

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**FACULDADE DE MEDICINA**

**SÍLVIO ROBERTO DE SOUSA PEREIRA**

**MANIFESTAÇÕES NEUROLÓGICAS E CARACTERÍSTICAS IMUNOLÓGICAS DA  
COINFECCÃO PELOS VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA TIPO 1 E VÍRUS  
LINFOTRÓPICO HUMANO DE CÉLULAS T TIPO 1**

BELO HORIZONTE

2011

**Sílvio Roberto de Sousa Pereira**

**MANIFESTAÇÕES NEUROLÓGICAS E CARACTERÍSTICAS IMUNOLÓGICAS DA  
COINFECÇÃO PELOS VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA TIPO 1 E VÍRUS  
LINFOTRÓPICO HUMANO DE CÉLULAS T TIPO 1**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação Ciências da Saúde da Faculdade de  
Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais para  
obtenção do título de Doutor em Medicina

Área de concentração: Infectologia e Medicina Tropical

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Lambertucci

Coorientadora: Profa. Dra. Luciana Cristina dos Santos  
Silva

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Maurício de Figueiredo  
Antunes

Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte

2011

P429m Pereira, Silvio Roberto de Sousa.  
Manifestações neurológicas e características imunológicas da  
coinfecção pelos vírus da imunodeficiência humana tipo 1... [manuscrito].  
/ Silvio Roberto de Sousa Pereira. - - Belo Horizonte: 2011.  
120f.: il.  
Orientador: José Roberto Lambertucci.  
Co-Orientador: Luciana Cristina dos Santos Silva, Carlos Maurício de  
Figueiredo Antunes.  
Área de concentração: Infectologia e Medicina Tropical.  
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de  
Medicina.  
1. Vírus Linfotrópico de Células T Humanas Tipo 1. 2. HIV-1. 3.  
Paraparesia Espástica Tropical. 4. Citocinas. 5. Dissertações Acadêmicas. I.  
Lambertucci, José Roberto. II. Silva, Luciana Cristina dos Santos. III.  
Antunes, Carlos Maurício de Figueiredo. IV. Universidade Federal de  
Minas Gerais, Faculdade de Medicina. V. Título.  
NLM: WC 502

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca J. Baeta Vianna – Campus Saúde UFMG



Universidade Federal de Minas Gerais  
Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde:  
Infectologia e Medicina Tropical

Tese intitulada “Manifestações Neurológicas e Características  
Imunológicas da Coinfecção pelos Vírus da Imunodeficiência

Humana do Tipo 1 e Vírus Linfotrópico Humano de Células T Tipo 1”, de autoria do doutorando Sílvio Roberto de Sousa Pereira, aprovada pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

Professor Doutor José Roberto Lambertucci – FM/UFMG - Orientador

Professora Doutora Luciana Cristina dos Santos Silva – FM/UFMG - Coorientadora

Professor Doutor Carlos Maurício de Figueiredo Antunes – FM/UFMG - Coorientador

Professor Doutor Jorge Simão do Rosário Casseb – FM/USP-SP

Pesquisadora Doutora Doralina Guimarães Brum Souza – FM/USP- Ribeirão Preto

Pesquisadora Doutora Elizabeth Regina Comini Frota – FM/UFMG

Belo Horizonte, 01 de agosto de 2011

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

Reitor: Prof. Clélio Campolina Diniz

Vice-Reitora: Prof<sup>a</sup>. Rocksane de Carvalho Norton

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Ricardo Santiago Gomez

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Renato de Lima dos Santos

**FACULDADE DE MEDICINA**

Diretor da Faculdade de Medicina: Prof. Francisco José Penna

Vice-Diretor da Faculdade de Medicina: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Coordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha

Subcoordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof<sup>a</sup>. Tereza Cristina de Abreu Ferrari

Chefe do Departamento de Clínica Médica: Prof. Anelise Impeliziere Nogueira

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

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical:

Prof. Vandack Alencar Nobre Jr.

Subcoordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical: Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha

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

Prof. Vandack Alencar Nobre Júnior

Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha

Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro

Prof. Antônio Lúcio Teixeira Júnior

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

Antônio Vaz de Macedo (Representante Discente)

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. José Roberto Lambertucci, meu ilustre orientador e mestre, que me acolheu e me incentivou com entusiasmo.

À Profa. Luciana Cristina dos Santos Silva pela dedicação e cuidado no auxílio deste trabalho.

Ao Prof. Carlos Maurício de Figueiredo Antunes pelas importantes contribuições e presença constante.

Ao Prof. Antônio Lúcio Teixeira pela confiança e apoio contínuos.

À Dra. Elizabeth Regina Comini Frota pelas contribuições enriquecedoras e auxílio incondicional.

À equipe do GIPH pelo importante trabalho na pesquisa sobre o HTLV no Brasil.

À Profa. Anna Barbara de Freitas Carneiro Proietti e Marina Lobato Martins pelo auxílio e disponibilidade na realização da pesquisa dos dados sobre o HTLV.

Aos professores Olindo Assis Martins Filho e Andrea Teixeira de Carvalho do Centro de Pesquisas René Rachou pelas dosagens de citocinas e quimiocinas, além das preciosas observações.

À Profa. Ivana Duval de Araújo pelo incentivo e contribuições.

À Mestre Ana Lúcia Borges Starling pelo companheirismo.

À Profa. Denise Utsch Gonçalves por acreditar neste trabalho desde o início.

Aos colegas de pesquisas Alba Otoni, Isabela Voieta, Maria da Conceição Viana Rodrigues, Renata Eliane Ávila pelas discussões e convivência profícua.

Às equipes do Ambulatório Orestes Diniz e do Posto de Atendimento Médico da Sagrada Família pelo apoio na coleta de dados.

Aos acadêmicos da iniciação científica Paloma Fonseca, Tânia Antunes Carvalho, Ludmila Labanca pelo auxílio durante todo este trabalho.

À doutoranda Maria Aparecida Alves Ferreira pelas sugestões preciosas.

À Profa. Vivian Resende pela lucidez nos momentos difíceis.

Ao Murilo Moreira pela amizade e compreensão.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	xix
ABSTRACT.....	xx
1. INTRODUÇÃO.....	2
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	7
2.1. Histórico do HTLV-1.....	8
2.2. Dados epidemiológicos da infecção pelo HTLV-1 e coinfeção pelos vírus HIV-1/HTLV-1.....	10
2.3. Modo de transmissão.....	13
2.4. Manifestações neurológicas do HTLV-1.....	14
2.5. Alterações histopatológicas da HAM/TSP.....	18
2.6. Alterações imunológicas na HAM/TSP.....	19
2.7. Citocinas na HAM/TSP .....	22
2.8. Quimiocinas .....	25
2.8.1. Aspectos gerais das quimiocinas.....	25
2.8.2. Quimiocinas na infecção pelo vírus HIV-1.....	30
2.8.3. Quimiocinas na infecção pelo vírus HTLV-1.....	33
2.9. Citocinas e quimiocinas na coinfeção pelos vírus HIV-1/HTLV-1.....	34
3. OBJETIVOS.....	37
3.1. Objetivo Geral.....	38
3.2. Objetivos Específicos.....	39
4. PACIENTES E MÉTODOS.....	41
4.1. Delineamento do estudo.....	41
4.2. Cálculo da amostra.....	41
4.3. População estudada.....	42
4.4. Critérios de inclusão.....	46

4.5. Critérios de exclusão.....	46
4.6. Definição dos grupos estudados.....	46
4.7. Procedimentos realizados.....	48
4.7.1. Exame clínico.....	49
4.7.2. Exames laboratoriais.....	49
4.7.3. Processamento da amostra.....	50
4.7.4. Dosagem de citocinas e quimiocinas.....	50
4.7.5. Quantificação da carga proviral.....	54
4.8. Análise estatística.....	55
4.9. Considerações éticas.....	57
4.10. Dados bibliográficos.....	57
5. RESULTADOS.....	58
5.1. Características epidemiológicas e clínicas dos indivíduos.....	59
5.2. Características laboratoriais dos indivíduos.....	67
6. DISCUSSÃO.....	81
7. CONCLUSÃO.....	95
8. LIMITAÇÕES.....	98
9. PERSPECTIVAS.....	101
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	103
11. ANEXOS.....	118
Anexo 1 - Aprovação do estudo pela Comitê de Ética em Pesquisa - UFMG.....	119
Anexo 2 – Aprovação do estudo pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Secretaria de Saúde da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte.....	120
12. APÊNDICE.....	121



Apêndice 1 – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	122
Apêndice 2 – Questionário de avaliação dos indivíduos.....	123



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Anti-HBc	Anticorpo para o antígeno do “core” do vírus da hepatite B
7-TM	Receptor 7-transmembrana
AMPC	Monofosfato de adenosina cíclico
Anti-HBs	Anticorpo para o antígeno de superfície do vírus da hepatite B
Anti-HCV	Anticorpo para vírus da hepatite C
ATL	Leucemia de células T do adulto
BD	<i>Becton Dickinson</i>
BHE	Barreira hematoencefálica
CBA	<i>Cytometric Bead Array</i>
CCL11/Eotaxin	<i>Eotaxin</i>
CCL2/MCP-1	<i>Monocyte chemoattractant protein 2</i>
CCL24/Eotaxin-2	<i>Eotaxin-2</i>
CCL3/MIP-1 $\alpha$	<i>Macrophage inflammatory protein 1<math>\alpha</math></i>
CCL4/MIP-1 $\beta$	<i>Macrophage inflammatory protein 1<math>\beta</math></i> ”
CCL5/RANTES	<i>Regulated on activation normal T cell-expressed and secreted</i>
CCL7/MCP-3	<i>Monocyte chemoattractant protein 3</i>
CCL8/MCP-2	<i>Monocyte chemoattractant protein 2</i>
CCR2	Receptor de quimiocina CC2
CDC	<i>Centers for Diseases Control</i>
CD4	Receptor 4 de célula T <i>helper</i>
CD8	Receptor 8 de célula T citotóxico
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CMV	Citomegalovírus
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CPV	Carga proviral do vírus HTLV-1
CTL	Células T CD8+ citotóxicas
CV	Carga viral do vírus HIV-1
CX3CL1/Fractalkine	<i>Fractalkine</i>
CXCL10/IP10	<i><math>\gamma</math>-Interferon-inducible-protein 10</i>

CXCL8/IL-8	<i>Interleukin-8</i>
CXCL9/MIG	<i>Monokine induced by <math>\gamma</math>-interferon</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EDSS	Escala de Incapacidade Funcional Ampliada
EDTA	Ácido etilendiaminotetracético
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
FAN	Fator antinuclear
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FL	Fluorescência
Foxp3	<i>Forkhead Box p3</i> – proteína de membrana de célula T regulatória
GIPH	Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em HTLV-1
HAART	<i>Highly active anti-retroviral therapy</i>
HAM	Mielopatia associada ao HTLV-1
HAM/TSP	Mielopatia associada ao HTLV-1/Paraparesia espástica tropical
HAU	Uveíte associada ao HTLV-1
HBsAg	Antígeno de superfície do vírus da hepatite B
HEMOMINAS	Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais
HIV-1	Vírus da imunodeficiência humana do tipo 1
HLA	<i>Human leukocyte antigen</i>
HTLV-1	Vírus linfotrópico humano de células T do tipo 1
HTLV-2	Vírus linfotrópico humano de células T do tipo 2
HTLV-3	Vírus linfotrópico humano de células T do tipo 3
HTLV-4	Vírus linfotrópico humano de células T do tipo 4
IFN- $\gamma$	Interferon- $\gamma$
IL	Interleucina
I-TAC	<i>Interferon – inducible T cell alpha chemoattractant</i>
LASER	<i>Light amplification by stimulated emission of radiation</i>
MHC	<i>Major histocompatibility complex</i>
MMII	Membros inferiores
MIG	<i>Monokine induced by gama interferon</i>
NK	<i>Natural killers</i> – células matadoras naturais
OMS	Organização Mundial de Saúde

PBMC	<i>Peripheral Blood Mononuclear Cells</i>
PCR	Reação em cadeia da polimerase
RM	Ressonância magnética
SDF-1 $\beta$	<i>Stromal cell-derived factor-1</i>
SIDA	Síndrome da imunodeficiência adquirida
SNC	Sistema nervoso central
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
TA	Temperatura ambiente
TGF $\beta$ 1	<i>transforming growth factor- <math>\beta</math>1</i>
Th1	Linfócito T <i>helper</i> tipo 1
Th2	Linfócito T <i>helper</i> tipo 2
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral $\alpha$
TNFR	Receptor de fator de necrose tumoral $\alpha$
TSP	Paraparesia espástica tropical
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VDRL	<i>Venereal Disease Research Laboratories</i>
WB	<i>Western Blot</i>

**LISTA DE FIGURAS**

- 1- Figura 1. Prevalência de infecção pelo HTLV-1/2 em doadores de sangue no Brasil..... 11
- 2- Figura 2. Representação esquemática da técnica de CBA..... 52
- 3- Figura 3. Comparação dos níveis séricos das citocinas IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-10 entre os grupos de controle doador de sangue, monoinfectados pelo HTLV-1, monoinfectados pelo HIV-1 e coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1..... 70
- 4- Figura 4. Comparação dos níveis das quimiocinas séricas CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CCL2/MCP-1 e CCL5/RANTES entre os grupos de indivíduos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1..... 72
- 5- Figura 5. Correlações entre citocinas, quimiocinas, células CD4<sup>+</sup>, carga viral (CV) e carga proviral (CPV) nos grupos controle sadio, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1. 74
- 6- Figura 6. Pontos de corte de citocinas e quimiocinas para baixo e alto produtores a partir da mediana global..... 76
- 7- Figura 7. Assinatura de altos produtores de citocinas e quimiocinas nos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1..... 77
- 8- Figura 8. Análise comparativa da assinatura de altos produtores de citocinas e quimiocinas entre os grupos HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1..... 78

**LISTA DE QUADROS**

1-	Quadro 1. Estudos relacionados à coinfeção pelos vírus HIV-1 e HTLV-1.....	12
2-	Quadro 2. Efeitos biológicos das citocinas estudadas .....	24
3-	Quadro 3. Estudos com níveis séricos de citocinas de controles e pacientes infectados pelo vírus HTLV-1 assintomáticos e com HAM/TSP.....	25
4-	Quadro 4. Tipos de receptores em células recrutadas pela ação das diferentes quimiocinas estudadas.....	30
5-	Quadro 5. Estudos com níveis séricos de quimiocinas de controles e pacientes infectados pelos vírus HTLV-1 assintomáticos e com HAM/TSP.....	34

## LISTA DE TABELAS

1. Tabela 1. Características epidemiológicas de pacientes dos grupos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1 atendidos no Ambulatório Orestes Diniz e no Posto de Atendimento Médico – Sagrada Família em Belo Horizonte-MG no período de janeiro a setembro de 2009..... 59
2. Tabela 2. Comparação dos possíveis fatores de exposição para infecção pelos vírus HIV-1 e HTLV-1 entre os grupos de indivíduos infectados pelos vírus HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1 atendidos no Ambulatório Orestes Diniz e no Posto de Atendimento Médico – Sagrada Família em Belo Horizonte-MG no período de janeiro a setembro de 2009..... 60
3. Tabela 3. Resultados de significância (valor-p) da comparação múltipla (teste qui-quadrado com correção de Bonferroni) para os fatores de exposição para infecção pelos vírus HIV-1 e HTLV-1 entre os grupos HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1.. 61
4. Tabela 4. Comparação dos sintomas apresentados entre os indivíduos dos grupos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1..... 62
5. Tabela 5. Resultados de significância (valor-p) da comparação múltipla (teste estatístico Dunnett T3) para os sintomas apresentados entre os pacientes dos grupos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1..... 63
6. Tabela 6. Comparação das alterações ao exame neurológico entre os indivíduos dos grupos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1..... 64
7. Tabela 7. Resultados de significância (valor-p) da comparação múltipla (teste estatístico Dunnett T3) para as alterações ao exame neurológico entre os grupos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1..... 65
8. Tabela 8. Prevalência de mielopatia entre os grupos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1..... 66
9. Tabela 9. Resultados de significância (valor-p) da comparação múltipla (teste estatístico Dunnett T3) para a ocorrência de mielopatia entre os grupos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1..... 66



10.	Tabela 10. Comparação da presença de anemia e positividade em sorologia para os vírus da hepatite B e hepatite C e para sífilis entre os grupos HIV-1 e HIV-1/HTLV-1.....	67
11.	Tabela 11. Resultados de significância (valor-p) da comparação múltipla (teste estatístico Dunnet T3) para comparação da presença de anemia e positividade em sorologias para os vírus da hepatite B e hepatite C e para sífilis.....	67
12.	Tabela 12. Comparação da contagem de célula T CD4 <sup>+</sup> , carga proviral, carga viral entre os grupos HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1.....	69
13.	Tabela 13. Características epidemiológicas, clínicas, laboratoriais e fatores de exposição aos vírus HIV-1 e HTLV-1 nos pacientes coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1.....	79

**LISTA DE FLUXOGRAMAS**

1.	Fluxograma 1. Seleção dos casos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1.....	44
2.	Fluxograma 2. Seleção dos casos infectados pelo vírus HTLV-1.....	45
3.	Fluoxograma 3. Procedimentos realizados .....	48

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** A coinfeção HIV-1/HTLV-1 no Brasil ocorre em cerca de 10% a 16,3% da população infectada pelo HIV-1. Tais retrovírus apresentam tropismo pelo tecido nervoso entretanto pouco se conhece sobre os mecanismos imunes da interação do HTLV-1 e do HIV-1, bem como sobre a ocorrência de lesão medular. As citocinas e quimiocinas são importantes mediadores inflamatórios e podem se relacionar com a ocorrência de mielite. Não tem estudos sobre o comportamento das quimiocinas na coinfeção HIV-1/HTLV-1. **OBJETIVO:** Comparar as manifestações neurológicas e as características imunológicas dos indivíduos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 com as de indivíduos controles doadores de sangue, monoinfectados pelos vírus HTLV-1 e HIV-1. **MÉTODOS:** Trata-se de estudo descritivo transversal com 16 coinfectados (HIV-1/HTLV-1), 20 doadores de sangue, 56 infectados pelo HTLV-1 e 49 pelo HIV-1. Após exame neurológico, realizou-se a dosagem das citocinas e quimiocinas por meio da técnica de *Cytometric Bead Array* (CBA) e carga proviral. Realizou-se ainda contagem de células T-CD4<sup>+</sup>, carga viral, sorologias para hepatites virais B e C e VDRL. Para a análise estatística usou-se os programas SPSS e GraphPad Prism. Em relação aos níveis séricos das quimiocinas e citocinas identificaram-se os indivíduos alto e baixo produtores. Consideramos alto produtor os indivíduos com níveis acima da mediana global tendo como controle o grupo doador de sangue. **RESULTADOS:** A prevalência de coinfeção pelo HTLV-1 nos indivíduos HIV-1 positivos foi de 2,6%. Observou-se maior frequência de zumbido, incontinência urinária, dificuldade para subir escadas e sinal de Romberg nos indivíduos coinfectados. A ocorrência de mielopatia não foi significativamente diferente nos grupos coinfectado e monoinfectado pelo HTLV-1 ( $p=0,918$ ). A contagem de células T-CD4<sup>+</sup> estava mais elevada no grupo coinfectado ( $p=0,014$ ). Não houve diferença quanto à carga proviral e viral. Os coinfectados se diferenciam do grupo HTLV-1 pelo aumento dos níveis séricos de TNF- $\alpha$ , diminuição de IL-4 e de CCL5/RANTES e dos infectados pelo HIV-1 pelos baixos níveis de IFN- $\gamma$  e IL-4. Na análise de frequência de altos produtores, verificou-se redução dos níveis de IL-2 no coinfectado semelhante ao grupo HTLV-1 e elevação de TNF- $\alpha$ , IL-6, CXCL8/IL-8, CXCL10/IP-10 e diminuição de CCL5/RANTES semelhante ao grupo HIV-1. **CONCLUSÃO:** Os indivíduos coinfectados apresentam maior frequência de queixas de zumbido, dificuldade para subir escadas, incontinência urinária e sinal de Romberg. Os coinfectados se diferenciam do grupo HTLV-1 pelo aumento dos níveis séricos de TNF- $\alpha$ , diminuição de IL-4 e de CCL5/RANTES e dos infectados pelo HIV-1 pelos baixos níveis de IFN- $\gamma$  e IL-4.

**Palavras-chave:** HTLV-1, HIV-1, citocinas, quimiocinas, mielite, paraparesia espástica tropical.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** HIV-1/HTLV-1 coinfection occurs in about 10% to 16.3% of the Brazilian HIV-1 infected population. Human retroviruses exhibit tropism for nervous tissue but little is known about the immune mechanisms of the spinal cord injury observed in HTLV-1/HIV-1 co-infection. Cytokines and chemokines are important inflammatory mediators and should be involved on the occurrence of myelitis. To our knowledge, no studies on chemokines have been published in co-infected individuals. **OBJECTIVE:** To compare the neurological manifestations and immunological characteristics of HIV-1/HTLV-1 coinfecting individuals with control subjects (blood donors), monoinfected by HTLV-1 and HIV-1. **METHODS:** This is a descriptive cross-sectional study of 16 coinfecting patients (HIV-1/HTLV-1), 20 blood donors, 56 infected by HTLV-1 and 49 by HIV-1. Volunteers in the study groups were submitted to neurological examination, dosage of cytokines and chemokines by Cytometric Bead Array technique (CBA) and HTLV-1 proviral load. Other tests included blood T CD4<sup>+</sup> cell counts, viral load, serology for viral hepatitis B and C and syphilis. For statistical analysis the SPSS package and the GraphPad Prism were used. The serum levels of cytokines and chemokines were measured and the individuals were classified as high and low producers. We considered high-producer individuals those who presented serum cytokines and chemokines levels above the median value of the blood donors. **RESULTS:** The prevalence of HTLV-1 coinfection in HIV-1 infected subjects was of 2.6%. A higher frequency of tinnitus, urinary incontinence, difficulty in climbing stairs and the presence of the Romberg sign was described in coinfecting individuals. The occurrence of myelopathy did not differ between the coinfecting and the monoinfected HTLV-1 group (p=0.918). The mean T CD4<sup>+</sup> cell count was higher in the coinfecting group (p=0.014). There was no difference in the proviral load (HTLV-1) and viral load (HIV-1) between the study groups. Higher serum TNF- $\alpha$  and decreased IL-4 and CCL5/RANTES were found in the coinfecting group as compared to the HTLV-1 group and lower levels of IFN- $\gamma$  and IL-4 as compared to the HIV-1 group. High-producers analysis revealed that the IL-6 levels were similar among the three study groups. **CONCLUSION:** The coinfecting individuals presented a higher frequency of tinnitus, difficulty in climbing stairs, urinary incontinence and the Romberg sign. Higher serum TNF- $\alpha$  and decreased IL-4 and CCL5/RANTES were found in the coinfecting group as compared to the HTLV-1 group and lower levels of IFN- $\gamma$  and IL-4 as compared to the HIV-1 group.

**Keywords:** HTLV-1, HIV-1, cytokines, chemokines, myelitis, tropical spastic paraparesis.

## **INTRODUÇÃO**

## 1. INTRODUÇÃO

Os retrovírus humanos, vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 (HIV-1) e vírus linfotrópico humano de células T do tipo 1 (HTLV-1), causam infecção persistente no homem. Ambas permanecem assintomáticas por vários anos. O HIV-1 leva à morte a quase totalidade dos pacientes não tratados em cerca de 10 anos. Quanto aos pacientes com o vírus HTLV-1, cerca de 0,25 a 4% deles irão desenvolver, até 40 anos após a infecção, uma doença inflamatória crônica incapacitante da medula espinhal chamada mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP). A HAM/TSP ocorre 20 vezes mais freqüentemente nos indivíduos coinfectados pelo HIV-1/HTLV-1 do que nos mono infectados pelo HTLV-1 (1).

Os vírus HTLV-1/2 têm surgido como patógenos comuns entre os pacientes infectados pelo HIV-1. A coinfecção HIV-1/HTLV-1 ocorre mais freqüentemente na América do Sul, Caribe e África (2-5), BRIGGS e colaboradores (1995) verificaram a ocorrência de coinfecção HIV-1/HTLV-2 aumentada nos usuários de drogas injetáveis nos Estados Unidos da América (6). As vias de transmissão desses dois vírus são semelhantes, seja por contato sexual, uso de seringas contaminadas em usuários de drogas injetáveis, transfusão sanguínea e através do leite materno. Em estudos realizados no Brasil, a prevalência da coinfecção pelo HTLV-1 entre indivíduos infectados pelo HIV-1 foi de 10% e 16,3%, nos estados de São Paulo e Bahia, respectivamente (7, 8).

