo

11.5 – Trigêmio Direito Esquerdo

11.6 – Abducente Direito Esquerdo

11.7 – Facial Direito Esquerdo

11.8 – Vestibulo-coclear Direito Esquerdo

11.9 – Glossofaríngeo Direito Esquerdo

11.10 – Vago Direito Esquerdo

11.11 – Acessório Direito Esquerdo

11.12 – Hipoglosso Direito Esquerdo

Observações: _____

12 – Sensibilidade superficial Normal Anormal

0=AUSENTE

1=ALTERADO

2=NORMAL

Nível	Algodão		Aguilha		Pontos Chaves Sensitivos
	D	E	D	E	
C2					Protuberância Occipital
C3					Fossa supraclavicular
C4					Topo da articulação acrômio-clavicular
C5					Face lateral da fossa cubital
C6					Polegar (superfície dorsal da falange proximal)
C7					Dedo médio (superfície dorsal da falange proximal)
C8					Dedo mínimo (superfície dorsal da falange proximal)

T1					Face medial da fossa cubital
T2					Ápice da axila
T3					Terceiro espaço intercostal
T4					Quarto espaço intercostal (mamilo)
T5					Quinto espaço intercostal (entre T4 e T6)
T6					Sexto espaço intercostal (nível do apêndice xifóide)
T7					Sétimo espaço intercostal (entre T6 e T8)
T8					Oitavo espaço intercostal
T9					Nono espaço intercostal
T10					Décimo espaço intercostal (umbigo)
T11					Décimo primeiro espaço intercostal (entre T10 e T12)
T12					Ponto médio do ligamento inguinal
L1					Metade da distância entre T12 e L2
L2					Metade anterior da coxa
L3					Côndilo femoral medial
L4					Maléolo medial
L5					Região dorsal do pé até articulação metatarsof.3 dedo
S1					Calcânhar (lateral)
S2					Linha média da fossa poplíteia
S3					Tuberosidade isquiática
S4-5					Área perianal

_____ + _____ = _____ Agulha (13.1)
 _____ + _____ = _____ Algodão (13.2)
 Sensação anal Sim Não

13 – Sensibilidade Profunda Normal Anormal

13.1 – Posicional (Avalia MMII, caso anormal avaliar MMSS)

MMII Normal Anormal MMSS Normal Anormal Não Avaliado

13.2 – Vibratória Normal Anormal (Avaliar de distal para proximal, se normal no hálux não necessita avaliar mais proximal, se anormal, prosseguir o exame de distal para proximal até o nível normal)

13.2.1 – Hálux Direito N A Diminuída Esquerdo N A

Diminuída

13.2.2 – Tornozelo Dir. N A Diminuída Esq. N A Diminuída NA

13.2.3 – Joelho Dir. N A Diminuída Esq. N A Diminuída NA

13.2.4 – Crista ílfaca Dir. N A Diminuída Esq. N A Diminuída NA

13.2.5 – Esterno Dir. N A Diminuída Esq. N A Diminuída NA

13.2.6 – Dedo indic. Dir. N A Diminuída Esq. N A Diminuída NA

14 – Reflexo Cutâneo-plantar

- 14.1 Direito Flexão Extensão Indiferente Não realizado Não se Aplica
 14.2 Esquerdo Flexão Extensão Indiferente Não realizado Não se Aplica

15 – Reflexos ósseo-tendinosos

	Direito	Esquerdo
15.1 – Bicipital	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5
15.2 – Tricipital	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5
15.3 – Braquio-radial	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5
15.4 – Patelar	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5
15.5 – Aquileu	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5

16 – Força Muscular Normal Anormal

16.1 – Membros Superiores

0=AUSENTE

1=ESBOÇO DE MOVIMENTO

2=MOVIMENTO SEM VENCER A GRAVIDADE

3=MOVIMENTO VENCENDO A GRAVIDADE

4=MOVIMENTO COM CERTA RESISTÊNCIA

5=FORÇA NORMAL

	Nível	D	E	Músculos Chaves
17.1.1	C5			Bíceps – flexão do cotovelo
17.1.2	C6			Extensor radial curto e longo do carpo – extensão do punho
17.1.3	C7			Tríceps – extensão do cotovelo
17.1.4	C8			Flexor profundo do dedo médio – flexão da falange distal
17.1.5	T1			Abdutor do dedo mínimo – Abdução do dedo mínimo