Nos pacientes coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1, os níveis de células T-CD4 estão aumentados, o que dificulta a definição de síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), que considera como ponto de referência níveis abaixo 200 células/mm<sup>3</sup> (9). A coinfeção pode associar-se a aumento da carga viral do HIV-1, o que pode ser um fator na progressão para SIDA (10, 11), embora outros autores não verificaram esta associação (12, 13). A potencialização da patogenicidade do HIV-1 é baseada nos estudos *in vitro* com produtos gênicos *Tax* do HTLV-1, mostrando que a produção de HIV-1 é acentuada nas células transformadas pelo HTLV-1 (14).

Os dois vírus podem coexistir no mesmo ambiente (sangue periférico ou linfonodos) e também na mesma célula (célula T-CD4<sup>+</sup>). Observam-se alterações fenotípicas após a infecção pelo HIV-1 e pelo HTLV-1 em monoinfecção, NORAZ e colaboradores identificaram mudança fenotípica *in vitro* também na coinfeção com alterações na superfície celular induzida em linhagem de célula T H9 de indivíduos cronicamente infectados pelo HTLV-1 ou coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 (15). BEILKE e colaboradores (2004) não encontraram diferença significativa entre os coinfectados e infectados apenas pelo HIV-1 quanto à incidência de infecções oportunistas (16). CASSEB e colaboradores (2007) ao estudarem pacientes coinfectados pelo HIV-1/HTLV1, demonstraram que a ocorrência de HAM/TSP foi 20 vezes maior quando comparada a pacientes infectados apenas pelo HTLV-1 em áreas endêmicas (1).

As quimiocinas são citocinas de baixo peso molecular que participam do recrutamento de células inflamatórias e podem influenciar a polarização de células CD4<sup>+</sup> para um dos dois principais tipos de resposta imunológica do tipo Th1 ou Th2, mantendo as células no tecido

inflamado. A infecção pelo HTLV-1 está associada a um aumento na resposta inflamatória do tipo Th1 (17). Em 2006, GUERREIRO e colaboradores mostraram que os pacientes com HAM/TSP apresentavam altos níveis de CXCL9/MIG e CXCL10/IP-10 e baixos níveis de CCL2/MCP-1 (18). As quimiocinas CXCL9/MIG e CXCL10/IP-10 induzem a resposta imunomediada do tipo Th1, enquanto a CCL2/MCP-1, provavelmente relaciona-se ao tipo Th2 (19-21). Não foi encontrada, até então, evidência de infecção de células do sistema nervoso central (SNC) que explique a destruição tecidual. Acredita-se que a lesão neuronal se deve à produção de citocinas e outros produtos tóxicos decorrentes da ativação de linfócitos periféricos que atingem o SNC. A coexistência de vários distúrbios imunológicos relacionados ao HTLV-1 como síndrome de Sjögren, ceratoconjuntivite seca, dermatite, polimiosite e uveíte, reforçam o mecanismo imunológico na fisiopatologia da HAM/TSP (16). A carga proviral do HTLV-1 é utilizada como marcador de progressão para a HAM/TSP, pois apresenta-se elevada neste grupo se comparada ao portador assintomático (22).

Não há evidência de estudos *in vivo* sobre a produção de citocinas e quimiocinas nos indivíduos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1, comparando-os a indivíduos monoinfectados. Há discussões e controvérsias se o vírus HTLV-1 afeta o curso da infecção pelo HIV-1 em indivíduos coinfectados e vice-versa, isto é, se o vírus HIV-1 pode levar a mais mielopatia nos pacientes infectados pelo vírus HTLV-1. Além disso, questionam-se quais seriam os mecanismos imunopatológicos envolvidos na interação dos dois vírus num mesmo indivíduo e se o tratamento para o vírus HIV-1 poderia modificar o curso da infecção pelo HTLV-1.



O presente estudo tem por objetivo comparar aspectos epidemiológicos, clínicos, neurológicos e imunológicos entre indivíduos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 e grupo de indivíduos controle sadio doadores de sangue, monoinfectados pelo HTLV-1 e monoinfectados pelo HIV-1, através da análise de sintomas e sinais neurológicos e das dosagens de carga viral, carga proviral, células T-CD4<sup>+</sup>, citocinas e quimiocinas envolvidas na resposta imunológica.



## REVISÃO DA LITERATURA

### 2. REVISÃO DA LITERATURA

#### 2.1. HISTÓRICO DO HTLV-1

O HTLV-1 é classificado como um complexo retrovírus do tipo C, pertencente ao gênero *Deltaretrovirus* da família *Retroviridae* e da subfamília *Orthoretrovirinae* (23). Possui uma estrutura morfológica semelhante à de outros retrovírus, no interior do capsídeo tem-se duas fitas simples de RNA, a enzima transcriptase reversa e a integrase que são importantes para a inserção no genoma do hospedeiro, onde passará a constituir o provírus. Muitas proteínas virais são imunogênicas e anticorpos reagindo contra elas são detectados no soro de pessoas infectadas. Foi primeiramente isolado e identificado de um paciente com um tumor de célula T cutâneo (24), sendo o primeiro retrovírus descrito. Semelhanças no quadro clínico e na morfologia da célula T levaram outros pesquisadores a associar o HTLV à leucemia/linfoma de célula T do adulto descrito no Japão por UCHIYAMA e colaboradores (1997). Em meados da década de 1980 um grupo francês na Martinica descobriu uma associação entre a soropositividade do HTLV-1 e uma mielopatia crônica progressiva de etiologia previamente desconhecida, chamada de neuropatia jamaicana ou paraparesia espástica tropical (25). Em 1986, OSAME e colaboradores descreveram doença semelhante no Japão denominando-a mielopatia associada ao HTLV-1, que posteriormente ficou estabelecido tratar-se da mesma doença, passando a ter os dois nomes: mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP) (26).

O HTLV-1 é classificado em quatro subtipos (A-D), sendo o tipo A o mais disseminado, encontrado em muitas populações e áreas geográficas. Identificou-se o HTLV-2 em células T de um paciente com leucemia de células pilosas (27), embora este se associe a raros casos neurológicos (28). Subtipos de HTLV 3 e 4 foram encontrados no sul de Camarões em populações que têm contatos com primatas não-humanos e não há relato de transmissão entre humanos e se causam doenças em seus portadores (29). Os subtipos HTLV-1 e 2 são muito semelhantes na sequência de nucleotídeos, o que dificulta a realização de testes sorológicos capazes de diferenciá-los, necessitando-se da realização do teste de *Western Blot* com proteínas recombinantes (30). Diferentemente da infecção pelo HIV-1, não são detectadas com facilidade partículas virais livres de HTLV-1/2 no sangue ou em outros fluidos biológicos de indivíduos infectados. As partículas encontram-se nos linfócitos infectados, motivo pelo qual é dosada a carga proviral.

Embora a infecção pelo HTLV-1 permaneça assintomática na maioria dos pacientes, alguns casos apresentam condições clínicas graves como o linfoma/leucemia de células T (24), hiperinfecção por *Strongyloides stercoralis* (31), escabiose (32), uveíte (33) e paraparesia espástica tropical (25). Apesar da associação entre a infecção pelo HTLV-1 e a ocorrência de paraparesia espástica tropical variar entre as regiões geográficas, estima-se que ao longo da vida cerca de 0,25% a 4% dos infectados irão desenvolver esta forma clínica, principalmente na América Latina e Japão (34, 35). Na opinião de CASSEB (2009) a infecção pelo HTLV-1 como causa de HAM/TSP e leucemia/linfoma de células T do adulto é negligenciada, em virtude da dificuldade do diagnóstico e desconhecimento da associação do vírus com a

mielopatia por médicos envolvidos com reabilitação (36). Diversas doenças associadas ao HTLV-1 foram descritas no Brasil como leucemia/linfoma de células T (37, 38), HAM/TSP (39), miopatia (40), dermatopatia (41, 42), alveolite (43) e uveíte (44).

## 2.2. DADOS EPIDEMIOLÓGICOS DA INFECÇÃO PELO HTLV-1 E COINFECÇÃO PELOS VÍRUS HIV-1/HTLV-1

O vírus HTLV-1 tem ampla distribuição mundial e estima-se que cerca de 10 a 20 milhões de pessoas estejam contaminados (45). O HTLV-1 é endêmico no Caribe, Japão meridional, África central e do sul, e América do Sul. Algumas regiões também apresentam infecções pelo vírus como África meridional, Índia meridional, Irã setentrional, populações aborígenas do norte da Austrália, e em muitas ilhas tropicais. Na Europa e na América do Norte, o vírus é encontrado em grupos de imigrantes e usuários de drogas endovenosas, principalmente o HTLV-2 (46).

O Brasil apresenta cerca de dois milhões e meio de pessoas infectadas pelo HTLV, a soropositividade em bancos de sangue varia de 0,4/1000 em Florianópolis (capital do estado de Santa Catarina) a 10,0/1000 em São Luís (capital do estado de Maranhão) (ver Figura 1) (47, 48). A presença do HTLV no Brasil foi inicialmente identificada por KITAGAWA e colaboradores (1986) que encontraram uma prevalência pelo vírus de 13% em imigrantes japoneses (49). A testagem sorológica nos bancos de sangue para o HTLV se iniciou a partir de 1993.

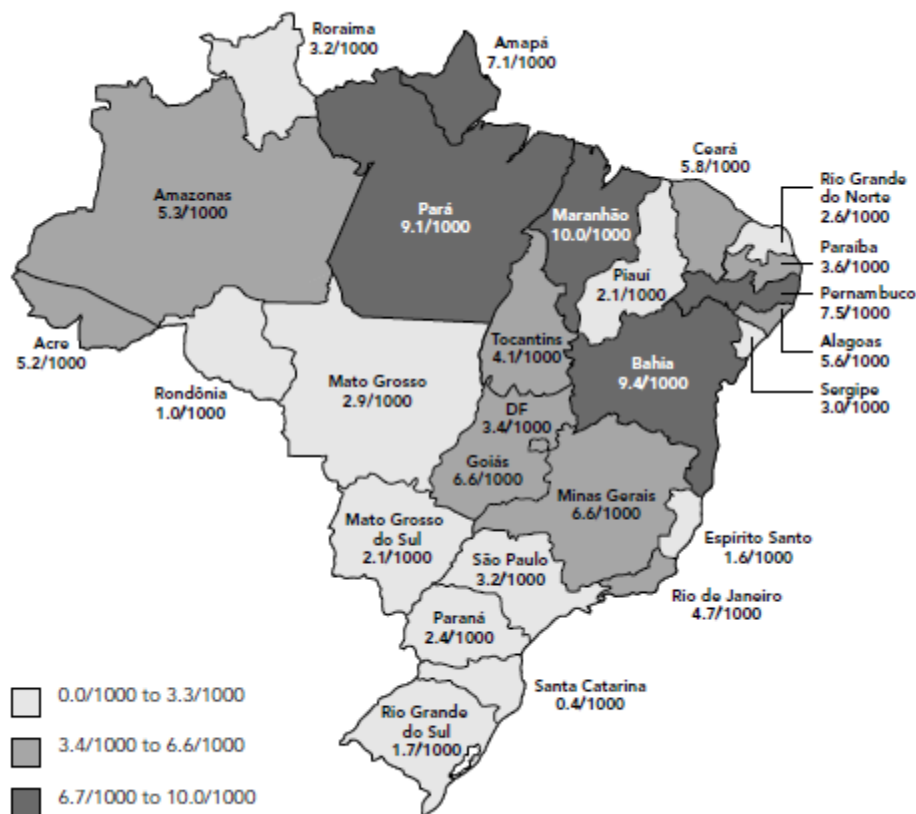


Figura 1. Prevalência de infecção pelo HTLV-1/2 em doadores de sangue no Brasil. Fonte: (48).

A coinfeção HIV-1/HTLV-1 ocorre mais frequentemente na América do Sul, Caribe e África (2-5), enquanto a associação HIV-1/HTLV-2 predomina nos Estados Unidos e Europa (6, 50-53). A coinfeção foi primeiramente relatada em pacientes com SIDA por CORTES e colaboradores (1989) (54). Nesta ocasião, a prevalência da coinfeção variou de 1% em mulheres prostitutas residentes na zona rural, e 13% em homens com distúrbios hematológicos no Rio de Janeiro, Brasil. Em estudo realizado em outra grande cidade do Brasil, São Paulo,

encontrou-se a prevalência de 11,1% em usuários de drogas injetáveis e 0,4% em homens (55). Na região nordeste do país estudos de soroprevalência evidenciam até 20% de coinfeção (56). BRITES e colaboradores (1997) encontraram uma prevalência de coinfeção de 16,3% numa população de pacientes infectados pelo HIV-1 no Estado da Bahia, Brasil (8). É baixa a prevalência de coinfeção HIV-1/HTLV-1 na região norte do Brasil, onde é mais freqüente a ocorrência de infecção pelo HTLV-2 (57). A coinfeção está associada à ocorrência aumentada de HAM/TSP (1, 16, 58). BEILKE e colaboradores (2005) acreditam que o maior risco de HAM/TSP nos pacientes coinfectados seja resultado do aumento da expressão do HTLV (59). Os estudos que pesquisaram a coinfeção a partir de pacientes infectados pelo HIV-1 encontraram a ocorrência de HAM/TSP mais baixa quando comparado aos estudos que partiram de casuísticas de infectados pelo HTLV-1 (Quadro 1).

Quadro 1. Estudos relacionados à coinfeção pelos vírus HIV-1 e HTLV-1

Estudo	HIV-1 n(%)	HTLV-1 n(%)	Coinfectados n(%)	HAM/TSP n(%)	Neuropatia periférica n(%)	Miosite n(%)
<b>Schechter et al., 1994</b>	473		28 (5,9%)	-	-	-
<b>Berger et al., 1997</b>	242		2 (0,8%)	-	-	-
<b>Bessinger et al., 1997</b>	854		25 (2,9%)	2 (8,0%)	3 (12,0%)	-
<b>Casseb et al., 1997</b>	266		6 (2,3%)	-	-	-
<b>Scapellato et al., 2003</b>	169		15 (8,9%)	-	-	-
<b>Beilke et al., 2005</b>	2239		43 (1,8%)	5 (11,6%)	32 (74,4%)	3 (6,9%)
<b>Laurentino et al., 2005</b>	169		2 (1,2%)	-	-	-
<b>Gudo et al., 2008</b>	704		32 (4,5%)	-	-	-
<b>Casseb et al., 2007</b>	-	150	27 (18,0%)	8 (29,6%)	-	-
<b>Casseb et al., 2008</b>	-	296	38 (12,8%) <sup>§</sup>	7 (18,4%) <sup>§</sup>	1 (2,6%)	-

- não há relato de ocorrência no artigo. Referências (1, 16, 59-63)

Nos pacientes coinfetados e com HAM/TSP observou-se maior carga proviral do HTLV-1 em relação aos assintomáticos (61). Os pacientes coinfetados apresentam níveis mais elevados de células T-CD4<sup>+</sup> (1). BRITES e colaboradores (2011) identificaram níveis mais elevados de células T-CD4<sup>+</sup> em pacientes coinfetados quando comparados a pacientes com SIDA, além daqueles receberem menos terapia antiretroviral do que os pacientes monoinfetados pelo HIV-1, concluindo que os níveis altos de células T-CD4<sup>+</sup> nos coinfetados subestima a imunodeficiência. Em outro trabalho, BRITES e colaboradores (1998) identificaram elevação da carga viral do HIV-1 na coinfeção (10). Verificou-se associação entre a coinfeção e a ocorrência de mielopatia, trombocitopenia, bronquite, infecção do trato urinário e sorologia positiva para o vírus da hepatite C, estrogiloidíase e encefalopatia (16, 64), mas não na ocorrência de infecções oportunistas ou morte (12). A influência da coinfeção na sobrevida dos pacientes com SIDA é bastante controversa, ora estudos indicando sua diminuição, ora o seu aumento (16, 65-67).

### 2.3. MODO DE TRANSMISSÃO

O HIV-1 e o HTLV-1 são retrovírus com vias de transmissão semelhantes. Entretanto acredita-se que o HTLV-1, em áreas endêmicas, seja mais frequentemente transmitido através do aleitamento materno de mãe para filho, e a transmissão sexual do homem para a mulher é quatro vezes mais freqüente do que da mulher para o homem (68). A transmissão por produtos contaminados por sangue, como seringas entre usuários de drogas injetáveis, principalmente



em países como o Japão, tem sido relevante (60, 69, 70). No Brasil, a coinfeção foi associada à transfusão sanguínea, uso de drogas injetáveis e ao sexo feminino (7, 8).

#### 2.4. MANIFESTAÇÕES NEUROLÓGICAS DO HTLV-1

Mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP)

A HAM/TSP consiste na principal manifestação clínica do HTLV-1 e leva a repercussões motoras e esfínterianas graves. O risco de desenvolver a HAM/TSP é de cerca de 1-2% dos portadores de HTLV-1 (71). Estima-se que a prevalência varia entre 0,25% a 4% dos indivíduos infectados e aumenta com a idade.

A HAM/TSP se desenvolve tipicamente em mulheres (relação mulher/homem de 2-3:1) na 4ª década de vida como uma fraqueza muscular espástica progressiva de membros inferiores, usualmente associada com dor lombar, incontinência urinária e parestesias. O quadro de paraparesia surge gradualmente com sinais de envolvimento do trato piramidal e progressão lenta e irreversível (72), contudo uma minoria pode apresentar uma progressão rápida dos sintomas neurológicos (73). Segundo GOTUZZO e colaboradores (2004), os sinais e sintomas neurológicos mais freqüentemente encontrados são espasticidade (97%), hiperreflexia (95,4%), parestesia em membros inferiores (90,2%), clonus e/ou sinal de Babinski (92,6%), queixas urinárias (82,0%), dor lombar (79,0%), constipação (77,7%), sensibilidade vibratória diminuída (61,5%) e sinal de Hoffmann (40,6%) (74). A mielopatia pelo HTLV-1 tem

evolução insidiosa e cerca de 20% dos pacientes irão apresentar incapacidade para deambular em menos de dois anos nos pacientes infectados apenas pelo HTLV-1 (74). Este mesmo estudo realizado no Peru detectou que a HAM/TSP acomete mais mulheres do que homens numa proporção de 8:3, com início dos sintomas na 4ª. década de vida. O curso geralmente é insidioso com lenta progressão para paraparesia após vários anos de início dos sintomas. Entretanto cerca de 21,5% dos pacientes podem apresentar rápida evolução com acentuada incapacidade em dois anos (74). O estágio final também varia entre a habilidade de deambular com uma bengala a permanecer acamado com espasmos dolorosos e contraturas musculares (75).

Em 2006 CASTRO-COSTA e colaboradores elaboraram uma proposta para o diagnóstico de HAM/TSP, baseando-se nos critérios da OMS de 1988 e na experiência de profissionais (76). Segundo estes autores, a HAM/TSP pode ser subdividida em três formas:

**Definida:**

1. quadro de paraparesia espástica progressiva com piora da marcha percebida pelo paciente. Sinais ou sintomas sensitivos podem ou não estar presentes e, quando presentes, permanecem sutis e sem um nível definido. Sinais ou sintomas esfinterianos urinários ou intestinais podem ou não estar presentes.

2. presença de anticorpos anti-HTLV-1 no soro e/ou líquido confirmado por *Western Blot* e/ou um PCR positivo para HTLV-1 no sangue e/ou no líquido.

3. exclusão de outras doenças que se assemelham a HAM/TSP.

**Provável:**

1. apresentação monossintomática: espasticidade ou hiperreflexia nos membros inferiores ou sinal de Babinski isolado com ou sem sinais ou sintomas sensitivos sutis, ou bexiga neurogênica confirmada somente por testes urodinâmicos.

2. presença de anticorpos anti-HTLV-1 no soro e/ou no líquido confirmado por *Western Blot* e/ou PCR positivo para HTLV-1 no sangue e/ou líquido.

3. exclusão de outras doenças que se assemelham a HAM/TSP.

**Possível:**

1. apresentação clínica completa ou incompleta.

2. presença de anticorpos anti-HTLV-1 no soro e/ou no líquido confirmado por *Western Blot* e/ou PCR positivo para HTLV-1 no sangue e/ou líquido.

3. não exclusão de outras doenças que se assemelham a HAM/TSP.

Várias doenças podem apresentar quadro neurológico semelhante à HAM/TSP e necessitam ser excluídas através de exames laboratoriais apropriados e avaliação clínica como: esclerose múltipla, carcinomatose meníngea, paraparesia espástica familiar, mielite transversa, esclerose lateral primária, síndrome paraneoplásica, seringomielia, doença de Lyme, deficiência de folato e vitamina B12, doença de Behçet, neurosífilis, neurotuberculose, sarcoidose, mielopatia vacuolar pelo HIV, doença do colágeno vascular, mielopatia autoimune, síndrome de Sjögren, mielopatia tóxica, esclerose lateral amiotrófica, mielopatia fúngica, fístula espinhal arteriovenosa, mielopatia herpética, mielopatia parasitária, compressão medular (76).

Usualmente realiza-se o teste de ELISA para triagem, seguido do *Western Blot* para confirmação da infecção pelo HTLV-1. O *Western Blot* é o teste sorológico mais específico

em que o antígeno é misturado ao lisado viral com proteínas do envelope do vírus recombinante derivado do HTLV-1 e HTLV-2. O PCR é especialmente útil nos casos onde o *Western Blot* for indeterminado.

Outras manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 são:

- Miopatia, que se caracteriza por fraqueza muscular proximal e mialgia associada a elevação de creatinofosfoquinase, padrão miopático à eletroneuromiografia e biópsia muscular com infiltrado inflamatório linfomonocitário e degeneração de fibras musculares;
- Doença do neurônio motor que se manifesta com uma síndrome piramidal associada a fraqueza muscular, amiotrofia e fasciculações musculares de caráter progressivo. A eletroneuromiografia revela sinais de denervação ativa e a biópsia muscular mostra atrofia por denervação;
- Neuropatia periférica que acomete fibras sensitivo-motoras com padrão em botas e luvas, e se manifesta com fraqueza muscular distal e arreflexia. A eletroneuromiografia mostra sinais de desmielinização axonal com predomínio da lesão sensitiva;
- Disautonomia, que leva a hipotensão ortostática e a disfunção esfíncteriana devido à resposta cutânea simpática anormal e dissinergia detrusor-esfíncter ao estudo urodinâmico;
- Ataxia cerebelar, que produz tremor de ação, dismetria e assinergia de tronco e nistagmo;

- Disfunção cognitiva, que se manifesta com alentecimento psicomotor, distúrbios de memória, desatenção e distúrbio visuomotor detectados em exames neuropsicológicos (47).

## 2.5. ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS DA HAM/TSP

A principal característica fisiopatológica do acometimento neurológico pelo HTLV-1 consiste na inflamação crônica seguida de degeneração da substância cinzenta e branca da medula espinhal em região tóraco-lombar (77). A mielopatia crônica pelo HTLV-1 parece ser imunomediada: o HTLV-1 induz a proliferação de células T (78, 79) e a HAM/TSP está associada à produção de citocinas pró-inflamatórias como o TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IL-2 (80, 81). As alterações histopatológicas caracterizam-se por espessamento leptomeníngeo e atrofia medular decorrentes da infiltração linfocitária perivascular, desmielinização e degeneração axonal e das células gliais. A reação inflamatória está relacionada ao tempo de doença. Inicialmente ocorre proliferação capilar e infiltrado linfomonocitário, principalmente células T-CD8<sup>+</sup> seguido de desmielinização, processo que pode ser desencadeado pelo mimetismo molecular. Ocorre envolvimento do trato corticoespinhal lateral e posterior, preservando a substância cinzenta, em região medular tóraco-lombar (77, 82-86). As células T-CD8<sup>+</sup>, micróglia e outras células inflamatórias podem envolver a parede dos vasos, acarretando vasculite e gliose perivascular (87-90). A predileção da inflamação pela medula espinhal torácica pode dever-se ao baixo fluxo sanguíneo local, com predisposição a maior expressão de moléculas de adesão para transmigração da célula T, enquanto outras áreas mais irrigadas do sistema nervoso central

permanecem preservadas (91). CASTRO-COSTA e colaboradores (2002) relatam um caso de processo inflamatório com infiltrado linfocítico meníngeo e em torno de vasos parenquimatosos presente após 40 anos de início da doença, reforçando o aspecto crônico da lesão medular pelo HTLV-1 (92). Na fase avançada da doença predomina o processo degenerativo sobre a inflamação (77). Além disso, fatores hormonais podem estar envolvidos na patogênese da HAM/TSP, pois o quadro clínico é mais freqüente e intenso nas mulheres (93).

ROSENBLUM e colaboradores (1992) descreveram dois casos de HAM/TSP na coinfeção pelo HIV-1/HTLV-1 que apresentavam perda axonal difusa com desmielinização envolvendo principalmente a coluna lateral e a anterior da medula espinhal, além de esclerose vascular e hialinização. Nestes casos não se identificou mielite multinuclear e mielopatia vacuolar típicas da infecção pelo HIV-1, evidenciando o predomínio da lesão medular pelo HTLV-1 (89).

## 2.6. ALTERAÇÕES IMUNOLÓGICAS NA HAM/TSP

Na infecção pelo HTLV-1 a evolução para HAM/TSP se deve a um desequilíbrio dos mecanismos imunoprotetores ou imunomoduladores na interação vírus-hospedeiro. De maneira genérica, as células T-CD4<sup>+</sup> ativadas produzem citocinas que desencadearão e amplificarão a resposta citotóxica, a produção de anticorpos e os processos fagocíticos, enquanto a ativação de células T-CD8<sup>+</sup> promoverá e estimulará a liberação de citotoxinas capazes de lisar a célula infectada. O HTLV-1 infecta predominantemente células T-CD4<sup>+</sup>, embora tenha sido detectado em outros tipos celulares como monócitos, células epiteliais e

algumas populações de linfócitos. As células T-CD4<sup>+</sup> infectadas são capazes de expressar epítopos virais no contexto de complexo maior de histocompatibilidade (MHC) de classe II e promover a ativação de células T-CD8<sup>+</sup> citotóxicas com potencial antiviral, restritas ao MHC de classe I. A análise do MHC I de linfócitos isolados no líquido de pacientes com HAM/TSP mostraram alta frequência de HTLV-1 Tax 11-19 específico e HLA-A\*02 restrito a linfócitos CD8<sup>+</sup> comparada a células mononucleares do sangue periférico (94). Recentemente, demonstrou-se que células CD8<sup>+</sup> específicas para a proteína viral HBZ (*basic leucine zipper factor*) tem papel protetor na infecção pelo HTLV-1. Esta proteção não está limitada a uma pequena parte dos alelos HLA classe I previamente associado com o estágio da doença e carga proviral (*HLA A\*02 e HLA Cw\*08*, principalmente da proteína Tax no contexto de A\*02), mas é geralmente associado com alelos HLA classe I que se ligam fortemente a proteína HBZ (95).

Têm sido propostas três hipóteses imunológicas para o desenvolvimento da HAM/TSP:

1. Citotoxicidade direta: células T-CD8<sup>+</sup> citotóxicas específicas cruzariam a barreira hematoencefálica e destruiriam as células gliais e as células nervosas infectadas;
2. Autoimunidade: antígeno do hospedeiro seria confundido com um antígeno do HTLV-1, levando ao processo de lesão neural auto-imune;
3. Dano celular circundante: os linfócitos T CD4<sup>+</sup> infectados e linfócitos T CD8<sup>+</sup> citotóxicos CD8<sup>+</sup> específicos antiproteína Tax migrariam para o SNC onde induziriam a inflamação e a destruição tecidual (86, 94, 96-98).

JACOBSON e colaboradores (1990) verificaram que as células T CD8<sup>+</sup> exercem função citotóxica anticélulas infectadas pelo HTLV-1 sustentada pela secreção de citocinas (99). A HAM/TSP está associada a elevados níveis de linfócitos T CD8<sup>+</sup> e de anticorpos para HTLV-1 no soro e fluído cerebrospinal (100). BANKI e colaboradores (1994) propõem a existência de reatividade cruzada entre componentes autólogos e antígenos do HTLV, produzindo uma resposta autoimune (101). Outra forma de mecanismo autoimune proposto seria a perda da tolerância periférica de linfócitos T autorreativos, decorrente da infecção prolongada pelo HTLV e ativação persistente da resposta imune antiviral (102).

OLAH e colaboradores (2007) observaram que na coinfeção há uma estimulação da proliferação de células T *in vitro*, o que levaria à incapacidade de suprimir a regulação das proteínas do vírus HTLV-1 Tax/Rex (103).

Segundo BANGHAM (2009) algumas características imunológicas estão associadas à infecção pelos retrovírus HIV-1 ou HTLV-1:

1. O linfócito T citotóxico é responsável pela evolução das infecções virais;
2. Diferenças individuais na eficiência e qualidade da resposta do linfócito T citotóxico específica ao vírus determina a evolução das infecções pelos retrovírus HIV-1 e HTLV-1;
3. A eficiência do linfócito T citotóxico é determinada pelo genótipo do MHC classe I;
4. A polifuncionalidade e avidéz funcional do linfócito T citotóxico podem ser resultado do controle eficiente da replicação viral. Numa infecção persistente, estas características fenotípicas podem ser causa e consequência do controle viral eficiente;



5. A alta avidéz funcional do linfócito T citotóxico é promovida por certos coestimuladores e moléculas de adesão (CD8, CD86, ICAM-1) e citocinas como IL-12, IL-15 e IFN- $\gamma$ ;
6. O genótipo HLA contribui com cerca de 5 a 15% da variação observada na carga viral nas infecções pelo HIV-1 e HTLV-1;
7. Variações na eficiência por célula do linfócito T citotóxico específico para o HTLV-1 entre indivíduos infectados podem contribuir em até 35% na variação da carga viral. A eficiência lítica ou qualidade do linfócito T citotóxico parece ser um importante determinante na evolução da infecção pelo HTLV-1;
8. A alta freqüência de células T CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> está associada ao controle ineficiente da replicação retroviral mediada pela célula T. A proteína Foxp3 tem função regulatória no desenvolvimento e função das células T regulatórias, envolvidas na tolerância imune, especialmente autotolerância (104).

## 2.7. CITOCINAS NA HAM/TSP

A HAM/TSP associa-se a presença de células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> ativadas e a alta produção de citocinas pró-inflamatórias incluindo IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-2 (80, 81). O IFN- $\gamma$  e a IL-2 produzidos pelas células CD4<sup>+</sup> e o TNF- $\alpha$  produzido por monócitos se associam a uma resposta imunológica do tipo Th1. As citocinas IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  elevadas nos compartimentos afetados durante a infecção viral e seus mecanismos pró-inflamatórios podem controlar a ativação de linfócitos T CD8<sup>+</sup> autorreativos e a tolerância a autoantígenos (105, 106). As citocinas inflamatórias IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  foram expressadas no infiltrado perivascular de

macrófagos, astrócitos e micróglia (107). E o TNF- $\alpha$  pode aumentar a permeabilidade endotelial do SNC, particularmente em microvasos da medula espinhal (108). A análise da ativação celular tanto no sangue periférico quanto no fluido cerebrospinal, chama a atenção para o fato de que pacientes com HAM/TSP apresentam aumento de células T ativadas, positivas para os marcadores HLA-DR e CD28 (109). Outras citocinas produzidas por células T, macrófagos e micróglia também tem ação pró-inflamatória como IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-15 relacionadas a desmielinização neuronal (110). BRITO-MELO e colaboradores (2007) investigaram o perfil de citocinas intracelulares em leucócitos do sangue periférico de pacientes assintomáticos infectados pelo HTLV-1 e detectaram alta frequência de neutrófilos expressando IL-12<sup>+</sup> e monócitos TNF- $\alpha$ , além de altos níveis de CD4<sup>+</sup> IL-10<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>IL-10<sup>+</sup>, como um possível mecanismo imunorregulador para contrabalançar o TNF- $\alpha$  derivado de monócito (111). Alguns aspectos imunológicos têm sido propostos na tentativa de monitorar a evolução da infecção para a mielopatia. BRITO-MELO e colaboradores (2007) também propõem que a diminuição da porcentagem de células B aumenta a relação células T/B, consistindo num bom biomarcador de prognóstico para o desenvolvimento de mielopatia (111).

Quadro 2. Efeitos biológicos das citocinas estudadas

<b>Citocina</b>	<b>Resposta</b>	<b>Principal fonte</b>	<b>Ação biológica</b>
IL-6		Células B, T, macrófagos, células do endotélio e astrócitos	Potente atividade antiviral durante a fase aguda. Atua no estímulo à unidade formadora de colônias de granulócitos-macrófagos e nas células tronco
TNF- $\alpha$		Monócitos, macrófagos e outros tipos como célula T ativada, células NK neutrófilos e fibroblastos	Liberada rapidamente em resposta a agentes inflamatórios e infecciosos, envolvido na defesa contra patógenos intracelulares
IL-2	Th1	Células T-CD4 <sup>+</sup> e CD8 <sup>+</sup>	Funciona como fator de crescimento autócrino e a diferenciação de células T e B e facilita a ação citolítica das células NK, síntese de citocinas e anticorpos.
IFN- $\gamma$	Th1	Células T-CD4 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup> e NK	Ativação, crescimento e diferenciação de células T e B, macrófagos e NK. Aumenta a expressão de MHC I e II nas células apresentadoras de antígeno. Diferenciação Th1
IL-4	Th2	Células T-CD4 <sup>+</sup> e mastócitos	Produção de anticorpos IgE e células Th2 a partir de células T-CD4 <sup>+</sup> . Estimula a expressão de moléculas de adesão.
IL-10		Macrófagos e células T-CD4 <sup>+</sup> e CD8 <sup>+</sup> ativadas	Citocina imunomoduladora, é um inibidor de macrófagos ativados. Inibe a produção de IL-12 e TNF- $\alpha$ pelos macrófagos ativados; inibe a expressão de coestimuladores e da molécula de MHC II nos macrófagos

Não há uniformidade nos valores séricos de citocinas nos diferentes estudos independentemente da forma clínica da monoinfecção pelo HTLV-1 como mostra o Quadro 3. Entretanto MONTANHEIRO e colaboradores (2009) identificaram nível mais elevado de IFN- $\gamma$  em indivíduos assintomáticos e elevação ainda mais acentuada nos portadores de HAM/TSP quando comparados ao grupo controle, enquanto GUERREIRO e colaboradores (2006) observaram níveis mais elevados de IFN- $\gamma$  apenas no grupo assintomático quando comparado ao controle. E o nível de TNF- $\alpha$  encontrava-se mais elevado no grupo assintomático quando comparado ao controle (18). Ambas citocinas, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , são importantes na resposta imune pró-inflamatória à infecções virais.

Quadro 3. Estudos com níveis séricos de citocinas de controles e pacientes infectados pelo vírus HTLV-1 assintomáticos e com HAM/TSP

<b>Citocina</b>	<b>Controle</b>	<b>Assintomático</b>	<b>HAM/TSP</b>	<b>Estudo</b>
IFN- $\gamma$	106 (0-177)	1089 (9-1989)	1764 (805-2681)	Montanheiro et al., 2009*
IFN- $\gamma$	-	567 (0-6895)	2515 (58-10750)	Guerreiro et al, 2006**
TNF- $\alpha$	559 (146-915)	1099 (337-1562)	1456 (559-2250)	Montanheiro et al., 2009§
IL-2	25 (0-95)	69 (0-70)	166 (3,5-169)	Montanheiro et al., 2009
IL-4	9 (0-3,5)	9 (0-2)	18 (0-17)	Montanheiro et al., 2009
IL-10	151 (0-305)	146 (0-274)	205 (10-321)	Montanheiro et al., 2009

Valores referentes à mediana (mínimo-máximo) em pg/mL;. \*nível de IFN- $\gamma$  em indivíduos com HAM/TSP > assintomáticos > controle; \*\* em indivíduos assintomáticos > controle; § nível de TNF- $\alpha$  em indivíduos assintomáticos > controle. HAM/TSP = Mielopatia Associada ao HTLV-1/Paraparesia Espástica Tropical.

Apesar da variabilidade dos valores, observa-se aumento estatisticamente significativo de citocina inflamatória com resposta imune do tipo Th1 (IFN- $\gamma$ ) na infecção pelo vírus HTLV-1 com maior elevação na HAM/TSP.

## 2.8. QUIMIOCINAS

### 2.8.1. ASPECTOS GERAIS DAS QUIMIOCINAS

As quimiocinas constituem uma grande família de citocinas de baixo peso molecular responsáveis pela movimentação dos leucócitos, incluindo sua migração para locais de inflamação tecidual a partir do sangue. As quimiocinas são polipeptídios de 8 a 12 kD, sendo

classificadas em subfamílias divididas de acordo com o número e a localização dos resíduos de cisteína N-terminais em XC, CC, CXC e CX3C, sendo o X um outro aminoácido. As duas principais subfamílias constituem as quimiocinas CC, que possuem dois resíduos de cisteína adjacentes, e as CXC, em que os resíduos de cisteína são separados por um aminoácido (X). A família CC atua em vários tipos celulares incluindo monócitos, linfócitos T, basófilos, eosinófilos e células dendríticas. As quimiocinas CXC agem principalmente sobre os neutrófilos. A XC é quimiotática para linfócitos T e células matadoras naturais (NK), e por fim a CX3C atrai linfócitos T, NK e neutrófilos (112). Em adição à ação quimiotática, observam-se outras funções biológicas das quimiocinas, como a indução da adesão celular, fagocitose, diferenciação e ativação de célula T, apoptose, angiogênese, proliferação e secreção de citocinas. Já foram descritas aproximadamente 50 diferentes quimiocinas humanas que interagem com 19 diferentes receptores de quimiocinas (113-115) Os receptores de quimiocinas expressam-se predominantemente em leucócitos e classificam-se em XCR, CCR, CXCR e CX3CR, conforme a natureza do ligante. Ressalta-se que a maioria dos receptores reconhece mais de uma quimiocina, conferindo considerável redundância a esse sistema (ver Quadro 4).

O recrutamento ou a atração química seletiva de leucócitos ocorre pela complexa combinação entre as quimiocinas e seus receptores, expressos diferentemente conforme o tipo celular, bem como por mediadores lipídicos e componentes do sistema de complemento. Por exemplo, no caso das quimiocinas, os neutrófilos apresentam receptores CXCR2 que são alvo de ligação da quimiocina CXCL8/IL-8, que predomina na fase aguda da inflamação. Já em processos inflamatórios crônicos, há liberação da quimiocina CXCL10/IP-10 que atua sobre os

receptores CXCR3 presentes em células mononucleares, determinando infiltrado mononuclear e ativação das células Th1 (116).

A inflamação é uma resposta complexa do organismo que envolve várias células, componentes plasmáticos e produtos celulares, e tem a função de reparar o dano produzido por um agente infeccioso, trauma, isquemia, necrose ou hemorragia (117). A resposta inflamatória local desencadeia inicialmente aumento do fluxo sanguíneo e da permeabilidade capilar. No SNC, a migração leucocitária possui características únicas decorrentes da presença da barreira hematoencefálica (BHE). Utilizando-se o modelo experimental da encefalomielite aguda, acredita-se que o linfócito migra para o SNC em duas fases: no início somente linfócitos participam, eles são ativados independentemente de sua especificidade, sendo capazes de atravessar a BHE intacta. Numa segunda fase, que é acompanhada pela ruptura da BHE, há uma intensa infiltração de outros tipos celulares. É possível que após a primeira entrada específica de linfócitos T ativados, estes reconheçam seu antígeno e isto origine um processo inflamatório com a subsequente produção de citocinas que ativam o endotélio da BHE, permitindo a passagem de outras células inflamatórias (117). Os leucócitos circulantes atravessam o endotélio em etapas, com a interação de selectinas, integrinas, moléculas de adesão celular e componentes da matriz extracelular. Primeiro os leucócitos rolam, depois aderem fortemente à superfície endotelial até que atravessam o endotélio vascular em direção ao local da inflamação. Este direcionamento da migração celular decorre da reorganização do citoesqueleto induzida pela ligação da quimiocina a receptores 7-transmembrana (7TM) acoplados à proteína G, que inibem o AMPc (monofosfato de adenosina cíclico) e aumentam o cálcio intracelular transitoriamente (118). As células endoteliais e gliais, uma vez ativadas por

citocinas pró-inflamatórias produzidas pelos linfócitos T, liberam quimiocinas. O TNF- $\alpha$  induz a presença de leucócitos no espaço perivascular e no líquido e, junto com o IFN- $\gamma$ , possuem propriedades citotóxicas no endotélio vascular mediadas pelo óxido nítrico. De nota, as células endoteliais, além de liberar citocinas e quimiocinas, expressam os receptores de quimiocinas CCR5 e CXCR4. Os astrócitos também produzem várias quimiocinas, como CCL2/MCP-1, CCL5/RANTES, CXCL8/IL-8 e CXCL10/IP-10, em resposta a citocinas pró-inflamatórias, e expressam receptores como CCR1, CCR5 e CXCR4 (119). As quimiocinas liberadas favorecem a migração de células como neutrófilos, linfócitos T e monócitos (120, 121) . Assim que essas células atingem o parênquima cerebral, secretam mais citocinas e quimiocinas, amplificando o processo inflamatório (Hickey, 1999)(122).

Outras células endógenas do SNC também podem expressar receptores de quimiocinas, como oligodendrócitos, micróglia e até neurônios. A expressão desses receptores no SNC parece ser regulada pelo TGF  $\beta$ 1 (fator de crescimento transformador  $\beta$ 1) e pelo IFN- $\gamma$ . A liberação de quimiocinas no SNC é geralmente determinada por estímulo inflamatório através de citocinas pró-inflamatórias como TNF- $\alpha$  e IL-1, exceto no caso da CX3CL1/Fractalkina e CXCL12/SDF-1 $\beta$ , que são expressas de forma constitutiva, respectivamente, em neurônios e astrócitos (123-125). As quimiocinas mais comumente relacionadas às lesões do SNC, incluindo pesquisas em modelo experimental, são CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 $\alpha$ , CCL4/MIP-1 $\beta$ , CCL5/RANTES, CCL8/MCP-2, CXCL8/IL-8 e CXCL10/IP-10 (119, 126-134).

No presente estudo optou-se pela análise das seguintes quimiocinas (ver Quadro 4): a CCL2/MCP-1, importante quimiocina relacionada a resposta imune Th2; a CCL5/RANTES,

envolvida com o receptor CCR5 que participa da entrada do vírus HIV-1 nas células T-CD4<sup>+</sup>; a CXCL8/IL-8, que está elevada em pacientes infectados pelo HIV-1 com quadro demencial; a CXCL9/MIG e CXCL10/IP-10 que participam da resposta imune Th1, sendo esta última aumentada na HAM/TSP e na esclerose múltipla (uma doença neurodegenerativa imune-mediada) (135).



Quadro 4 Tipos de receptores em células recrutadas pela ação das diferentes quimiocinas estudadas

<b>Quimiocina ligante</b>	<b>Receptor</b>	<b>Tipo celular</b>	<b>Observações</b>
CCL5/RANTES	CCR1	Células T, monócitos, eosinófilos, basófilos	
CCL2/MCP-1	CCR2	Monócitos, células dendríticas (imaturas), células T de memória	Resistência a patógenos intracelulares. Influencia diretamente a produção de IL-4 pelas células Th2
CCL5/RANTES	CCR3	Eosinófilos, basófilos, mastócitos, células T Th2, plaquetas	
CCL5/RANTES	CCR5	Células T e monócitos	Correceptor na infecção HIV-1 (cepas T-trópicas)
CXCL8/IL-8	CXCR1	Neutrófilos e monócitos	Inflamação aguda
CXCL8/IL-8	CXCR2	Neutrófilos, monócitos, células endoteliais microvasculares	
CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10	CXCR3-A	Células Th1, mastócitos e células mesangiais	A CXCL10/IP-10 é regulada pelo IFN- $\gamma$ , sendo expressa abundantemente em infecções virais
CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10	CXCR3-B	Células endoteliais microvasculares e células neoplásicas	

MCP-1 monocyte chemoattractant protein; Th2 células T helper tipo 2; RANTES regulated T cell expressed and secreted; MIG monokine induced by  $\gamma$ -interferon; IP-10  $\gamma$ -interferon inducible protein-10; HIV-1 vírus da imunodeficiência humana do tipo 1  
Adaptado de CHARO & RANSOHOFF (2006) (135).

## 2.8.2. QUIMIOCINAS NA INFECÇÃO PELO VÍRUS HIV-1

Em 1996 vários pesquisadores descobriram a importância do receptor de quimiocina CCR5 na transmissão e patogênese da SIDA ao verificar que uma mutação no gene deste receptor protegia indivíduos homozigotos contra a infecção pelo HIV-1 e também lentificava a progressão da doença em indivíduos heterozigotos (136-138). Tal descoberta possibilitou novas pesquisas na terapêutica anti-HIV-1 e avanços na compreensão do funcionamento das quimiocinas.

Os dois principais receptores de quimiocinas que definem o tropismo do HIV-1 pelas células T-CD4<sup>+</sup> são o CXCR4 e o CCR5 (139). Para entrar na célula alvo o vírus HIV-1 requer o reconhecimento de dois elementos distintos presentes na membrana celular: o CD4 e o CCR5 para cepas com tropismo por macrófagos num estágio inicial da doença; ou o CD4 e o CXCR4 para cepas com tropismo por células T nos estágios tardios da infecção pelo HIV-1.

As  $\beta$ -quimiocinas CCL3/MIP-1 $\alpha$  e CCL4/MIP- $\beta$  são capazes de inibir a replicação do HIV-1 ao se ligarem ao correceptor CCR5 das células T-CD4<sup>+</sup>. BRITO e colaboradores (2007) observaram altos níveis destas quimiocinas e normalização da hiperexpressão de receptores CCR5 e CXCR4 nas células T de pacientes infectados pelo vírus HIV-1 com resposta satisfatória após tratamento com HAART – terapia antiretroviral potente (140).

A quimiocina CCL5/RANTES possui ação pró-inflamatória, geralmente promovendo inflamação crônica e atuando na resposta imune adquirida. Atrai células T de memória ativadas, agindo sobre os receptores CCR1, CCR3 e CCR5. E ainda atrai células dendríticas, eosinófilos, células NK, mastócitos e basófilos. As principais fontes desta quimiocina são as

células T, plaquetas, macrófagos, eosinófilos, células epiteliais e endoteliais (141). COCCHI e colaboradores (1995) identificaram propriedades anti-HIV desta quimiocina ao impedir a replicação da cepa macrófago-trópica, e ela foi associada com o retardo na progressão da doença (142-145). Entretanto, CCL5/RANTES tem um efeito duplo, pois pode aumentar a replicação do HIV-1 em elevadas concentrações (141). A CXCL12/SDF-1 $\alpha$ , uma ligante do CXCR4 com potente recrutadora e ativadora de leucócitos, inibe a replicação do HIV-1 subtipo X4 ao impedir a entrada do vírus na célula T-CD4<sup>+</sup>, e aumenta a infectividade do subtipo R5 (146).

A CXCL8/IL-8 é responsável pelo recrutamento de neutrófilos e células T, estimula a adesão de monócitos e participa da angiogênese ao interagir com receptores CXCR1 e CXCR2. Elevados níveis de CXCL8/IL-8 estão presentes no soro de pacientes infectados pelo HIV-1. A CXCL8/IL-8 estimula a replicação do HIV-1 em macrófagos derivados de monócitos e linfócitos T. Anticorpos que neutralizam a atividade desta quimiocina, bem como anticorpos que bloqueiam a ligação aos receptores CXCR1 e CXCR2 podem inibir a replicação do HIV-1 em macrófagos e células T (147, 148).

A CXCL10/IP-10 atrai linfócitos T ativados e monócitos (149-151). Está presente no líquido de pacientes HIV-1 e atua como o principal fator quimiotático de células T no líquido (152). A CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10 e CXCL11/I-TAC se ligam ao receptor CXCR3. Níveis elevados de CXCL10/IP-10 têm sido detectados no plasma de pacientes infectados pelo HIV-1 comparados com controles e níveis persistentemente elevados se correlacionam com a falência do tratamento HAART (153). Observou-se ainda que CXCL10/IP-10 estimula a replicação do

HIV-1 nos linfócitos do sangue periférico e em macrófagos derivados de monócitos e que a neutralização desta quimiocina ou o bloqueio de CXCR3 reduz a replicação viral (154).