Total _____ + _____ = _____

16.2 – Membros Inferiores

	Nível	D	E	Músculos Chaves
17.2.1	L2			Iliopsoas – flexão do quadril
17.2.2	L3			Quadríceps – extensão do joelho
17.2.3	L4			Tibial anterior – extensão do tornozelo
17.2.4	L5			Extensor longo do hálux – extensão do tornozelo
17.2.5	S1			Gastorcnêmio e sóleo – flexão plantar

Total _____ + _____ = _____

17.3 – Contração anal voluntária Sim Não

18 – Marcha Normal Anormal

18.1 – Hemiparética Paraparética Parkinsoniana Atáxica Espástica

18.2 – Índice de Deambulação 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9

0 – Assintomático; completamente ativa.

1 – Caminha normalmente, mas refere fadiga que interfere com atividades esportivas e outras.

- 2 – Marcha anormal ou desequilíbrio episódico; o distúrbio da marcha é observado pela família e amigos; capaz de caminhar 8 metros em 10 segundos ou menos.
- 3 – Marcha independente; capaz de andar 8 metros em 20 segundos ou menos.
- 4 – Requer suporte unilateral (bengala/muleta) para marcha; anda 8 metros em 20 segundos ou menos.
- 5 – Requer suporte bilateral (bengala/muleta/ andador) e anda 8 metros em 20 segundos ou menos; ou requer suporte unilateral, mas necessita mais que 20 segundos para andar 8 metros.
- 6 – Requer suporte bilateral e mais que 20 segundos para caminhar 8 metros.
- 7 – Marcha limitada a alguns passos com suporte bilateral; incapaz de andar 8 metros; pode usar cadeira de rodas para atividades maiores.
- 8 – Restrito a cadeira de rodas; capaz de transferir-se independentemente.
- 9 – Restrito a cadeira de rodas; incapaz de transferir-se independentemente.

19 – Coordenação Normal Anormal

19.1 – MSD Dismetria Decomposição

19.2 – MSE Dismetria Decomposição

19.3 – MID Dismetria Decomposição

19.4 – MIE Dismetria Decomposição

20 – Sinal de Romberg Presente Ausente N/Realizado N/Aplica

21 – Movimentos Anormais Presente Ausente N/Realizado N/Aplica

21.1 – Tremor Repouso Ação Postural MSD MSE MID MIE

21.2 – Distonia Generalizada Face Cervical MSD MSE MID MIE

21.3 – Tique Presente Ausente

22 – Tônus Normal Anormal N/Realizado N/Aplica

22.1 – Rigidez MSD 1/2/3/4 MSE 1/2/3/4 MID 1/2/3/4 MIE 1/2/3/4

22.2 – Espasticidade MSD 1/2/3/4 MSE 1/2/3/4 MID 1/2/3/4 MIE 1/2/3/4

23 – Exame Neurológico Normal Anormal N/Realizado N/Aplica

24 – Conclusão da Avaliação Neurológica:

24.1 – Sem sinais e sintomas neurológicos

24.2 – Com sinais e sintomas neurológicos

24.2.1 – Sem relação ao HTLV

Ítems _____

24.2.2 – Com relação ao HTLV

Ítems _____

24.2.3 – Com possível relação ao HTLV

Ítems _____

25.3 – Exames Complementares

25.3.1 – RNM do encéfalo Não realizado Normal Anormal

25.3.2 – RNM da coluna cervical Não realizado Normal Anormal

25.3.3 – RNM da coluna torácica Não realizado Normal Anormal

25.3.4 – RNM da coluna lombo-sacra Não realizado Normal Anormal

25.3.5 – Líquor Não realizado Normal Anormal

25.3.6 – Outros exames: Sim Não

26 – Diagnósticos:

CID: _____

27 – HAM/TSP

27.1 – Definida

27.2 – Provável

27.3 – Possível

27.4 – Não se aplica

A – Definida

1

- Paraparesia espástica progressiva sem remissão com comprometimento suficiente da marcha percebido pelo paciente.
- Sinais e sintomas sensitivos podem ou não estarem presentes. Quando presentes eles são discretos e sem um nível sensitivo claro.
- Sinais e sintomas esfíncterianos urinário e anal podem ou não estarem presentes.