### 2.8.3. QUIMIOCINAS NA INFECÇÃO PELO VÍRUS HTLV-1

As células infectadas pelo HTLV-1 expressam várias quimiocinas como CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 $\alpha$ , CCL4/MIP-1 $\beta$ , CCL5/RANTES, CXCL8/IL-8 e CXCL10/IP-10, além do receptor de quimiocina CCR4 (155, 156). As quimiocinas CCL3/MIP-1 $\alpha$ , CCL4/MIP-1 $\beta$ , CCL5/RANTES são ligantes naturais dos receptores CCR1, CCR3 e CCR5. O receptor CCR5 é usado pelo HIV-1 na infecção da célula T-CD4<sup>+</sup> e algumas quimiocinas competem pelo mesmo sítio. A CXCL10/IP-10 é produzida por monócitos e células endoteliais no sangue periférico e por astrócitos no SNC. Esta quimiocina encontra-se elevada no líquido de pacientes com HAM/TSP, sugerindo um padrão de resposta imunológica do tipo Th1 (157, 158). NARIKAWA e colaboradores (2005) identificaram a mudança da resposta imunológica para Th2 após uso terapêutico de IFN- $\alpha$  com elevação líquórica de CCL2/MCP-1 (157). A CCL2/MCP-1, que atrai monócitos e macrófagos, foi detectada em células do infiltrado perivascular e do endotélio vascular nas lesões crônicas ativas em pacientes com HAM/TSP (159).

Assim como para as citocinas, também não há uma uniformidade nos valores séricos de quimiocinas nos diferentes estudos sobre a monoinfecção pelo HTLV-1 como mostra o Quadro 5. No estudo de GUERREIRO e colaboradores observa-se que altos níveis de

CXCL9/MIG e CXCL10/IP-10 e baixos níveis de CCL2/MCP-1 são características dos pacientes com HAM/TSP. NARIKAWA e colaboradores (2005) também encontraram níveis séricos de CXCL10/IP-10 mais elevados nos pacientes com HAM/TSP quando comparados aos pacientes do grupo controle com outras doenças neurológicas (157).

Quadro 5. Estudos com níveis séricos de quimiocinas de controles e pacientes infectados pelo vírus HTLV-1 assintomáticos e com HAM/TSP

Quimiocinas	Controle	Assintomático	HAM/TSP	Estudo
CCL2/MCP-1*	123 (56-375)	118 (0-348)	67 (0-169)	Guerreiro et al, 2006
CCL2/MCP-1 <sup>§</sup>	15,3±3,7	-	45,4±12,7	Narikawa et al., 2005
CCL5/RANTES*	1176 (891-1385)	1466 (1006-1911)	1465 (1202-2161)	Montanheiro et al., 2007
CXCL8/IL-8*	0 (0-793)	0 (0-2422)	0(0-4993)	Guerreiro et al, 2006
CXCL9/MIG*	-	2660 (6-31220)	6605 (1556-66052)	Guerreiro et al, 2006
CXCL10/IP-10 <sup>§</sup>	385,5±148,3	-	835,1±117,2	Narikawa et al., 2005

\* Valores dados pela mediana (mínimo-máximo) em pg/mL; <sup>§</sup>Valores dados pela média ± desvio padrão em pg/mL.

## 2.9. CITOCINAS E QUIMIOCINAS NA COINFECÇÃO PELOS VÍRUS HIV-1/HTLV-1

A infecção pelo vírus HTLV-1 se associa a maior proliferação de célula T-CD4<sup>+</sup> nos pacientes infectados pelo HIV-1 a despeito da progressão para SIDA (63). A expressão do gene Tax ativa a replicação viral, mas também induz a expressão de IL-2 e fator estimulador de colônias de macrófagos-granulócitos que provocam crescimento de células T (160). Entretanto o aumento de células T-CD4<sup>+</sup> não confere efeito protetor contra infecções oportunistas (161). Ambos os vírus utilizam o receptor CD4<sup>+</sup> para entrar na célula T, embora o HIV-1 necessite de outro correceptor o CCR5 ou o CXCR4. CASSEB (1998) acredita que na coinfeção, o

HTLV-1 induz a resposta imune tipo Th2, mais relacionada à resposta humoral, embora também produza a IL-2 (citocina responsável por resposta imune celular tipo Th1). Indivíduos portadores do HTLV-1 apresentam níveis elevados de IFN- $\gamma$  (produzido por células T-CD4<sup>+</sup>) e TNF- $\alpha$  (produzido por monócitos) que teriam um efeito protetor contra infecções oportunistas (161).

Embora não se tenha estudos sobre quimiocinas na coinfeção pelos vírus HIV-1/HTLV-1, CASOLI e colaboradores observaram que a secreção de CCL3 pelas células mononucleares do sangue periférico em culturas de células está aumentada e seria responsável pela atividade anti-HIV-1 nos indivíduos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-2, quando comparado a monoinfectados pelo HIV-1. A infecção pelo HTLV-2 de células T-CD8<sup>+</sup> e sua expansão clonal induziria a secreção de quimiocinas CC, que poderiam reforçar a ação citotóxica contra células T-CD4<sup>+</sup> infectadas pelo vírus HIV-1 (162).

MORIUCHI e colaboradores (1998) realizaram estudo *in vitro* no qual identificaram que as quimiocinas CCL3/MIP-1 $\alpha$ , CCL4/MIP-1 $\beta$  e CCL5/RANTES, produzidas pelas células infectadas pelo HTLV-1 suprimem o tropismo macrofágico da infecção pelo HIV-1 e estimulam a replicação do HIV-1 através do tropismo pelas células T. Esta transição do fenótipo macrofágico para o de células T está associada à progressão da doença pelo HIV-1 (163).

Em nosso estudo objetivamos caracterizar a produção de citocinas e quimiocinas envolvidas na resposta imune tipo Th1 (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10) e Th2 (IL-4, IL-6, CCL2/MCP-1), além de IL-10 (citocina imunomoduladora), CCL5/RANTES

(quimiocina que se liga ao CCR5, um correceptor do HIV-1) e CXCL8/IL-8 (quimiocina que recruta neutrófilos) em indivíduos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 comparados a três outros grupos: controle doador de sangue, um grupo de monoinfectados pelo vírus HTLV-1 e monoinfectados pelo HIV-1. A identificação das características imunológicas da coinfeção pelo vírus HIV-1/HTLV-1 poderá contribuir para a compreensão dos mecanismos envolvidos na ocorrência da inflamação crônica da medula espinhal mais frequente neste grupo, além de possibilitar perspectivas terapêuticas imunomoduladoras.

**OBJETIVOS**



### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo geral

Analisar as manifestações neurológicas e características imunológicas de indivíduos coinfectados pelos vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 e vírus linfotrópico humano de células T do tipo 1.

#### 3.2. Objetivos específicos

- a) Comparar as características epidemiológicas, clínicas e as manifestações neurológicas de indivíduos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1, controle doadores de sangue, monoinfectados pelo vírus HTLV-1 e monoinfectados pelo vírus HIV-1;
- b) Comparar a contagem de células T-CD4<sup>+</sup> entre os indivíduos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 e monoinfectados pelo vírus HIV-1;
- c) Comparar os níveis de carga viral entre os indivíduos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 e monoinfectados pelo vírus HIV-1;
- d) Comparar os níveis de carga proviral entre os indivíduos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 e monoinfectados pelo vírus HTLV-1;
- e) Comparar níveis séricos das citocinas IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-6 e IL-10 entre os grupos de indivíduos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1, controle doadores de sangue, monoinfectados pelo vírus HTLV-1 e monoinfectados pelo vírus HIV-1;

- f) Comparar os níveis séricos de quimiocinas CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10 e CCL2/MCP-1, CCL5/RANTES entre os grupos de indivíduos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1, controle doadores de sangue, mono infectados pelo vírus HTLV-1 e mono infectados pelo vírus HIV-1.

**PACIENTES E MÉTODOS**

## 4. PACIENTES E MÉTODOS

### 4.1. DELINEAMENTO DO ESTUDO

Trata-se de estudo transversal com a análise comparativa das características neurológicas e imunológicas entre os grupos de indivíduos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1, controle doadores de sangue, monoinfectados pelo vírus HTLV-1 e monoinfectados pelo vírus HIV-1. Realizou-se a entrevista clínica, exame neurológico e coletou-se amostra de sangue para dosagem das citocinas e quimiocinas em todos os grupos, e dosagem de carga proviral nos grupos monoinfectados pelo vírus HTLV-1 e coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1.

### 4.2. CÁLCULO DA AMOSTRA

Não há dados na literatura científica para cálculo amostral com relação aos aspectos imunológicos. Realizou-se o cálculo do tamanho da amostra para análise de manifestações neurológicas causadas pelo HTLV-1, baseando-se na diferença entre as prevalências de HAM/TSP entre os grupos de pacientes coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 (29,6%) e monoinfectados pelo HTLV-1 (5%), conforme dados de CASSEB e colaboradores (2007) e EDLICH e colaboradores (2000) (1, 45). Para um nível de significância de 5% ( $z_{1-\alpha}=1,96$ ), e considerando nível de poder de 80%, calculou-se a amostra de 36 pacientes em cada grupo a ser comparado.

### 4.3. POPULAÇÃO ESTUDADA

#### **Grupo coinfetado:**

Selecionaram-se os indivíduos coinfetados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 entre pacientes infectados pelo vírus HIV-1 em acompanhamento médico no ambulatório de doenças infecciosas do Hospital das Clínicas - UFMG (Orestes Diniz) e Posto de Atendimento Médico da Sagrada Família da Prefeitura de Belo Horizonte no período de janeiro a setembro de 2009. Dos 1.772 pacientes HIV-1 positivo, 1.080 submeteram-se à pesquisa sorológica para HTLV1/2, encontrando-se 30 pacientes coinfetados pelos vírus HIV-1/HTLV-1/2. Entre estes pacientes, dois apresentavam sorologia positiva para HTLV-2, quatro não compareceram à entrevista para o estudo e oito não foram localizados por divergências no endereço registrado no prontuário. Participaram deste estudo 16 pacientes coinfetados, que se submeteram à entrevista, exame clínico neurológico e coleta de sangue.

#### **Grupo controle doador de sangue:**

Para o grupo controle doador de sangue foram convidados 20 doadores de sangue do HEMOMINAS com sorologia negativa para doenças infecciosas e considerados saudáveis.

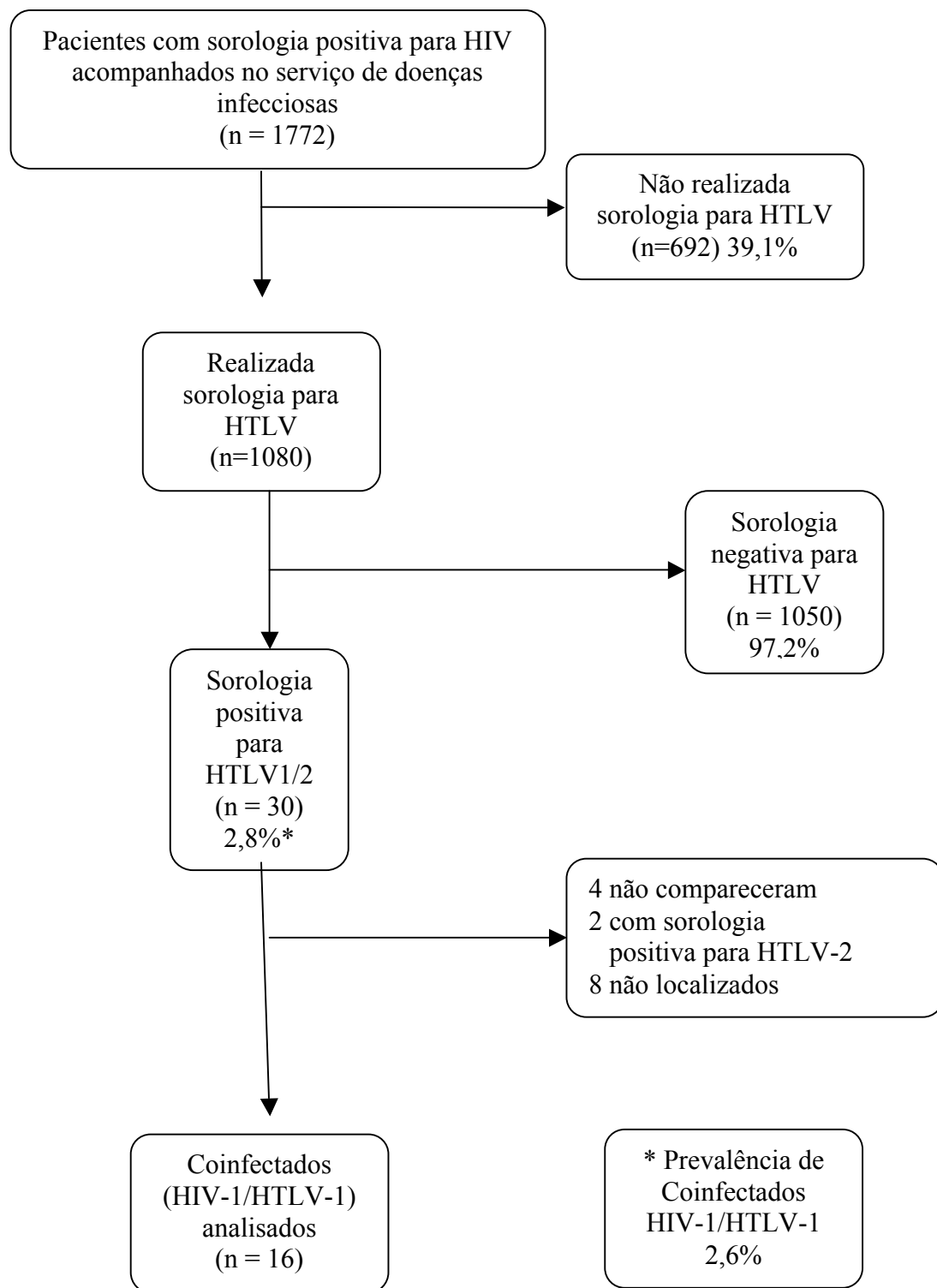
#### **Grupo monoinfetado pelo HTLV-1:**

Selecionaram-se uma amostra de conveniência de 87 pacientes monoinfetados pelo vírus HTLV-1 proveniente da coorte de 333 pessoas do Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em HTLV que estavam em acompanhamento ambulatorial na Fundação HEMOMINAS, destes 61 compareceram à entrevista, cinco foram excluídos, ficando 56 para análise. Selecionaram-se os

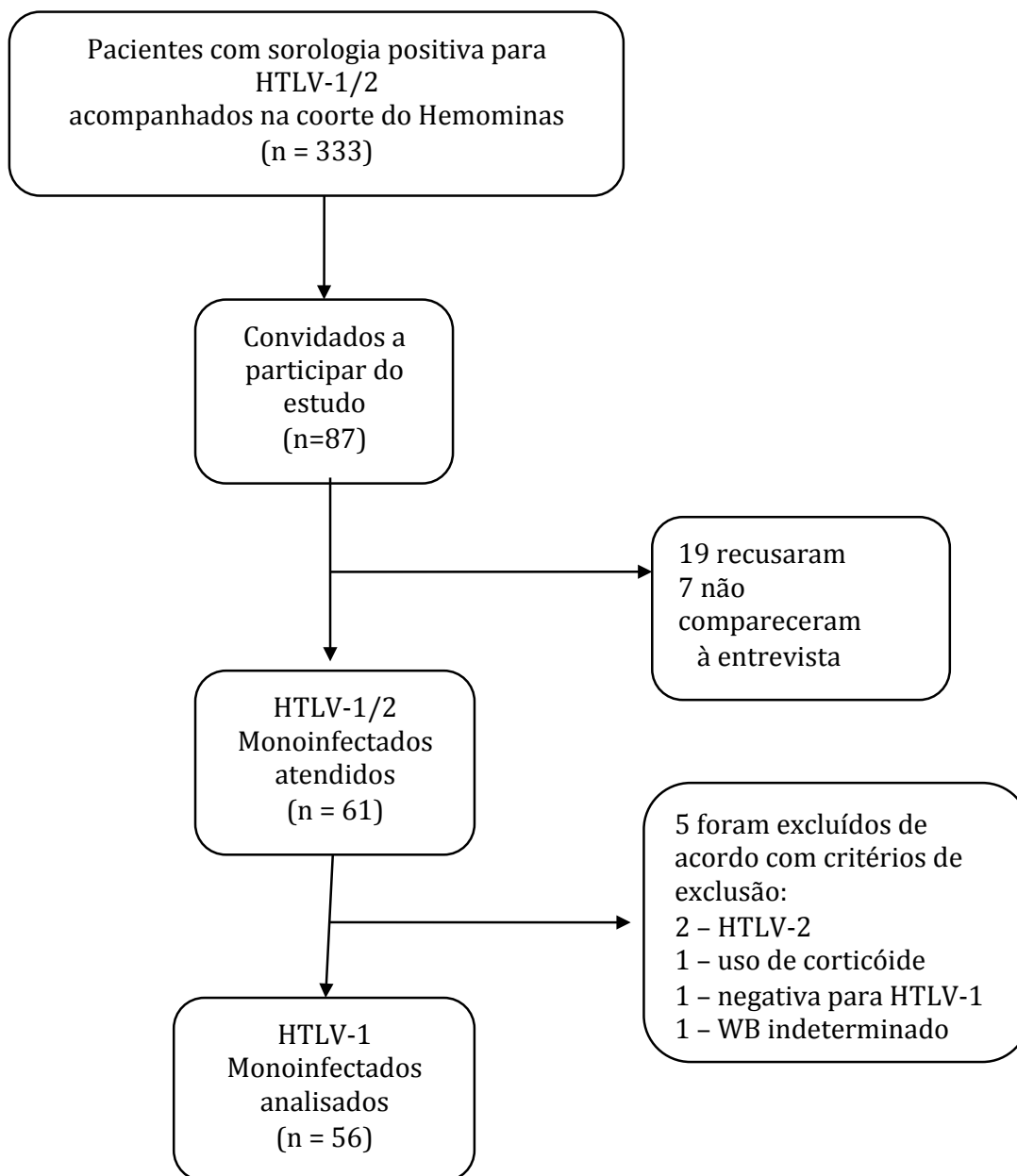
indivíduos infectados pelo HTLV-1 em conjunto com a pesquisa intitulada “Avaliação do Perfil de Citocinas Plasmáticas e da Dosagem da Carga Proviral na Mielopatia Associada ao HTLV-1”, conduzida pela pesquisadora Ana Lúcia Borges Starling e apresentada como dissertação de mestrado em Ciência da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical no Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da UFMG.

**Grupo mono infectado pelo HIV-1:**

Selecionaram-se uma amostra de conveniência de 49 pacientes mono infectados pelo vírus HIV-1 entre pacientes em acompanhamento médico no ambulatório de doenças infecciosas do Hospital das Clínicas - UFMG (Orestes Diniz), todos estavam em uso de antirretroviral e com diagnóstico de SIDA.



Fluxograma 1 Seleção dos casos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1



Fluoxogram 2. Seleção dos casos infectados pelo vírus HTLV-1



#### 4.4. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Indivíduos adultos entre 18 e 75 anos coinfectados pelo vírus HIV-1 e HTLV-1, monoinfectados pelo HIV-1, monoinfectados pelo HTLV-1 e controle HIV-1 e HTLV-1 negativos.

#### 4.5. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Pacientes com deficiência mental;
- Pacientes em uso de corticosteróides ou fármacos imunossupressores;
- Pacientes com sorologia positiva para HTLV-2 ou *WB* indeterminado.

#### 4.6. DEFINIÇÃO DOS GRUPOS SELECIONADOS

**Grupo 1 – Coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1:** pacientes com sorologia positiva para HTLV-1 realizada através do método de ELISA (Abbott) e com sorologia positiva para HIV através do método de ELISA (Abbott) em dois testes e confirmação pelo método de *Western Blot* (Genelabs Diagnostics, Singapore).

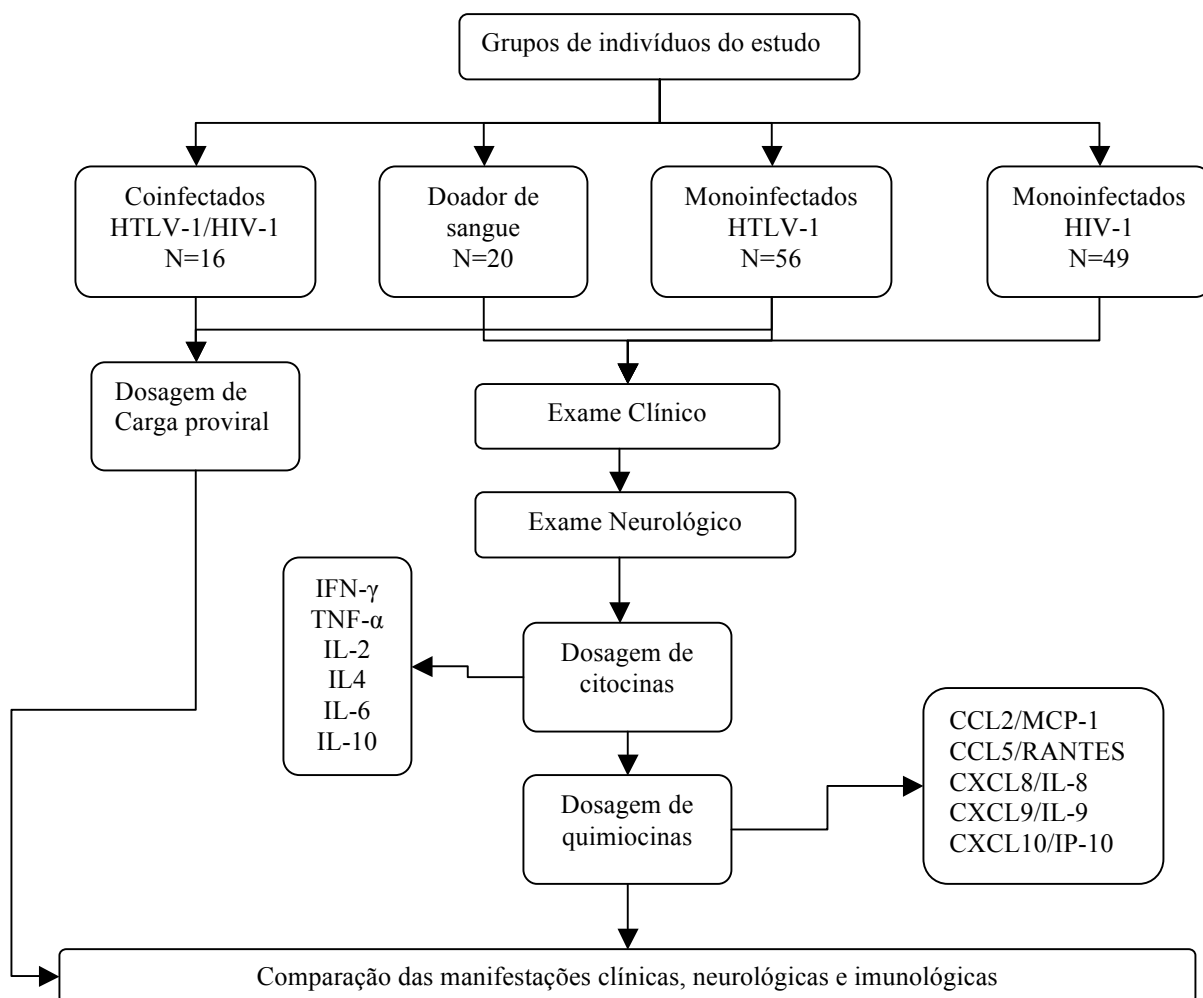
**Grupo 2 – Controle (doadores de sangue):** indivíduos doadores de sangue com sorologia negativa para doenças infecciosas como: HIV, HTLV, hepatites B e C, doença de Chagas, sífilis.

**Grupo 3 – Monoinfetado pelo vírus HTLV-1:** pacientes com sorologia positiva para HTLV-1 realizada através do método de ELISA (Abbott) em dois testes e confirmação pelo método de Western blot (Genelabs Diagnostics, Singapore). Este grupo foi ainda subdividido, conforme a presença ou ausência de sinais de mielopatia, em:

- Assintomáticos: ausência de sinais ou sintomas indicadores de acometimento neurológico de acordo com os critérios propostos pela Organização Mundial de Saúde adaptado por CASTRO-COSTA e colaboradores (2006)
- HAM/TSP:
  - presença de pelo menos dois dos sinais piramidais abaixo:
    - paresia,
    - hipertonicidade ou espasticidade,
    - hiperreflexia ou clônus,
    - presença de reflexos patológicos (Babinski ou Hoffmann),
    - disfunção vesical (incontinência, retenção ou urgência urinária).
  - Preenchimento dos critérios propostos pela OMS como HAM/TSP possível adaptado por CASTRO-COSTA e colaboradores (2006). O que diferencia a HAM/TSP definida da possível consiste no fato de na primeira terem sido excluídas outras causas de mielopatia.

**Grupo 4 – Mono infectado pelo vírus HIV-1:** pacientes com sorologia positiva para HIV através do método de ELISA (Abbott) em dois testes e confirmação pelo método de Western Blot (Gene Labs Diagnostics).

#### 4.7. PROCEDIMENTOS REALIZADOS



Fluoxograma 3 Procedimentos realizados

#### 4.7.1. EXAME CLÍNICO

Todos os participantes submeteram-se ao exame clínico, realizado por uma especialista em clínica médica e ao exame neurológico realizado por um único neurologista, sendo que ambos desconheciam a condição clínico-neurológica dos indivíduos. Em seguida, realizou-se a coleta de sangue para exames imunológicos:

- História clínica: realizada entrevista dirigida com preenchimento de questionário sobre sintomas na cabeça, olhos, ouvidos, intestino, urina, aparelho genital, sintomas no corpo, nos braços, no dorso e nas pernas, uso de medicamentos nos últimos seis meses, história de parasitoses intestinais, uso de medicamentos antiretrovirais, presença de comorbidades, presença de fatores de risco para infecção pelo HIV-1/HTLV-1 (transfusão sanguínea, atividade sexual, amamentação na infância, detenção, contato com material contaminado (Apêndice 1)).
- Exame físico geral: aferição da pressão arterial, pulso, peso, palpação de linfonodos superficiais, ausculta cardíaca e pulmonar, palpação abdominal.
- Exame neurológico: exame de nervos cranianos, sensibilidade, reflexos osteotendinosos e reflexos patológicos (Babinski ou Hoffmann), força muscular, coordenação, equilíbrio e marcha e pesquisa de movimentos anormais.

#### 4.7.2. EXAMES LABORATORIAIS:

- Nos grupos HIV-1 e coinfectados (HIV-1/HTLV-1) coletaram-se dados de eritograma,

leucograma, linfócitos, contagem de plaquetas, carga viral, contagem de células T-CD4<sup>+</sup>, sorologias para hepatites B e C e sorologia para sífilis (VDRL) nos prontuários. Para os valores da carga viral e contagem de células T-CD4<sup>+</sup>, consideraram-se as dosagens dos últimos três meses.

- Nos grupos HTLV-1 e coinfectados (HIV-1/HTLV-1) realizaram-se a dosagem de carga proviral.
- Em todos os pacientes dos quatro grupos realizou-se a coleta de uma amostra de 20 mL de sangue para a dosagem das citocinas IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 e das quimiocinas CCL2/MCP-1, CCL5/RANTES, CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10.

#### 4.7.3. PROCESSAMENTO DA AMOSTRA

As amostras foram colhidas por profissionais treinados. A amostra biológica foi constituída por sangue total, distribuído nos anticoagulantes ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e heparina. Após a coleta, as mesmas foram congeladas e, posteriormente, encaminhadas para determinação do nível de citocinas plasmáticas, por citometria de fluxo, e para dosagem da carga proviral.

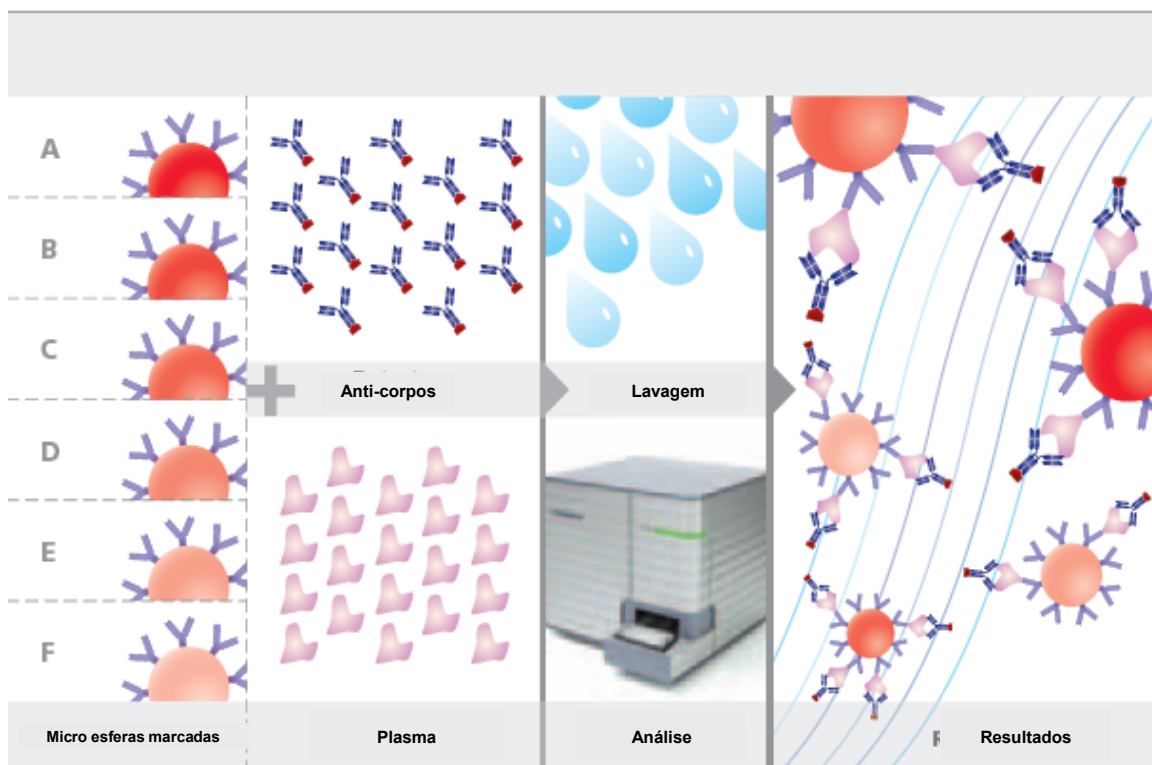
#### 4.7.4. DOSAGEM DE CITOCINAS E QUIMIOCINAS

Os indivíduos selecionados para o estudo submeteram-se a dosagem das citocinas IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 e das quimiocinas CCL2/MCP-1, CCL5/RANTES,

CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10. Realizaram-se as dosagens no Centro de Pesquisas René Rachou/FIOCRUZ.

Para a definição do nível de citocinas e quimiocinas plasmáticas, amostras de sangue periférico foram coletadas em tubos de 5 mL contendo o anticoagulante heparina. As amostras de plasma foram centrifugadas a 4.000 x g durante 15 minutos a 18°C, aliqüotadas e mantidas a -20°C até a realização dos experimentos.

As dosagens foram realizadas por meio da técnica de *Cytometric bead array* (CBA) – ensaio com microesferas fluorescentes empregando-se citometria de fluxo, que se baseia no uso de esferas de poliestireno, como suporte sólido para reação de imunofluorescência, marcadas com diferentes intensidades de fluorescência 3, marcadas seletivamente com anticorpos antianálitos de IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 e CCL2/MCP-1, CCL5/RANTES, CXCL8/IL8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10. A análise quantitativa das citocinas e quimiocinas é realizada em função do deslocamento dos grupamentos de microesferas em gráficos de distribuição pontual de FL2 x FL3, obtidos pelo citômetro de fluxo e utilização de curvas-padrão para cada citocina e quimiocina avaliada. As análises foram realizadas com o auxílio do software específico para o CBA (BD CBA TM software). A figura 2 mostra a representação esquemática dos procedimentos necessários para dosagem das quimiocinas, empregando-se essa metodologia.



Representação esquemática da dosagem realizada pela técnica CBA

Figura 2 – Representação esquemática da técnica de CBA

Nota: Adaptado do bulário do Cytometric Bead Array Flex Set System BD – Biosciences, 2004-2005

Neste estudo, a metodologia de CBA foi adaptada dos protocolos originais propostos por CHEN e colaboradores (1999), como descrito a seguir:

Alíquotas de 25µL de soro diluído 1:5 com diluente G (reagente do kit CBA), alíquotas de 25µL dos padrões de citocinas e quimiocinas, submetidos à diluição seriada com diluente G (“Top Standardt” – 5000 pg/mL, 1:2 – 2500 pg/mL, 1:4 – 1250 pg/mL, 1:8 – 625 pg/mL, 1:16

– 312,5 pg/mL, 1:32 – 156 pg/mL, 1:64 – 80 pg/mL, 1:128 – 40 pg/mL e 1:256 – 20 pg/mL) e 25µL de diluente G apenas (Controle Negativo), foram transferidas para tubos de poliestireno de 5mL (Falcon – BD, E.U.A.). Posteriormente, a cada tubo foram adicionados 15µL da mistura de esferas de captura, conjugadas com anticorpos monoclonais anti-analitos de IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 e das quimiocinas CCL2/MCP-1, CCL5/RANTES, CXCL8/IL8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10 (CBA *Human Chemokine Kit II*, BD, E.U.A.), com subsequente incubação por 90 minutos, à temperatura ambiente, ao abrigo da luz. Após a incubação, as esferas de captura foram lavadas com 500µL da solução F (tampão de lavagem, reagente do kit CBA), centrifugadas a 600g, por 10 minutos a 18°C e o sobrenadante foi cuidadosamente aspirado e descartado. As esferas foram então reincubadas na presença de 20µL do reagente B, que corresponde a um coquetel de anticorpos monoclonais anticitocinas e anti-quimiocinas humanas, conjugados com o fluorocromo PE (FL-2) por 90 minutos, temperatura ambiente, ao abrigo da luz. Após incubação, as esferas de captura foram novamente lavadas com 500µL da solução F, centrifugadas a 600g, por 10 minutos a 18°C e o sobrenadante foi cuidadosamente aspirado e descartado. Após centrifugação, as esferas foram suspensas em 250µL de reagente F e imediatamente analisadas no citômetro de fluxo FACScan (Becton Dickinson, CA, E.U.A.).

Após as etapas de marcação, um total de 1.800 eventos/região (R1) foram obtidos com base em gráficos de tamanho versus granulidade. Para a análise dos dados, inicialmente, as microesferas conjugadas com anticorpos monoclonais de captura correspondentes a cada quimiocina foram segregadas em gráficos de distribuição pontual de FL-3 x FL-2, onde as cinco esferas com intensidades de fluorescência distintas ocuparam posições específicas ao



longo do eixo Y (FL-3). A análise do deslocamento das esferas ao longo do eixo X (FL-2) foi empregada como variável proporcional à concentração de cada quimiocina presente na amostra. Para a obtenção dos resultados da análise quantitativa de citocinas e quimiocinas séricas, curvas-padrão foram construídas, utilizando-se os dados dos padrões de citocinas e quimiocinas em concentrações conhecidas (20pg/mL – 5000pg/mL) fornecidas pelo fabricante do kit e empregada para determinar as concentrações de cada citocina e quimiocina nos soros testados. Um modelo de ajustamento através da curva do quarto parâmetro logístico, que permite o ajuste da melhor curva não linear para dados detectáveis, foi utilizado. Dessa forma, foi possível extrapolar valores de intensidades de fluorescência de amostras que não caíam dentro dos limites da curva padrão. Os resultados foram expressos em pg/mL (164).

#### 4.7.5. QUANTIFICAÇÃO DA CARGA PROVIRAL

Para a quantificação da carga proviral do HTLV-1 dos indivíduos soropositivos para HTLV-1, utilizou-se o seguinte protocolo: 5 µL de ácido desoxirribonucléico (DNA) obtidos foram utilizados numa reação no sistema SYBR *Green*, com volume final de 25 µL consistindo de *Platinum SYBR Green qPCR Super-Mix-UDG* (Invitrogen) e 500 nM dos iniciadores SK43 (5'-CGGATACCCAGTCTACGTGT-3') e SK44 (5'-GAGCCGATAACGCGTCCATCG-3'), que reconhecem sequências da região tax do HTLV-1 e 2. Os ciclos de temperatura da reação em cadeia da polimerase (PCR) foram realizados em aparelho *Applied Biosystems 7.300* e consistiram de uma fase inicial a 50<sup>0</sup>C por dois minutos e 95<sup>0</sup>C por cinco minutos seguida por 45 ciclos a 95<sup>0</sup>C por 30 segundos, 57<sup>0</sup>C por 30 segundos e 72<sup>0</sup>C por 45 segundos. Curva de *melting*

de 60<sup>0</sup>C a 95<sup>0</sup>C com aumento de 0,5<sup>0</sup>C a cada ciclo (total 80 ciclos) foi realizada para avaliação da especificidade do produto amplificado. As curvas-padrão para determinação do número de cópias provirais e do número de células foram obtidas a partir da diluição seriada de DNA de células MT2, uma linhagem celular produtora de partículas virais de HTLV-1, a qual possui cópia proviral completa integrada no genoma da célula, e sete outros provírus com sequências 19 defectivas (KOBAYASHI *et al.*, 1984) e de uma amostra soronegativa, respectivamente. O *input* do número de células em cada amostra foi avaliado por PCR usando-se 100 nM dos iniciadores para albumina (Alb-S: 5'-GCTGTCATCTCTTGTGGGCTGT-3' e Alb-AS: 5'-AAACTCATGGGAGCTGCTGGTT-3'). Cada amostra foi testada em duplicata.

#### 4.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Armazenaram-se as informações obtidas conforme questionário preenchido (Apêndice 1) em banco de dados computadorizado utilizando o *software* EpiData 3.1 [Lauristen JM. (editor) EpiData Entry, Data Management and Basic Statistical Analysis System. Odense Denmark, EpiData Association, versão 28/01/2008 (Disponível em: [HTTP://www.epidata.dk](http://www.epidata.dk))]. Realizaram-se as análises estatísticas através do *Software Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) 12.0 *for windows* - SPSS *Incorporation*, Chicago, Illinois, Estados Unidos da América, 2008 (Disponível no Laboratório de Bioestatística do Centro de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da UFMG). Para a realização dos gráficos e complementação da análise estatística, utilizou-se o software GraphPad Prism 3-0.3 (San Diego, CA, USA - Disponível no Laboratório de Biomarcadores, Centro de Pesquisas René Rachou/FIOCRUZ).

Para as variáveis categóricas, foram feitas tabelas de distribuição de frequência e realizados testes de qui-quadrado de Pearson e exato de Fischer. Para as variáveis contínuas foram utilizadas medidas de tendência central e variabilidade. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi aplicado para a avaliação da normalidade dos dados. Grande parte das variáveis revelou-se de distribuição não normal, utilizando-se os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e o pós-teste de comparação múltipla de Dunn para avaliar a diferença inter grupos, exceto na comparação da idade onde foi utilizado o teste de ANOVA. As correlações entre variáveis foram avaliadas pelo teste de Spearman. Utilizou-se o teste de Mann-Whitney para a comparação das variáveis contínuas entre dois grupos: contagem de células T-CD4<sup>+</sup>, carga viral e carga proviral.

Realizou-se a análise de valores extremos para as variáveis contínuas (dosagens de citocinas e quimiocinas), retirando-se os valores discrepantes acima de 4x o desvio padrão.

Para a análise de múltiplas comparações das variáveis categóricas, foram realizadas as comparações 2 a 2 com o teste de Fisher com correção de Bonferroni. Para a correção de Bonferroni, considerou-se o nível de significância de 5% pela raiz quadrada do número de comparáveis.

Todos os resultados foram considerados estatisticamente significativos no nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

#### 4.9. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

As pessoas atendidas no Ambulatório de Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Federal de Minas Gerais e no Posto de Atendimento Médico da Sagrada Família da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte que preencheram os critérios de inclusão foram convidadas a participar deste estudo. Explicaram-se aos pacientes os objetivos, metodologia simplificada, riscos e benefícios da participação, de acordo com a Resolução No. 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. O pesquisador leu o termo de consentimento (Anexo 3), esclareceu as dúvidas e, em seguida, forneceu cópia do mesmo aos pacientes, constando meios de comunicação para quaisquer esclarecimentos adicionais. Foram informados que os dados provenientes do estudo seriam apresentados à comunidade científica, entretanto, sem identificação dos pacientes. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG conforme parecer ETIC no. 279/08 (Anexo 1) e da Secretaria de Saúde da Prefeitura Municipal Belo Horizonte parecer 068/2008 (Anexo 2).

#### 4.10. DADOS BIBLIOGRÁFICOS

Realizou-se o levantamento bibliográfico na base de dados U. S. National Library of Medicine pelo cruzamento de palavras-chave. Os termos pesquisados foram: HTLV-1, HIV-1, *cytokines*, *chemokines*, *myelitis*, *tropical spastic paraparesis*. As referências relevantes citadas nos artigos foram recuperadas. Foram incluídas as publicações nos idiomas português, espanhol e inglês.



## 5. RESULTADOS

### 5.1. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS E CLÍNICAS DOS INDIVÍDUOS

A prevalência de coinfeção pelo vírus HTLV-1 entre 1.080 pacientes mono infectados pelo vírus HIV-1 atendidos nas unidades de tratamento de doenças infectoparasitárias, Ambulatório Orestes Diniz e no Posto de Atendimento Médico - Sagrada Família em Belo Horizonte-MG, no período de janeiro a setembro de 2009 foi de 2,6%.

Observou-se diferença significativa entre os grupos doador de sangue e indivíduos infectados pelo HTLV-1 com relação à idade, sendo aqueles mais jovens em média. Não houve diferença com relação ao sexo entre os grupos (Tabela 1).

Tabela 1. Características epidemiológicas de pacientes dos grupos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1 atendidos no Ambulatório Orestes Diniz e no Posto de Atendimento Médico - Sagrada Família em Belo Horizonte-MG no período de janeiro a setembro de 2009.

		Doador de sangue		HTLV-1		HIV-1		HIV-1/HTLV-1		Total		Valor p
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
<b>SEXO</b>	Masculino	11	55,0	18	32,1	26	53,1	8	50,0	63	44,7	0,112 (a)
	Feminino	9	45,0	38	67,9	23	46,9	8	50,0	78	55,3	
	Total	20		56		49		16		141		
<b>IDADE</b>	Média		41,85		50,68		45,96		46,13		47,27	<b>0,020</b> (b)
	Desvio											
	Padrão		10,54		11,62		10,07		10,76		11,18	

(a) Realizado teste qui-quadrado para diferença entre as proporções com correção de Bonferroni.

(b) Realizado teste ANOVA, encontrada diferença significativa entre o grupo doador de sangue e HTLV-1.

Tabela 2. Comparação dos possíveis fatores de exposição para infecção pelos vírus HIV-1 e HTLV-1 entre os grupos HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1 atendidos no Ambulatório Orestes Diniz e no Posto de Atendimento Médico - Sagrada Família em Belo Horizonte-MG no período de janeiro a setembro de 2009

Exposição	Doador de sangue (%)	HTLV-1 (%)	HIV-1 (%)	HIV-1/HTLV-1 (%)	Total (%)*	Valor-p**
Transfusão sanguínea						
Sim	0 (0)	10 (18,5)	15 (31,2)	4 (25,0)	29 (21,5)	0.032
Não	17 (100)	44 (81,5)	33 (68,8)	12 (75,0)	106 (78,5)	
Uso de drogas injetáveis						
Sim	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (2,0)	4 (25,0)	5 (3,5)	<b>0.042</b>
Não	20 (100,0)	56 (100,0)	48 (98,0)	12 (75,0)	136 (96,5)	
História de amamentação						
Sim	11 (61,1)	35 (66,0)	20 (55,6)	10 (100,0)	76 (65,0)	0.051
Não	7(38,9)	18 (34,0)	16 (44,4)	0 (0,0)	41 (35,0)	
Tatuagem						
Sim	2 (10,0)	6 (10,7)	3 (6,1)	4 (25,0)	15 (10,6)	0.217
Não	18 (90,0)	50 (89,3)	46 (93,9)	12 (75,0)	126 (89,4)	
Detenção						
Sim	0 (0,0)	1 (1,8)	6 (12,2)	5 (31,2)	12 (8,5)	<b>0.001</b>
Não	20 (100,0)	55 (98,2)	43 (87,8)	11 (87,8)	129 (91,5)	
Contato material contaminado						
Sim	2 (10,0)	4 (7,1)	3 (6,1)	4 (25,0)	13 (9,2)	0.139
Não	18 (90,0)	52 (92,9)	46 (93,9)	12 (75,0)	128 (90,8)	
Atividade sexual						
Heterossexual	18 (94,7)	44 (80,0)	32 (66,7)	13 (81,2)	107 (77,5)	0.081
Bi ou homossexual	1 (5,3)	11 (20,0)	16 (33,3)	3 (18,8)	31 (22,5)	

\* Totais variam devido a perdas de informação. \*\* Utilizado teste exato de Fisher.

Tabela 3. Resultados de significância (valor-p) da comparação múltipla (teste qui-quadrado com correção de Bonferroni\*) para a os fatores de exposição para infecção pelos vírus HIV-1 e HTLV-1 entre os grupos HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1

Exposição	Doador de sangue x HTLV-1	Doador de sangue x HIV-1	Doador de sangue x HIV-1 / HTLV-1	HTLV-1 x HIV-1	HTLV-1 x HIV-1 / HTLV-1	HIV-1 x HIV-1 / HTLV-1
Transfusão	0,104	<b>0,007</b>	0,044	0,169	0,723	0,758
Drogas injetáveis	1,000	0,999	0,429	0,999	0,167	0,036
Amamentação	0,778	0,776	0,030	0,377	0,050	<b>0,009</b>
Detenção	0,999	0,171	<b>0,012</b>	0,048	<b>0,002</b>	0,121

Correção de Bonferroni p <0,02.

O grupo coinfestado apresentou associação com com história de amamentação em relação ao grupo HTLV-1; e com história de detenção em relação aos grupos doador de sangue e HTLV-1.

O grupo HIV-1 apresentou associação com a história de transfusão sanguínea em relação ao grupo doador de sangue.



Tabela 4. Comparação dos sintomas apresentados entre os pacientes dos grupos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1.

Manifestação clínica	Doador de sangue (%)			HIV-1/ HTLV-1 (%)		Total (%) <sup>##</sup>	Valor-p <sup>#</sup>
Segmento acometido		HTLV-1 (%)	HIV-1 (%)				
Cefálica							
Sim	7 (35,0)	29 (51,8)	15 (30,6)	3 (18,8)	54 (38,3)		
Não	13 (65,0)	27 (48,2)	34 (69,4)	13 (81,2)	87 (61,7)		<b>0,041</b>
Ocular							
Sim	6 (30,0)	39 (69,6)*	15 (30,6)	6 (37,5)	66 (46,8)		
Não	14 (70,0)	17 (30,4)	34 (69,4)	10 (62,5)	75 (53,2)		<b>0,001</b>
Auditiva							
Sim	4 (20,0)	36 (64,3)*	17 (34,7)	3 (18,8)	60 (42,6)		
Não	16 (80,0)	20 (35,7)	32 (65,3)	13 (81,2)	81 (57,4)		<b>0,001</b>
Intestinal							
Sim	6 (30,0)	27 (48,2)	18 (36,7)	6 (37,5)	57 (40,4)		
Não	14 (70,0)	29 (51,8)	31 (63,3)	10 (62,5)	84 (59,6)		0,449
Urinária							
Sim	1 (5,0)	16 (28,6)	2 (4,1)**	5 (31,2)	24 (17,0)		
Não	19 (95,0)	40 (71,4)	47 (95,9)	11 (68,8)	117 (83,0)		<b>0,001</b>
Aparelho genital masculino							
Sim	3 (37,5)	14 (37,8)	5 (23,8)	1 (12,5)	23 (31,1)		
Não	5 (62,5)	23 (62,2)	16 (76,2)	7 (87,5)	51 (68,9)		0,432
Aparelho genital feminino							
Sim	0 (0,0)	3 (15,8)	2 (7,1)	2 (25,0)	7 (10,6)		
Não	11 (100,0)	16 (84,2)	26 (92,9)	6 (75,0)	59 (89,4)		0,267
Alterações no corpo							
Sim	6 (30,0)	24 (42,9)	16 (33,3)	4 (25,0)	50 (35,7)		
Não	14 (70,0)	32 (57,1)*	32 (66,7)	12 (75,0)	90 (64,3)		0,485
Alterações sensitivas nos braços e mãos							
Sim	5 (25,0)	32 (57,1)*	13 (26,5)	4 (25,0)	54 (38,3)		
Não	15 (75,0)	24 (42,9)	36 (73,5)	12 (75,0)	87 (61,7)		<b>0,003</b>
Alterações sensitivas no dorso e membros inferiores							
Sim	8 (40,0)	35 (62,5)*	15 (30,6)	9 (56,2)	67 (47,5)		
Não	12 (60,0)	21 (37,5)	34 (69,4)	7 (43,8)	74 (52,5)		<b>0,009</b>
Dificuldade para andar							
Sim	2 (10,0)	15 (26,8)	5 (10,2)	6 (37,5)***	28 (19,9)		
Não	18 (90,0)	41 (73,2)	44 (89,8)	10 (62,5)	113 (80,1)		<b>0,031</b>
Dificuldade para correr							
Sim	2 (10,0)	16 (28,6)	8 (16,3)	7 (43,8)***	33 (23,4)		
Não	18 (90,0)	40 (71,4)	41 (83,7)	9 (56,2)	108 (76,6)		<b>0,048</b>
Dificuldade para subir escada							
Sim	2 (10,0)	17 (30,4)	4 (8,2)**	6 (37,5)	29 (20,6)		
Não	18 (90,0)	39 (69,6)	45 (91,8)	10 (62,5)	112 (79,4)		<b>0,007</b>

<sup>#</sup>Utilizado teste de qui-quadrado <sup>##</sup>Totais variam devido a perdas de informação. \* Diferença devido ao HTLV-1 após partição do X<sup>2</sup>. \*\* Diferença devido ao HIV-1. \*\*\* Diferença devido ao HIV-1/HTLV-1.