2

- Anticorpo HTLV1 positivo no soro ou no LCR. Confirmado pelo Westem Blot/ ou um PCR para HTLV1 positivo no sangue e/ou LCR.

3

- Exclusão de outras desordens que podem mimetizar TSP/HAM.

B – Provável

1

- Apresentação monossintomática:
- Espasticidade ou hiperreflexia nos membros inferiores.
- Ou sinal de Babinski isolado com ou sem sinais e sintomas sensitivos discretos.
- Ou bexiga neurogênica confirmada por teste urodinâmico.

2

- Anticorpo HTLV1 positivo no soro ou no LCR. Confirmado pelo Westem Blot/ ou um PCR para HTLV1 positivo no sangue e/ou LCR.

3

- Exclusão de outras desordens que podem mimetizar TSP/HAM.

C – Possível

1

- Completa ou incompleta apresentação clínica.

2

- Anticorpo HTLV1 positivo no soro ou no LCR. Confirmado pelo Westem Blot/ ou um PCR para HTLV1 positivo no sangue e/ou LCR.

3

- Desordens que podem mimetizar TSP/HAM não foram excluídas.

28 – Escala ASIA

28.1 – Score Sensitivo 28.1.1 – Agulha _____/28.1.2 – Algodão _____

28.2 – Score Motor 28.2.1 – MMSS _____/28.2.2 – MMII _____

28.3 – Nível Neurológico Sensitivo 28.3.1 – D _____ 28.3.2 – E _____

28.4 – Nível Sensitivo Motor 28.4.1 – D _____ 28.4.2 – E _____

28.5 – Zona de Preservação Parcial Sensitiva 28.5.1 – D _____ 28.5.2 – E _____

28.6 – Zona de Preservação Parcial Motora 28.6.1 – D _____ 28.6.2 – E _____

28.7 – Completo Incompleto

28.8 – Escala ASIA: A B C D E

A- Completa: nenhuma função motora ou sensitiva está preservada no segmento sacral S4-S5

B- Incompleta: função sensitiva mas não motora está preservada abaixo do nível neurológico e inclui o segmento sacral S4-S5.

C- Incompleta: função motora está preservada abaixo do nível neurológico e mais da metade dos músculos chaves abaixo do nível neurológico apresentam grau de força muscular menor que 3.

D- Incompleta: função motora está preservada abaixo do nível neurológico, e pelo menos metade dos músculos chaves abaixo do nível neurológico possuem um grau de força muscular de 3 ou mais.

E- Normal: função motora e sensitiva normal.

Scripts Neurological Rating Scale (SNRS)					
Sistema Examinado	PM	Normal	Leve	Moderado	Severo
1. Cognição e Humor	10	10	7	4	0
2. Nervos Cranianos	21				
Acuidade Visual		5	3	1	0
Campo, papila, pupila		6	4	2	0
Movimento ocular		5	3	1	0
Nistagmo		5	3	1	0
3. Nervos Cranianos Baixos	5	5	3	1	0
4. Motor	20				
Superior Direito		5	3	1	0
Superior Esquerdo		5	3	1	0
Inferior Direito		5	3	1	0
Inferior Esquerdo		5	3	1	0
5. Reflexos ósseos-tendinosos	8				
Membros superiores		4	3	1	0
Membros Inferiores		4	3	1	0
6. Babinski D/E	4	4	-	-	0
7. Sensibilidade	12				
Membro superior direito		3	2	1	0
Membro superior esquerdo		3	2	1	0
Membro inferior direito		3	2	1	0
Membro inferior esquerdo		3	2	1	0
8. Cerebelar	10				
Membros superiores		5	3	1	0
Membros Inferiores		5	3	1	0
9. Marcha/Tronco/Equilíbrio	10	10	7	4	
10. Bexiga/Intestino/D.S sexual	0	0	-3	-7	-10
Total	100				
Score					

Apêndice D – Fotos ilustrativas mensuração SUV na medula.

Foto – 1



Plano sagital com localização da medula torácica no nível T10.

Foto - 2



Plano axial referente ao nível T10 com localização medula espinal no canal central da coluna e área correspondente de mensuração do SUV (56,52 mm²).