Tabela 5. Resultados de significância (valor-p) da comparação múltipla (teste estatístico Dunnett T3) para os sintomas apresentados entre os pacientes dos grupos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1.

Exposição	Doador de sangue x HTLV-1	Doador de sangue x HIV-1	Doador de sangue x HIV-1 / HTLV-1	HTLV-1 x HIV-1	HTLV-1 x HIV-1 / HTLV-1	HIV-1 x HIV-1 / HTLV-1
Cefálica	0,535	0,986	0,742	0,112	0,075	0,825
Ocular	<b>0,008</b>	1,000	0,964	<b>0,000</b>	0,079	0,957
Auditiva	<b>0,002</b>	0,633	1,000	<b>0,008</b>	<b>0,004</b>	0,633
Urinária	0,062	1,000	0,135	<b>0,004</b>	0,994	<b>0,047</b>
Alterações sensitivas nos braços e mãos	<b>0,046</b>	0,999	1,000	<b>0,006</b>	0,078	0,999
Alterações sensitivas no dorso e membros inferiores	0,288	0,885	0,751	<b>0,006</b>	0,969	0,262
Dificuldade para andar	0,323	0,940	0,080	0,440	0,575	0,107
Dificuldade para correr	0,210	1,000	0,174	0,053	0,922	0,087
Dificuldade para subir escada	0,196	0,998	0,161	<b>0,023</b>	0,918	<b>0,050</b>

No grupo coinfestado observa-se diferença significativa nos sintomas auditivo (zumbido) em relação ao grupo HTLV-1; e urinário (dificuldade e perda urinária) e dificuldade para subir escadas em relação ao grupo HIV-1.

No grupo HTLV-1 observa-se diferença significativa nos sintomas oculares (baixa acuidade visual), auditivo (zumbido), alterações sensitivas nos braços e mãos, alterações sensitivas no dorso e membros inferiores e dificuldade para subir escadas em relação ao grupo HIV-1. Em relação ao grupo doador de sangue, o grupo HTLV-1 apresenta mais queixas oculares, auditivas e alterações sensitivas nos braços e mãos.

Tabela 6. Comparação das alterações ao exame neurológico entre os grupos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1.

Alterações Neurológicas	Doador de				Total (%)*	Valor p
	sangue (%)	HTLV-1 (%)	HIV (%)	HIV-1/HTLV-1 (%)		
Nervos cranianos						
Sim	1 (5,0)	2 (3,6)	4 (8,2)	4 (25,0)	11 (7,8)	0,06
Não	19 (95,0)	54 (96,4)	45 (91,8)	12 (75,0)	130 (92,2)	
Hipo ou hiperestesia						
Sim	2 (10,0)	16 (28,6)	6 (12,2)	5 (31,3)	29 (20,6)	0,08
Não	18 (90,0)	40 (71,4)	43 (87,8)	11 (68,8)	112 (79,4)	
Sinal de Babinski						
Sim	0 (0,0)	2 (3,6)	0 (0,0)	2 (12,5)	4 (2,8)	0,19
Não	20 (100,0)	54 (96,4)	47(100,0)	13 (81,2)	133 (94,3)	
Hiper ou hiporreflexia						
Sim	9 (45,0)	32 (57,1)	27 (55,1)	13 (81,3)	81 (57,4)	0,17
Não	11 (55,0)	24 (42,9)	22 (44,9)	3 (18,8)	60 (42,6)	
Paresia						
Sim	0 (0,0)	11 (19,6)	6 (12,2)	4 (25,0)	21 (14,9)	0,08
Não	20,0 (100,0)	45 (80,4)	43 (87,8)	12 (75,0)	120 (85,1)	
Atrofia muscular						
Sim	0 (0,0)	6 (10,7)	5 (10,2)	1 (6,3)	12 (8,5)	0,59
Não	20 (100,0)	50 (89,3)	44 (89,8)	15 (93,8)	129 (91,5)	
Alteração da marcha						
Sim	0 (0,0)	5 (8,9)	7 (14,3)	4 (25,0)	16 (11,3)	0,09
Não	20 (100,0)	51 (91,2)	42 (85,7)	12 (75,0)	125 (88,7)	
Incoordenação motora						
Sim	0 (0,0)	4 (7,1)	5 (10,2)	0 (0,0)	9 (6,4)	0,40
Não	20,0 (100,0)	52 (92,9)	44 (89,8)	16 (100,0)	132 (93,6)	
Tremor						
Sim	4 (20,0)	8 (14,3)	4 (8,1)	1 (6,2)	17 (12,0)	0,50
Não	16 (80,0)	48 (85,7)	45 (91,8)	15 (93,8)	124 (88,0)	
Sinal de Romberg						
Sim	3 (15,0)	19 (33,9)	6 (12,2)	7 (43,8)	35 (24,8)	<b>0,01</b>
Não	17 (85,0)	37 (66,1)	43 (87,8)	9 (56,2)	106 (75,2)	

\*\* Totais variam devido a perdas de informação

(a) utilizado o teste de Fisher. Demais valores utilizado teste de qui-quadrado.

Tabela 7. Resultados de significância (valor-p) da comparação múltipla (teste estatístico Dunnett T3) para as alterações ao exame neurológico entre os grupos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1.

<b>Alterações Neurológicas</b>	<b>Doador sangue x HTLV-1</b>	<b>Doador sangue x HIV-1</b>	<b>Doador sangue x HIV-1 / HTLV-1</b>	<b>HTLV-1 x HIV-1</b>	<b>HTLV-1 x HIV-1 / HTLV-1</b>	<b>HIV-1 x HIV-1 / HTLV-1</b>
Sinal de Romberg	0,290	0,995	0,181	<b>0,040</b>	0,869	<b>0,050</b>

O grupo coinfestado apresenta diferença significativa ao exame neurológico quanto à presença do sinal de Romberg (comprometimento das vias proprioceptivas na coluna posterior da medula espinhal ou nervos periféricos) em relação ao grupo HIV-1.

O grupo HTLV-1 também se diferencia do grupo HIV-1 quanto ao sinal de Romberg.

Tabela 8. Prevalência de mielopatia entre os grupos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1

Presença de mielopatia	Doador de sangue (%)	HTLV-1 (%)	HIV (%)	HIV-1/HTLV-1 (%)	Total (%)*
Sim	0 (0,0)	11 (19,6)	0 (0,0)	4 (25,0)	
Não	20 (100,0)	45 (80,4)	49 (100,0)	12 (75,0)	0,001
Total	20 (100,0)	56 (100,0)	49 (100,0)	16 (100,0)	

Tabela 9. Resultados de significância (valor-p) da comparação múltipla (teste estatístico Dunnett T3) para a ocorrência de mielopatia entre os grupos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1.

Presença de mielopatia	Doador de sangue x HTLV-1	Doador de sangue x HIV-1	Doador de sangue x HIV-1 / HTLV-1	HTLV-1 x HIV-1	HTLV-1 x HIV-1 / HTLV-1	HIV-1 x HIV-1 / HTLV-1
Valor-p	0,055	1,000	0,059	<b>0,005</b>	0,918	<b>0,019</b>

O grupo coinfestado apresenta diferença significativa quanto a ocorrência de mielopatia quando comparado ao grupo HIV-1.

O grupo infectado pelo HTLV-1 apresentou diferença quanto a ocorrência de mielopatia quando comparado ao HIV-1.

A prevalência de mielopatia no grupo coinfestado pelos vírus HIV-1/HTLV-1 foi de 25% e nos monoinfectados pelo HTLV-1 de 19,6%.

## 5.2 CARACTERÍSTICAS LABORATORIAIS DOS INDIVÍDUOS

Tabela 10. Comparação da presença de anemia e positividade em sorologias para os vírus da hepatite B e hepatite C e para sífilis entre os grupos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1.

Doenças	Doador de					Valor p
	sangue (%)	HTLV-1 (%)	HIV-1 (%)	HIV-1/HTLV-1 (%)	Total (%)*	
<b>Anemia</b>						
Sim	0 (0,0)	3 (5,9)	6 (12,2)	3 (18,8)	12 (9,0)	0,190
Não	19 (100,0)	48 (94,1)	43 (87,8)	13 (81,2)	121 (91,0)	
<b>Anti-HCV</b>						
Sim	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (10,8)	5 (35,7)	9 (7,6)	<b>0,000</b>
Não	17 (100,0)	51 (100,0)	33 (89,2)	9 (64,3)	110 (92,4)	
<b>HBsAg</b>						
Sim	0 (0,0)	0 (0,0)	5 (15,2)	0 (0,0)	5 (4,3)	<b>0,004</b>
Não	17 (100,0)	51 (100,0)	28 (84,8)	15 (100,0)	111 (95,7)	
<b>VDRL</b>						
Sim	0 (0,0)	1 (2,0)	5 (19,2)	1 (7,1)	7 (6,5)	<b>0,020</b>
Não	17 (100,0)	50 (98,0)	21 (80,8)	13 (92,9)	101 (93,5)	

Anemia = hemoglobina abaixo de 12,0 para mulheres e 13,0 para homens;

HBsAg = antígeno de superfície do vírus da hepatite B, anti-HCV= anticorpo para vírus da hepatite C;

VDRL = *Veneral Disease Research Laboratories* - sorologia para sífilis.

Tabela 11. Resultados de significância (valor-p) da comparação múltipla (teste estatístico Dunnet T3) para comparação da presença de anemia e positividade em sorologias para os vírus da hepatite B e hepatite C e para sífilis entre os grupos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1.

Doenças	Sadio x HTLV-1	Sadio x HIV-1	Sadio x HIV-1 / HTLV-1	HTLV-1 x HIV-1	HTLV-1 x HIV-1 / HTLV-1	HIV-1 x HIV-1 / HTLV-1
Anti-HCV	1,000	0,429	<b>0,000</b>	0,172	<b>0,000</b>	<b>0,008</b>
HBsAg	1,000	<b>0,050</b>	1,000	<b>0,004</b>	1,000	0,065
VDRL	0,991	0,054	0,841	0,426	0,890	0,426

Os pacientes coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 apresentaram mais freqüentemente sorologia positiva para o vírus da hepatite C relação aos grupos doador de sangue, HIV-1 e HTLV-1.

Os pacientes monoinfectados pelo vírus HIV-1 tiveram mais a ocorrência de sorologia positiva para hepatite B, quando comparados aos grupos doador de sangue e HTLV-1.

Tabela 12. Comparação da contagem de célula T CD4<sup>+</sup>, carga proviral, carga viral entre os grupos HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1

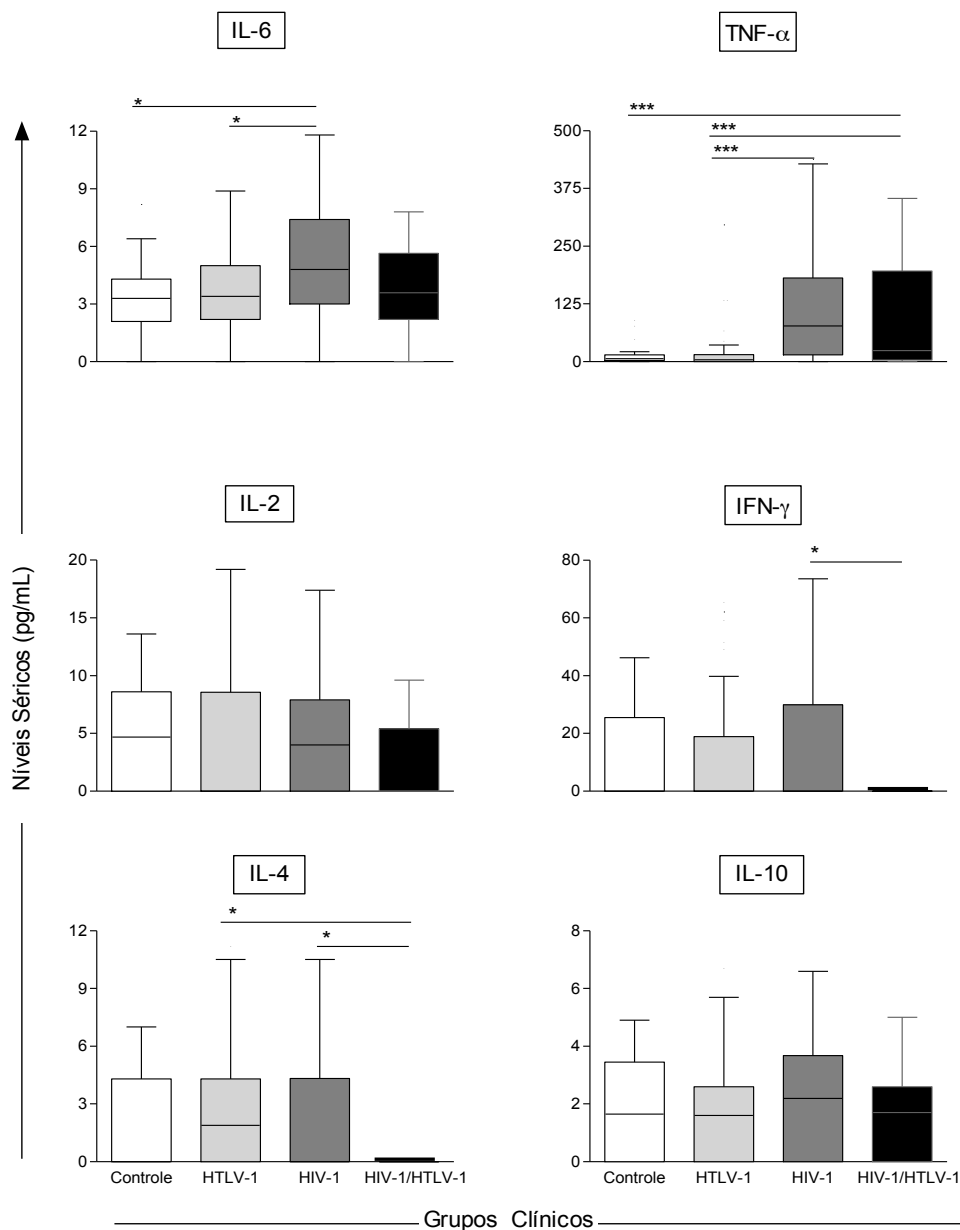
	<b>HTLV-1</b> N= 56	<b>HIV-1</b> N=49	<b>HIV-1/HTLV-1</b> N= 16	<b>Valor p *</b>
<b>CD4<sup>+</sup></b>				
Mediana (células/mm <sup>3</sup> )	-	397	<b>554</b>	<b>0,014</b>
Percentil 25-75%	-	245-503	431-791	
<b>Carga proviral HTLV-1</b>				
Mediana (cópias/mL)	80	-	58	0,908
Percentil 25-75%	7-207	-	7-152	
<b>Carga viral HIV-1</b>				
Mediana (cópias/mL)	-	0	554	0,606
Percentil 25-75%		0-5074	431-791	

\* Utilizado teste de Mann-Whitney.

Observou-se contagem de células T-CD4<sup>+</sup> significativamente mais elevada no grupo de pacientes coinfectados, quando comparados ao grupo de monoinfectado pelo vírus HIV-1.

Não houve diferença entre os grupos quanto à carga viral e à carga proviral.



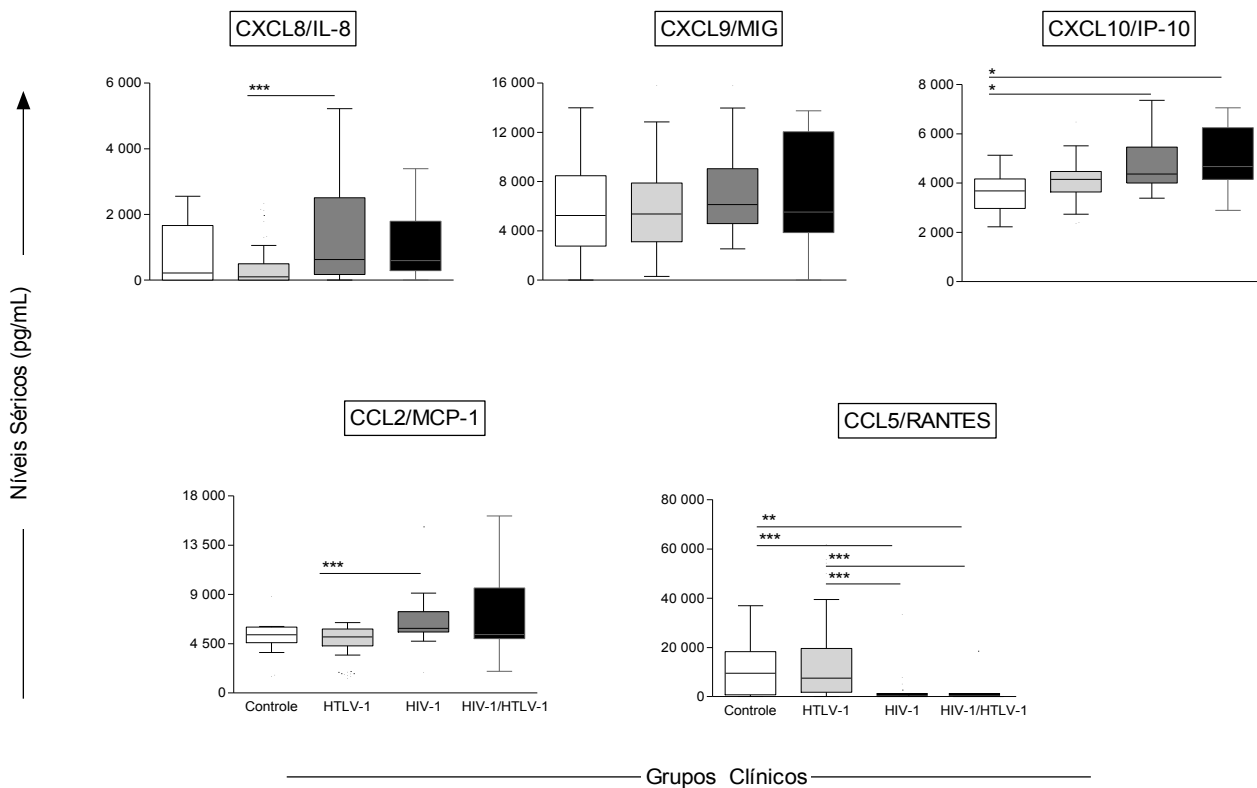


Teste de Kruskal-Wallis seguido do pós teste de comparação múltipla de Dunn; gráfico expressa os valores de mediana e interquartil (25-75%). \*  $p < 0,05$ .

Figura 3. Comparação dos níveis séricos das citocinas IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-10 entre os grupos de indivíduos controle doador de sangue, monoinfectados pelo HTLV-1, monoinfectados pelo HIV-1 e coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1.

O grupo coinfectado apresentou níveis séricos de TNF- $\alpha$  mais elevados em relação aos monoinfectados pelo HTLV-1 e doador de sangue; os níveis de IFN- $\gamma$  mais baixos em relação ao grupo monoinfectado pelo HIV-1; e os níveis de IL-4 mais baixos comparados aos grupos HIV-1 e HTLV-1.

O grupo HIV-1 apresentou níveis séricos de IL-6 mais elevados em relação aos grupos HTLV-1 e doador de sangue; e níveis de TNF- $\alpha$  mais elevados do que o grupo HTLV-1.



Teste de Kruskal-Wallis seguido do pós teste de comparação múltipla de Dunn; gráfico expressa os valores de mediana e interquartil (25-75%).\*  $p < 0,05$ .

Figura 4. Comparação dos níveis de quimiocinas séricas CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CCL2/MCP-1 e CCL5/RANTES entre os grupos de indivíduos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1.

O grupo coinfestado apresentou níveis séricos de CXCL10/IP-10 mais elevados do que o grupo doador de sangue; e os níveis de CCL5/RANTES mais baixos em relação aos grupos doador de sangue e HTLV-1.

O grupo HIV-1 apresentou níveis séricos de CXCL8/IL8 e CCL2/MCP-1 mais elevados do que o grupo HTLV-1, e os níveis de CCL5/RANTES mais baixos em relação aos grupos doador de sangue e HTLV-1.



Na análise de correlação entre as citocinas e quimiocinas verifica-se no grupo coinfestado correlação negativa forte entre IL-2 e CXCL8/IL-8 ( $r=-0,91$ ) e CCL5/RANTES ( $r=-0,87$ ) e moderada entre IL-2 e CXCL9/MIG ( $r=-0,64$ ), CXCL10/IP-10 ( $r=-0,60$ ), CCL2/MCP-1 ( $r=-0,61$ ); e também correlação negativa moderada de IL-6 com CXCL9/MIG ( $r=-0,60$ ) e CXCL10/IP-10 ( $r=-0,61$ ).

Houve ainda no grupo coinfestado uma correlação negativa moderada de CCL5/RANTES e células T-CD4<sup>+</sup> ( $r=-0,67$ ) e correlação positiva moderada entre IL-10 e carga proviral ( $r=0,55$ ).

No grupo HTLV-1 houve correlação positiva fraca entre IFN- $\gamma$  e CXCL9/MIG ( $r=0,26$ ) e CXCL10/IP-10 ( $r=0,32$ ); e negativa fraca entre IL-2 e CCL5/RANTES ( $r=-0,27$ ). Também houve correlação fraca entre CCL5/RANTES e carga proviral ( $r=0,27$ ).

No grupo HIV-1 houve correlação negativa fraca entre IL-6 e CXCL8/IL-8 ( $r=-0,33$ ) e CXCL10/IP-10 ( $r=-0,30$ ) e correlação positiva moderada entre IL-4 e carga viral ( $r=0,41$ ).

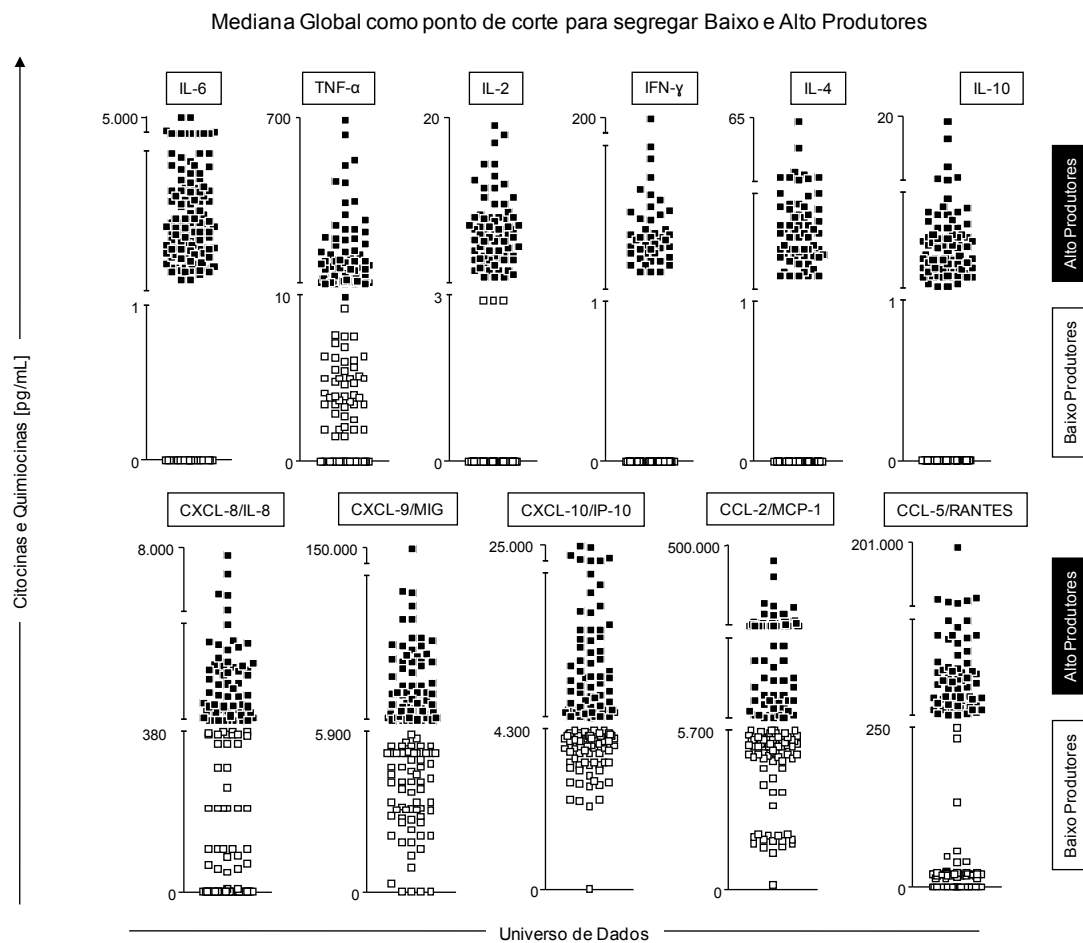


Figura 6. Pontos de corte de citocinas e quimiocinas para baixo e alto produtores a partir da mediana global.

Considerou-se altos produtores os indivíduos que apresentavam níveis séricos acima da mediana global.

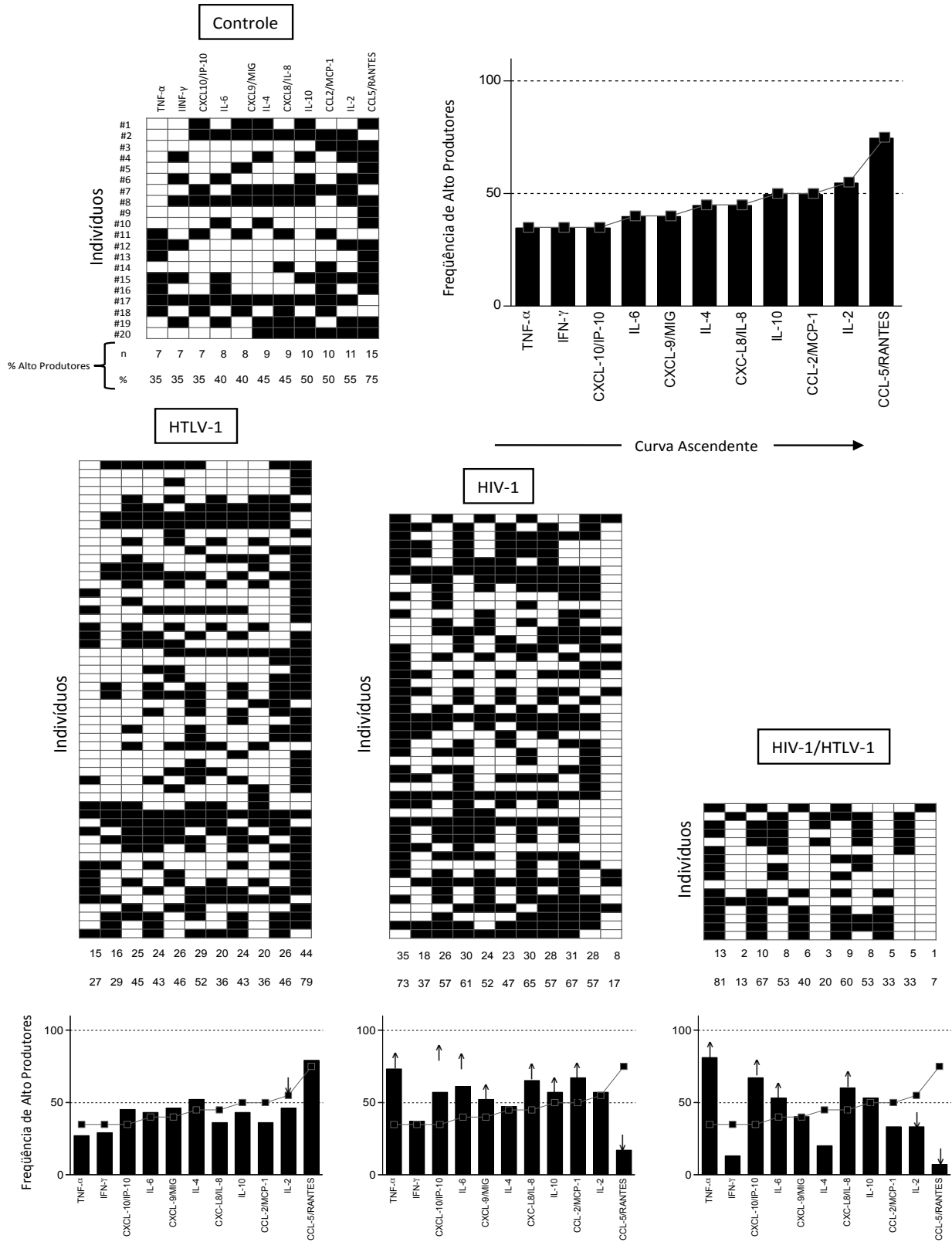


Figura 7. Assinatura de altos produtores de citocinas e quimiocinas nos controle doador de sangue, HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1.



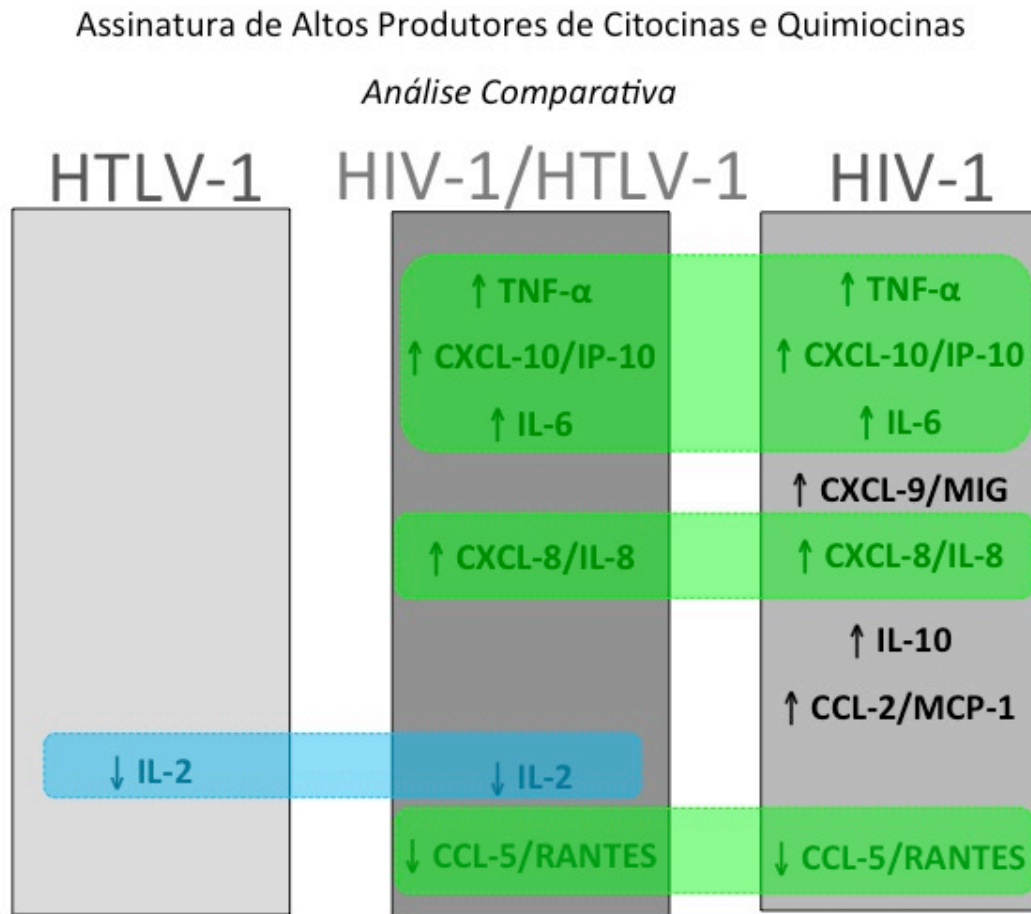


Figura 8. Análise comparativa da assinatura de altos produtores de citocinas e quimiocinas entre os grupos HTLV-1, HIV-1 e HIV-1/HTLV-1.

Considerando a mediana global dos níveis séricos de citocinas e quimiocinas, tendo como referência o grupo doador de sangue sadio, verifica-se semelhança do grupo coinfectado pelos vírus HIV-1/HTLV-1 ao grupo HTLV-1, quanto à frequência de altos produtores, por apresentarem baixos níveis de IL-2; e com o grupo HIV-1 quanto ao aumento de TNF- $\alpha$ , CXCL10/IP-10, IL-6, CXCL8/IL8 e queda de CCL5/RANTES.

Tabela 13. Características epidemiológicas, clínicas, laboratoriais e fatores de exposição ao vírus HIV-1 e HTLV-1 nos pacientes coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1

o.	Sexo	Idade	História de Amamentação	Uso de Drogas Injetáveis	CD4 <sup>ts</sup>	Carga Viral HIV <sup>#</sup>	Carga Proviral HTLV <sup>#</sup>	Sorologia HCV	Uso de HAART	Manifestações Neurológicas
1	F	41	+	-	397	656	311	-	-	HAM/TSP - paraparesia, disfunção vesical*
2	F	53	+	+	633	0	152	NR	+	Hipoestesia
3	M	50	+	-	923	0	40	-	+	HAM/TSP - paraparesia, hiperreflexia, hipoestesia MMII, disfunção vesical*
4	M	47	NI	-	987	4586	303	-	+	Assintomático
5	M	62	NI	-	492	0	NR	-	+	Assintomático
3	M	44	+	+	580	0	0	-	+	hipoestesia de MMII
7	F	63	+	-	631	0	861	+	+	Assintomático
3	M	51	NI	-	602	16888	47	NR	+	Tetrahiperreflexia
9	F	61	+	-	921	0	40	-	+	hipoestesia de MMII, constipação
10	M	29	+	+	470	3958	0	+	-	Assintomático
11	F	28	+	-	479	660	0	+	-	Assintomático
12	M	42	NI	-	418	48199	106	-	-	Assintomático
13	M	41	NI	-	86	56	81	-	+	HAM/TSP – disfunção vesical, hiperreflexia e hipoestesia de MMII*
14	F	41	+	-	527	0	7	-	+	Assintomático
15	F	34	NI	+	92	634	10	+	+	Assintomático
16	F	51	+	-	844	0	18	+	+	HAM/TSP - tetrahiperreflexia, hipoestesia de MMII*

HAM/TSP = mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical possível; <sup>#</sup> em cópias/mL; <sup>§</sup> células/mm<sup>3</sup>; M= masculino F= feminino A= assintomático  
 NR= não realizado +=presente -= ausente NI= não informa MMII= membros inferiores HAART=Highly Active Antiretroviral Therapy

Não houve diferença estatística quando analisamos indivíduos do grupo coinfectado com e sem mielopatia quanto à carga viral ( $p=0,886$ ), carga proviral ( $p=0,277$ ), uso de terapia antiretroviral HAART ( $p=0,607$ ).



## **6. DISCUSSÃO**

### **6.1. Comparação das características epidemiológicas, clínicas e manifestações neurológicas dos indivíduos dos grupos controle doador de sangue, monoinfectados pelo vírus HTLV-1, monoinfectados pelo vírus HIV-1 e coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1:**

A prevalência de coinfeção pelo HTLV-1 entre os portadores do vírus HIV-1 foi de 2,6% e semelhante aos diferentes estudos que identificaram pacientes coinfectados a partir de uma população de indivíduos monoinfectados pelo vírus HIV-1, variando de 0,8 a 8,9% (1, 16, 59-63). Apenas um estudo realizado por BRITES et al. (1997) no estado da Bahia (nordeste do Brasil), que verificou prevalência de 16,3% de coinfeção (8). Contudo vale ressaltar que a maioria dos estudos que partem de casuísticas de pacientes monoinfectados pelo HTLV-1/2 identificam uma prevalência mais elevada de coinfeção (12,8-18,0%), provavelmente relacionada a um viés de seleção de acordo com as características do centro clínico (Casseb et al., 2008; Casseb et al., 2007).

Indivíduos coinfectados apresentam como fatores de exposição a infecção pelos vírus HIV-1/HTLV-1 o uso de drogas injetáveis ilícitas e história de detenção. Alguns estudos também identificaram o uso de drogas injetáveis como importante fator de risco para a coinfeção (2, 7, 8, 64, 165). GUIMARÃES e colaboradores (2001) encontraram prevalência de 5,8% de coinfeção pelos vírus HIV-1/HTLV-1 entre 171 usuários de drogas injetáveis (4). Em nosso estudo, os indivíduos monoinfectados pelo HTLV-1 e doador de sangue foram pré-selecionados para a doação de sangue o que pode ter favorecido a diferença entre os grupos.

Em relação ao gênero, não encontramos aumento da prevalência de coinfeção entre mulheres quando comparados aos indivíduos monoinfectados, tal como observado em alguns estudos, provavelmente relacionado ao efeito cumulativo dos fatores de risco (8, 62). Acredita-se que a transmissão sexual do vírus HTLV-1 do homem para a mulher seja mais eficiente, aumentando a prevalência de infecção no sexo feminino (166).

A ocorrência de mielopatia tipo HAM/TSP observada em 25% dos nossos pacientes coinfectados, nos indica que a associação dos dois vírus pode aumentar o risco de ocorrência da mielopatia, embora não tenha percebido diferença estatística quando comparada ao grupo de indivíduos monoinfectados pelo HTLV-1, dados contrários aos observados por outros autores (1, 59). A HAM/TSP acomete de 0,25 a 4% dos pacientes quando estão monoinfectados pelo vírus HTLV-1 (34, 35), mas em nossa amostra observamos mielopatia em 19,6% dos indivíduos, o que atribuímos ao viés de seleção, pois nossos indivíduos são acompanhados em uma coorte onde consultavam regularmente e provavelmente apresentavam mais sintomas clínicos.

Do ponto de vista clínico os indivíduos coinfectados apresentam maior ocorrência de sintomas auditivos (zumbido) se assemelhando aos monoinfectados pelo HTLV-1. A maioria dos estudos de coinfeção aborda apenas os aspectos clínicos relacionados à HAM/TSP. Nosso estudo utilizou entrevista padronizada abordando diversos aspectos clínicos e principalmente neurológicos (Apêndice 2). Embora tenhamos observado a presença de queixas inespecíficas, tal semelhança com indivíduos monoinfectados pelo HTLV-1 não havia sido descrita, exceto

quanto ao aumento da frequência de mielopatia. A HAM/TSP é uma desordem de início insidioso, o que dificulta a identificação de sintomas inespecíficos precedentes. Os pacientes iniciam com dor lombar baixa, fraqueza de membros inferiores e hiperreflexia, alterações variáveis da sensibilidade superficial e profunda, interferência na função intestinal e urinária, além de ataxia que ocorre menos frequentemente (75).

Os indivíduos coinfectados apresentam mais sintomas de disfunção esfinteriana (dificuldade e perda urinária) e dificuldade para subir escadas que podem estar associados ao acometimento da medula espinhal em fase precedente à paraparesia espástica. Alguns autores diagnosticaram neuropatia periférica e outras manifestações como dor lombar, fraqueza de membros inferiores, dificuldade para deambular, disestesias, sintomas urinários, impotência sexual, alterações da marcha e reflexos em pacientes coinfectados (58, 59).

BEILKE e colaboradores (2005) chamam a atenção para o fato de que, na era pré-HAART, os pacientes não viviam tempo suficiente para desenvolver desordens neurológicas crônicas, pois eram afetados por outras condições oportunistas ameaçadoras da vida (59). A maior ocorrência de HAM/TSP nos pacientes coinfectados pode ser atribuída ao aumento da expressão do HTLV-1 durante a coinfeção e ao aumento da sobrevivência dos pacientes com SIDA em uso de HAART. Outra explicação seria o aumento da expressão de mRNA *Tax/rex* em células polimorfonucleares do sangue periférico de indivíduos coinfectados, o que levaria a resposta imune com lesão medular (167).

Um dos quatro indivíduos coinfectados que apresentava HAM/TSP não estava em uso de antiretrovirais, e os outros três faziam uso de esquema HAART, impossibilitando interpretações quanto ao possível benefício dos medicamentos utilizados na prevenção de mielopatia nesse grupo. As drogas antiretrovirais se mostraram ineficazes na monoinfecção pelo vírus HTLV-1, embora tenham sido utilizados esquemas com apenas duas drogas (168-170).

Outra característica clínica que mostrou diferença entre os grupos foi a presença de coinfecção associada à sorologia positiva para hepatite C. Embora o número de casos seja pequeno a ocorrência de múltiplas infecções podem ser encontradas nesses pacientes, provavelmente porque as vias de transmissão são semelhantes, inclusive pelo uso de drogas injetáveis. CASSEB e colaboradores descreveram vários casos de soropositividade para o vírus da hepatite C em pacientes coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 e com mielopatia (61).

## **6.2. Comparação da contagem de células T-CD4<sup>+</sup> entre os pacientes coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 e monoinfectados pelo vírus HIV-1:**

Níveis séricos de células T-CD4<sup>+</sup> foram maiores nos indivíduos coinfectados quando comparados aos monoinfectados pelo HIV-1. Vários estudos identificaram que a contagem elevada de células T-CD4<sup>+</sup> decorre da indução da proliferação celular pelo HTLV-1 na coinfecção (1, 7, 165, 171). BESSINGER e colaboradores (1997) não encontraram aumento do número de células T-CD4<sup>+</sup> nos pacientes coinfectados pelo vírus HTLV-1, e sim na coinfecção pelo HTLV-2 (60). OLAH e colaboradores (2007) em estudo *in vitro* acreditam que durante a coinfecção, o vírus HIV-1 impede a regulação da proliferação de células T que ocorre



normalmente na monoinfecção pelo HTLV-1, e que isto estaria relacionado ao desenvolvimento mais freqüente de HAM/TSP no grupo coinfestado (103). Segundo GUDO e colaboradores (2009), tanto o HIV-1 quanto o HTLV-1 separadamente induzem a modificação funcional das populações de células T, caracterizada pela diminuição das células T virgens e aumento nos níveis de células T ativadas (62). MORIUCHI e colaboradores (1998) utilizando células T-CD4<sup>+</sup> demonstraram *in vitro* que a coinfecção pode favorecer a transição do tropismo do HIV-1 do macrófago para a célula T (163). Ademais, GUDO e colaboradores (2009) acreditam que, considerando a idade dos pacientes não tratados com HAART, a infecção pelo vírus HTLV-1 precede a do vírus HIV-1, que encontra um sistema imune hiperativado, tornando o indivíduo mais susceptível a adquirir o vírus HIV-1, e evoluir com pior prognóstico (62).

### **6.3. Comparação dos níveis de carga viral entre os pacientes coinfestados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 e monoinfectados pelo vírus HIV-1;**

O presente estudo não identificou modificação na carga viral do HIV-1 quando esta infecção se associou ao HTLV-1, semelhante ao descrito por outros autores (165). Segundo SCHECHTER e colaboradores (1997), a carga viral pode ser usada como marcador de progressão da doença pelo HIV-1 na coinfecção (172). HARRISON e colaboradores (1997) ao comparar 23 indivíduos coinfestados com 92 controles (monoinfectados pelo vírus HIV-1) não encontraram diferença entre os níveis plasmáticos de RNA do HIV-1 entre os dois grupos (58).

### **6.4. Comparação do nível de carga proviral entre os pacientes coinfestados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 e monoinfectados pelo vírus HTLV-1;**

O nível de carga proviral mostrou-se semelhante entre os indivíduos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 e monoinfectados pelo vírus HTLV-1. BEILKE e colaboradores (2007) verificaram aumento da carga proviral em indivíduos coinfectados e acreditam que com o tratamento dos pacientes coinfectados com HAART, ocorra um aumento de células T-CD4<sup>+</sup> e consequentemente, elevação da carga proviral do HTLV-1 (173). CASSEB e colaboradores (2008), ao estudar 38 indivíduos coinfectados encontraram níveis mais elevados de carga proviral do HTLV-1 em indivíduos com HAM/TSP, mas não compararam com os indivíduos monoinfectados pelo vírus HTLV-1 (61).

**6.5. Comparação dos níveis séricos das citocinas IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-10 entre os grupos de indivíduos controle doador de sangue, monoinfectados pelo vírus HTLV-1, monoinfectados pelo vírus HIV-1 e coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1:**

Nossos resultados mostram diferença entre os grupos estudados quanto à citocina IL-6, que se encontra mais elevada no grupo HIV-1 quando comparada aos grupos controle doador de sangue e monoinfectados pelo HTLV-1. Na análise de altos produtores verificou-se semelhança entre o coinfectado e o monoinfectado HIV-1 com elevação dos níveis séricos. Observa-se também que a elevação de IL-6 atua negativamente na produção de CXCL9/MIG e CXCL10/IP-10, quimiocinas com perfil Th1, no grupo coinfectado. Altos níveis de IL-6 foram observados em infectados pelo HIV-1 e associados com a progressão para SIDA e com aumento de todas as causas de mortalidade (174-176). A IL-6 está relacionada à exposição de células

endoteliais da barreira hematoencefálica ao vírus HIV-1, aumentando a adesão e a migração de monócitos para o tecido neuronal (177, 178). A IL-6 esteve aumentada no soro e no líquor de indivíduos com HAM/TSP quando comparados a indivíduos assintomáticos, indicando sua participação na inflamação medular (179, 180). Embora em nossos resultados não tenhamos observado diferença no grupo coinfestado, verificamos níveis intermediários desta citocina, provavelmente relacionados à influência do vírus HIV-1.

Os níveis séricos de TNF- $\alpha$  encontraram-se mais elevados nos indivíduos monoinfestados pelo HIV-1 e coinfestados em relação ao grupo controle e HTLV-1. Na análise da frequência de altos produtores também encontramos semelhança entre os coinfestados e o grupo HIV-1. E uma correlação positiva com a IL-6. O TNF- $\alpha$  é secretado por macrófagos e linfócitos ativados e induz respostas diversas, incluindo inflamação e apoptose (181). Na infecção pelo HIV-1 o TNF- $\alpha$  estimula a replicação viral nas células infectadas, e proteínas virais agem em receptores TNF- $\alpha$  (TNFR) modulando a expressão gênica, o que resulta em supressão imune e formação de reservatórios do vírus HIV-1 (182, 183). Nos estágios tardios da infecção pelo HIV-1 a abundante produção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas e o aumento na expressão de TNF- $\alpha$  e TNFR tipo 1, resultam em apoptose da células T-CD4<sup>+</sup> (184). Níveis séricos elevados de TNF- $\alpha$  estão associados à HAM/TSP na monoinfecção pelo vírus HTLV-1 (80, 81). O aumento do TNF- $\alpha$  em células T-CD4<sup>+</sup> específicas para HTLV-1 também está associado à HAM/TSP quando comparado a pacientes portadores do vírus HTLV-1 assintomáticos (185). FURUKAWA e colaboradores (2003) verificaram a associação entre HAM/TSP e a produção de TNF- $\alpha$  em células expressando a proteína viral *Tax* (186). O TNF- $\alpha$ , importante citocina

produzida pelo linfócito T ativado, encontrou-se aumentada nos nossos pacientes coinfectados, o que pode ser atribuído ao estímulo do vírus HIV-1 nestes indivíduos.

Observou-se aumento de IFN- $\gamma$  no grupo HIV-1 quando comparado ao grupo coinfectado, provavelmente associado à inibição de sua produção no grupo coinfectado. O IFN- $\gamma$  é uma importante citocina pró-inflamatória, inibe a replicação viral e acentua o reconhecimento de antígenos virais associados a moléculas MHC da classe I pelas células T-CD8<sup>+</sup>. Na infecção pelo HTLV-1 está associada à HAM/TSP (185, 187) e caracteriza uma resposta imunológica do tipo Th1. Na infecção pelo HIV-1 a proporção de células T secretoras de IL-2 e IFN- $\gamma$  diminui. A baixa produção de IFN- $\gamma$  no grupo coinfectado comparado ao HIV-1 pode ser resultado da interação de ambos os vírus neste grupo.

Os níveis de IL-4 estavam mais baixos no grupo coinfectado quando comparados aos níveis nos grupos HIV-1 e HTLV-1. Na infecção pelo HIV-1 a proporção de células T produtoras de IL-4 e IL-10 aumenta, levando a resposta imune para um perfil Th2, com redução da resposta aos outros microrganismos intracelulares pelos macrófagos. Nosso grupo de coinfectados não apresenta características da resposta Th2, e nem Th1, visto que os níveis de IFN- $\gamma$  também estão reduzidos.

As demais citocinas IL-2 e IL-10 pesquisadas no presente estudo, não se mostram diferentes entre os grupos. Na análise da frequência de altos produtores a IL-2 no grupo coinfectado se assemelha ao grupo HTLV-1 com baixa produção. Na análise de correlação verifica-se que elevações nos níveis de IL-2 produzem diminuição nos níveis de todas as quimiocinas

pesquisadas (CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CCL2/MCP-1 e CCL5/RANTES) no grupo coinfestado. A IL-2 é uma citocina secretada por células T ativadas que regula a proliferação, a diferenciação e a sobrevivência de células T. Estudo recente utilizando a administração de IL-2 recombinante proporcionou aumento sustentado de células CD4<sup>+</sup> em indivíduos infectados pelo HIV-1, entretanto sem benefício clínico (188).

A IL-10 correlacionou positivamente com a carga proviral no grupo coinfestado. A IL-10 é uma potente citocina moduladora da resposta inflamatória com capacidade de suprimir a imunidade mediada por células e prevenir o desenvolvimento da doença inflamatória crônica. Sua produção está relacionada à viremia plasmática do HIV-1 e sua diminuição com a terapia antiretroviral. Além disso, o bloqueio da IL-10 resulta em aumento significativo da proliferação antigênica. Na infecção pelo HTLV-1, a IL-10 tem papel importante na manutenção do status de portador assintomático, isto é, sem HAM/TSP (111).

#### **6.6. Comparação dos níveis séricos de quimiocinas, CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10 e CCL2/MCP-1, CCL5/RANTES entre os grupos de indivíduos controle doador de sangue, mono infectados pelo vírus HTLV-1, coinfestados pelos vírus HIV-1/HTLV-1, mono infectados pelo vírus HIV-1.**

Níveis de CXCL8/IL-8 encontram-se mais elevados nos indivíduos mono infectados pelo HIV-1 em relação aos mono infectados pelo HTLV-1. Na análise de altos produtores tendo como

referência o grupo grupo doador de sangue, os indivíduos coinfectados se assemelham ao grupo HIV-1. A CXCL8/IL-8 é responsável pelo recrutamento de neutrófilos, mas também realiza a quimiotaxia e a ativação de monócitos e células T (148, 189). Além disso, a CXCL8/IL-8 facilita a migração de monócitos mediada pela CCL2/MCP-1 (190). Na infecção pelo HIV-1 ocorre aumento da produção de CXCL8/IL-8 por astrócitos em resposta à estimulação pela IL-1 $\beta$  e pelo TNF- $\alpha$  (191). ZHENG e colaboradores (2008) demonstraram níveis elevados de CXCL8/IL-8 no líquido em pacientes com demência associada ao HIV-1, indicando a participação desta quimiocina em um processo inflamatório crônico no tecido neuronal (192). GUERREIRO e colaboradores (2006) não observaram diferença nos níveis de CXCL8/IL-8 entre indivíduos HTLV-1 assintomáticos e com HAM/TSP (18).

Quanto a CXCL10/IP-10 houve maior produção no grupo coinfectado em relação aos grupo controle, provavelmente pelo fato dos indivíduos infectados pelo HIV-1 e dos coinfectados estarem em tratamento antiretroviral. Quando se analisa a frequência de altos produtores de CXCL10/IP-10 em relação ao grupo doador de sangue, verifica-se semelhança entre o grupo coinfectado e HIV-1, com elevada produção. Segundo GUERREIRO e colaboradores (2006), níveis séricos elevados de CXCL9/MIG e CXCL10/IP-10 ocorrem em pacientes infectados pelo HTLV-1 com HAM/TSP (18). Níveis elevados de CXCL10/IP-10 têm sido detectados no plasma de pacientes infectados pelo HIV-1 comparados com controles e níveis persistentemente elevados se correlacionam com a falência do tratamento HAART (153). Nossos achados não mostraram diferenças nos níveis de CXCL9/MIG.

Neste estudo os níveis de CCL2/MCP-1 estavam aumentados no grupo HIV-1 em relação ao grupo HTLV-1 e níveis intermediários no grupo coinfectado. Esta quimiocina está envolvida no recrutamento de células com CCR2 e encontra-se aumentada em várias fases da doença em indivíduos infectados pelo HIV-1 (193). A presença de macrófagos infectados pelo HIV-1 no SNC é um marcador de neuroinflamação na SIDA. MURATORI e colaboradores (2010) identificaram aumento na transcrição do gene para CCL2/MCP-1 em células astrogliais infectadas pelo HIV-1 e aumento da liberação desta quimiocina, que associados a outros fatores estariam relacionados com aumento da carga viral e da inflamação no SNC em pacientes infectados pelo HIV-1 (194). Níveis elevados de CCL2/MCP-1 foram detectados no líquido de indivíduos infectados pelo HIV-1 com quadro demencial (195). UMERAHA e colaboradores (1996) detectaram a presença de CCL2/MCP-1 em células de infiltrado perivascular e no endotélio vascular nas lesões crônicas ativas da HAM/TSP, sugerindo envolvimento desta quimiocina no recrutamento de células inflamatórias para o SNC na HAM/TSP (159). Não houve diferença nos níveis séricos de CCL2/MCP-1 nos indivíduos coinfectados do nosso estudo.

Baixos níveis séricos de CCL5/RANTES foram observados nos indivíduos coinfectados e monoinfectados pelo HIV-1. Fato observado também na análise da frequência de altos produtores. CCL5/RANTES tem correlação inversa com os níveis de células CD4<sup>+</sup> no grupo coinfectado. É uma quimiocina pró-inflamatória, capaz de induzir a migração principalmente de leucócitos, e com papel importante na resposta aos vírus. Numa infecção viral ela é secretada por células T-CD8<sup>+</sup> específicas ativadas, com ação antiviral baseada nos mecanismos de invasão viral (141). Na infecção pelo HIV-1 pode intensificar a citotoxicidade da célula T específica

para o HIV-1 (196). Em 1995, COLCHI e colaboradores identificaram uma potente ação supressora da replicação pelo HIV-1 *in vitro* desta quimiocina (142). Isto chamou a atenção de DENG e colaboradores (1996) para a importância do receptor de CCL5/RANTES como cofator para a entrada do vírus HIV-1 na célula CD4<sup>+</sup> (197). CCL5/RANTES assim como outras quimiocinas ligantes do receptor CCR5, CCL3/MIP-1 $\alpha$  e CCL4/MIP-1 $\beta$  podem inibir a entrada do vírus HIV-1 que usa o CCR5 como correceptor com o CD4 nas células T. Estas quimiocinas inibem a entrada do vírus HIV-1 ao diminuir a ativação do CCR5 e ao competir com o vírus pelo mesmo sítio de ligação. Entretanto o CCL5/RANTES em altas concentrações pode aumentar a replicação viral (141). Indivíduos com resposta satisfatória ao tratamento com HAART apresenta altos níveis de CCL3/MIP-1 $\alpha$  e CCL4/MIP-1 $\beta$ , entretanto não dosamos estas quimiocinas em nosso estudo (140). KAKKANAI AH e colaboradores (1998) encontraram níveis séricos de CCL5/RANTES mais baixos nos indivíduos infectados pelo HIV-1 do que em controles sadios e não identificaram correlação com a carga viral (198). Níveis de CCL5/RANTES, CCL2/MCP-1 e CXCL10/IP-10 encontraram-se persistentemente elevados em indivíduos tratados com HAART, quando comparados a controles sadios (164). MONTANHEIRO e colaboradores (2007) observaram o aumento da produção de CCL5/RANTES e CCL3/MIP-1 $\alpha$  em pacientes com HAM/TSP quando comparados a indivíduos assintomáticos, sendo estas quimiocinas envolvidas no recrutamento de fatores pró-inflamatórios, que contribuiriam para o dano à membrana mielínica (199). A presença de níveis séricos baixos de CCL5/RANTES em nossos pacientes coinfetados não pareceu exercer efeito protetor para mielopatia. Em nossos resultados não se observou diferença entre os níveis de CCL5/RANTES entre os pacientes coinfetados sem e com mielopatia, entretanto cabe ressaltar



que um dos quatro indivíduos com mielopatia sem o uso de antiretrovirais apresentou altos níveis de CCL5/RANTES.

Em resumo podemos dizer que a frequência de mielopatia está aumentada nos indivíduos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 (25,0%), partindo-se de uma população de pacientes monoinfectados pelo vírus HIV-1. Além disso, o grupo coinfectado apresenta-se clinicamente semelhante ao grupo de indivíduos monoinfectados pelo vírus HTLV-1 com queixas neurológicas e manifestações de comprometimento da propriocepção (sinal de Romberg). Não se observa um perfil de resposta imune do tipo Th1 ou Th2 neste grupo coinfectado, mas um misto de características imunológicas, observando-se semelhança na baixa produção de IL-2 com o grupo HTLV-1; e compartilha semelhanças com o HIV-1 no aumento da produção de TNF- $\alpha$ , CXCL10/IP-10, IL-6 e CXCL8/IL8 e diminuição da produção de CCL5/RANTES. Portanto os indivíduos coinfectados apresentam um perfil sérico imunológico peculiar com aumento de TNF- $\alpha$ , IL-6, CXCL8/IL8 e CXCL10/IP-10, e diminuição de IL-2 e CCL5/RANTES.

**CONCLUSÃO**

## 7. CONCLUSÃO

- a. Indivíduos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 apresentam como fatores de exposição aos vírus o uso de drogas injetáveis ilícitas e história de detenção. Têm mais frequentemente queixas auditivas que os monoinfectados pelo HTLV-1 e mais queixas urinárias, dificuldade para subir escadas e sinal de Romberg que os monoinfectados pelo HIV-1;
- b. A contagem de células T-CD4<sup>+</sup> encontra-se elevada nos indivíduos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 quando comparados aos indivíduos monoinfectados pelo vírus HIV-1;
- c. A carga proviral foi semelhante nos indivíduos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 e monoinfectados pelo vírus HTLV-1
- d. A carga viral foi semelhante nos indivíduos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 e monoinfectados pelo HIV-1;
- e. Níveis séricos de TNF- $\alpha$  são mais elevados e níveis de IL-4 são mais baixos nos coinfectados quando comparados a monoinfectados pelo HTLV-1;
- f. Níveis séricos de IFN- $\gamma$  e IL-4 são mais baixos nos indivíduos coinfectados quando comparados a monoinfectados pelo HIV-1;

- g. Níveis séricos de CCL5/RANTES são mais baixos nos coinfectados do que nos monoinfectados por HTLV-1;
  
- h. Indivíduos coinfectados pelos vírus HIV-1/HTLV-1 apresentam um perfil sérico imunológico peculiar com aumento de TNF- $\alpha$ , CXCL10/IP-10, IL-6 e CXCL8/IL-8 e diminuição de IL-2 e CCL-5/RANTES, baseando-se na análise de alto produtores de citocinas e quimiocinas.



## LIMITAÇÕES

Não temos um grupo de pacientes sem tratamento com HAART, portanto o que avaliamos tem a interferência do tratamento nos níveis de citocinas e quimiocinas. Como a coleta de dados foi por conveniência em centros de tratamento de pacientes infectados pelo HIV-1, a maioria realizava a terapia HAART.

Observamos um viés de seleção nos grupos de indivíduos, uma vez que selecionamos pacientes em tratamento médico de longa data, e não foram feitas comparações entre indivíduos não tratados ou infectados recentemente pelos vírus HIV-1 e HTLV-1.

Os níveis de citocinas e quimiocinas podem modifica-se nos indivíduos em diferentes fases das infecções tanto do vírus HIV-1, quanto do vírus HTLV-1, o que poderia ser mais bem explorado se fizéssemos um estudo longitudinal com várias dosagens.

Encontramos dificuldades em identificar pacientes coinfectados pelos vírus HIV-1 e HTLV-1, em parte pela baixa prevalência, mas também pelo fato de muitos pacientes não serem submetidos à pesquisa do HTLV-1 nos centros de tratamento de doenças infecciosas. Tal constatação é incoerente, pois sabemos que as vias de transmissão dos dois vírus são semelhantes e a identificação da coinfeção poderia trazer mais informações para o tratamento do HIV-1. Acreditamos que a atual falta de tratamento para o vírus HTLV-1 influenciaria a não realização da sorologia.



**PERSPECTIVAS****PERSPECTIVAS**

O principal desafio na infecção pelo HTLV-1 ainda é uma alternativa de tratamento que evite a evolução para mielopatia ou linfoma/leucemia. Nossos estudos continuarão na tentativa de identificar maior número de pacientes coinfetados pelos vírus HIV-1/HTLV-1, com vistas a obter informações sobre os benefícios dos atuais antiretrovirais (esquema com três drogas) no controle da infecção pelo HTLV-1. O estado de Minas Gerais é uma área endêmica para a infecção do HTLV-1 com a possibilidade de estudarmos melhor estes pacientes.

É preciso definir o comportamento da CCL5/RANTES com e sem o uso de antiretrovirais. Esta quimiocina mostrou-se muito reduzida na coinfecção, mas não foi possível concluir sua relação com a mielopatia.



**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Casseb J, Posada-Vergara MP, Montanheiro P, Fukumori LM, Olah I, Smid J, et al. T CD4+ cells count among patients co-infected with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1): high prevalence of tropical spastic paraparesis/HTLV-1-associated myelopathy (TSP/HAM). *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2007 Jul-Aug;49(4):231-3.
2. Brites C, Alencar R, Gusmao R, Pedroso C, Netto EM, Pedral-Sampaio D, et al. Co-infection with HTLV-1 is associated with a shorter survival time for HIV-1-infected patients in Bahia, Brazil. *AIDS*. 2001 Oct 19;15(15):2053-5.
3. Gotuzzo E, Escamilla J, Phillips IA, Sanchez J, Wignall FS, Antogni J. The impact of human T-lymphotropic virus type I/II infection on the prognosis of sexually acquired cases of acquired immunodeficiency syndrome. *Arch Intern Med*. 1992 Jul;152(7):1429-32.
4. Guimaraes ML, Bastos FI, Telles PR, Galvao-Castro B, Diaz RS, Bongertz V, et al. Retrovirus infections in a sample of injecting drug users in Rio de Janeiro City, Brazil: prevalence of HIV-1 subtypes, and co-infection with HTLV-I/II. *J Clin Virol*. 2001 May;21(2):143-51.
5. Hishida O, Ayisi NK, Aidoo M, Brandful J, Ampofo W, Osei-Kwasi M, et al. Serological survey of HIV-1, HIV-2 and human T-cell leukemia virus type 1 for suspected AIDS cases in Ghana. *AIDS*. 1994 Sep;8(9):1257-61.
6. Briggs NC, Battjes RJ, Cantor KP, Blattner WA, Yellin FM, Wilson S, et al. Seroprevalence of human T cell lymphotropic virus type II infection, with or without human immunodeficiency virus type 1 coinfection, among US intravenous drug users. *J Infect Dis*. 1995 Jul;172(1):51-8.
7. Casseb J, Caterino-de-Araujo A, Hong MA, Salomao S, Gallo D, Hendry RM, et al. Prevalence of HTLV-I and HTLV-II infections among HIV-1-infected asymptomatic individuals in Sao Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1997 Jul-Aug;39(4):213-5.
8. Brites C, Harrington W, Jr., Pedroso C, Martins Netto E, Badaro R. Epidemiological Characteristics of HTLV-I and II Co-Infection in Brazilian Subjects Infected by HIV-1. *Braz J Infect Dis*. 1997 Mar;1(1):42-7.
9. Scapellato PG, Bottaro E, Brieschke MT, Scapellato JL, Dato A, Intile AD, et al. CD4 cell count among HIV-infected patients with an AIDS-defining disease: higher count in patients coinfecting than in those not coinfecting with human T-cell lymphotropic virus type I. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003 Jun 1;33(2):279-80.
10. Brites C, Pedroso C, Netto E, Harrington W, Jr., Galvao-Castro B, Couto-Fernandez JC, et al. Co-Infection by HTLV-I/II is Associated With Increased Viral Load in PBMC of HIV-1 Infected Patients in Bahia, Brazil. *Braz J Infect Dis*. 1998 Apr;2(2):70-7.
11. Lefrere JJ, Courouce AM, Mariotti M, Wattel E, Prou O, Bouchardeau F, et al. Rapid progression to AIDS in dual HIV-1/HTLV-I infection. *Lancet*. 1990 Aug 25;336(8713):509.

12. Collins JA, Hernandez AV, Hidalgo JA, Salazar R. HTLV-I infection is not associated with a higher risk of death in Peruvian HIV-infected patients. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2009 Jul-Aug;51(4):197-201.
13. Cesaire R, Dehee A, Lezin A, Desire N, Bourdonne O, Dantin F, et al. Quantification of HTLV type I and HIV type I DNA load in coinfecting patients: HIV type 1 infection does not alter HTLV type I proviral amount in the peripheral blood compartment. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2001 Jun 10;17(9):799-805.
14. Zack JA, Cann AJ, Lugo JP, Chen IS. HIV-1 production from infected peripheral blood T cells after HTLV-I induced mitogenic stimulation. *Science*. 1988 May 20;240(4855):1026-9.
15. Noraz N, Verrier B, Fraissier C, Desgranges C. Cell surface phenotypic changes induced in H9 T cells chronically infected with HTLV type I or HIV type 1 or coinfecting with the two viruses. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1995 Jan;11(1):145-54.
16. Beilke MA, Theall KP, O'Brien M, Clayton JL, Benjamin SM, Winsor EL, et al. Clinical outcomes and disease progression among patients coinfecting with HIV and human T lymphotropic virus types 1 and 2. *Clin Infect Dis*. 2004 Jul 15;39(2):256-63.
17. Goon PK, Hanon E, Igakura T, Tanaka Y, Weber JN, Taylor GP, et al. High frequencies of Th1-type CD4(+) T cells specific to HTLV-1 Env and Tax proteins in patients with HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Blood*. 2002 May 1;99(9):3335-41.
18. Guerreiro JB, Santos SB, Morgan DJ, Porto AF, Muniz AL, Ho JL, et al. Levels of serum chemokines discriminate clinical myelopathy associated with human T lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) disease from HTLV-1 carrier state. *Clin Exp Immunol*. 2006 Aug;145(2):296-301.
19. Mahad DJ, Howell SJ, Woodroffe MN. Expression of chemokines in the CSF and correlation with clinical disease activity in patients with multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2002 Apr;72(4):498-502.
20. Gu L, Tseng S, Horner RM, Tam C, Loda M, Rollins BJ. Control of TH2 polarization by the chemokine monocyte chemoattractant protein-1. *Nature*. 2000 Mar 23;404(6776):407-11.
21. Salmaggi A, Gelati M, Dufour A, Corsini E, Pagano S, Bacalini R, et al. Expression and modulation of IFN-gamma-inducible chemokines (IP-10, Mig, and I-TAC) in human brain endothelium and astrocytes: possible relevance for the immune invasion of the central nervous system and the pathogenesis of multiple sclerosis. *J Interferon Cytokine Res*. 2002 Jun;22(6):631-40.
22. Montanheiro PA, Oliveira AC, Posada-Vergara MP, Milagres AC, Taulic C, Marchiori PE, et al. Human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) proviral DNA viral load among asymptomatic patients and patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Braz J Med Biol Res*. 2005 Nov;38(11):1643-7.
23. Saito M. Immunogenetics and the Pathological Mechanisms of Human T-Cell Leukemia Virus Type 1- (HTLV-1)-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis (HAM/TSP). *Interdiscip Perspect Infect Dis*. 2010:478461.
24. Poesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, Bunn PA, 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 U S A*. 1980 Dec;77(12):7415-9.

25. 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 Aug 24;2(8452):407-10.
26. Osame M, Usuku K, Izumo S, Ijichi N, Amitani H, Igata A, et al. HTLV-I associated myelopathy, a new clinical entity. *Lancet*. 1986 May 3;1(8488):1031-2.
27. Kalyanaraman VS, Sarngadharan MG, Robert-Guroff M, Miyoshi I, Golde D, Gallo RC. A new subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II) associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia. *Science*. 1982 Nov 5;218(4572):571-3.
28. Kroon EGP, A.B.F.C. . HTLV. In: Proietti ABFC, editor. *Cadernos Hemominas*. Belo Horizonte: Fundação Hemominas; 2006. p. 11-20.
29. Wolfe ND, Heneine W, Carr JK, Garcia AD, Shanmugam V, Tamoufe U, et al. Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 May 31;102(22):7994-9.
30. Sodroski J. The human T-cell leukemia virus (HTLV) transactivator (Tax) protein. *Biochim Biophys Acta*. 1992 Sep 14;1114(1):19-29.
31. Gotuzzo E, Terashima A, Alvarez H, Tello R, Infante R, Watts DM, et al. Strongyloides stercoralis hyperinfection associated with human T cell lymphotropic virus type-1 infection in Peru. *Am J Trop Med Hyg*. 1999 Jan;60(1):146-9.
32. del Giudice P, Sainte Marie D, Gerard Y, Couppie P, Pradinaud R. Is crusted (Norwegian) scabies a marker of adult T cell leukemia/lymphoma in human T lymphotropic virus type I-seropositive patients? *J Infect Dis*. 1997 Oct;176(4):1090-2.
33. Ohba N, Matsumoto M, Sameshima M, Kabayama Y, Nakao K, Unoki K, et al. Ocular manifestations in patients infected with human T-lymphotropic virus type I. *Jpn J Ophthalmol*. 1989;33(1):1-12.
34. Gotuzzo E, Arango C, de Queiroz-Campos A, Isturiz RE. Human T-cell lymphotropic virus-I in Latin America. *Infect Dis Clin North Am*. 2000 Mar;14(1):211-39, x-xi.
35. Kaplan JE, Osame M, Kubota H, Igata A, Nishitani H, Maeda Y, et al. The risk of development of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis among persons infected with HTLV-I. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1990;3(11):1096-101.
36. Casseb J. Is human T cell lymphotropic type 1 (HTLV-1)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) syndrome a neglected disease? *PLoS Negl Trop Dis*. 2009;3(11):e487.
37. Andrada-Serpa MJ, Schor D, Araujo AQ, Rumjanek VM. Immunological features of HTLV-I myelopathy in Rio de Janeiro, Brazil, and in vitro effects of cyclosporin A. *J Neurol Sci*. 1996 Jul;139(1):7-14.
38. de Oliveira MS, Matutes E, Famadas LC, Schulz TF, Calabro ML, Nucci M, et al. Adult T-cell leukaemia/lymphoma in Brazil and its relation to HTLV-I. *Lancet*. 1990 Oct 20;336(8721):987-90.
39. Costa CM, Salgueiro MR, Carton H, Do Vale OC, De Arruda AM. Tropical spastic paraparesis in Northeastern Brazil. *Arq Neuropsiquiatr*. 1989 Jun;47(2):134-8.
40. Gabbai AA, Wiley CA, Oliveira AS, Smith R, Schmidt B, Nobrega JA, et al. Skeletal muscle involvement in tropical spastic paraparesis/HTLV-1-associated myelopathy. *Muscle Nerve*. 1994 Aug;17(8):923-30.

41. Araujo AQ, Andrada-Serpa MJ, Paulo-Filho TA, Rodrigues MT, Prado LA. Folliculitis decalvans and human T cell lymphotropic virus type I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Clin Infect Dis*. 1995 Mar;20(3):696-9.
42. Goncalves DU, Guedes AC, Proietti AB, Martins ML, Proietti FA, Lambertucci JR. Dermatologic lesions in asymptomatic blood donors seropositive for human T cell lymphotropic virus type-1. *Am J Trop Med Hyg*. 2003 May;68(5):562-5.
43. Mattos K, Queiroz C, Pecanha-Martins AC, Publio L, Vinhas V, Melo A. Lymphocyte alveolitis in HAM/TSP patients. Preliminary report. *Arq Neuropsiquiatr*. 1993 Mar;51(1):134-6.
44. Pinheiro SR, Lana-Peixoto MA, Proietti AB, Orefice F, Lima-Martins MV, Proietti FA. HTLV-I associated uveitis, myelopathy, rheumatoid arthritis and Sjogren's syndrome. *Arq Neuropsiquiatr*. 1995 Dec;53(4):777-81.
45. Edlich RF, Arnette JA, Williams FM. Global epidemic of human T-cell lymphotropic virus type-I (HTLV-I). *J Emerg Med*. 2000 Jan;18(1):109-19.
46. Zella D, Mori L, Sala M, Ferrante P, Casoli C, Magnani G, et al. HTLV-II infection in Italian drug abusers. *Lancet*. 1990 Sep 1;336(8714):575-6.
47. Carneiro-Proietti AB, Ribas JG, Catalan-Soares BC, Martins ML, Brito-Melo GE, Martins-Filho OA, et al. [Infection and disease caused by the human T cell lymphotropic viruses type I and II in Brazil]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2002 Sep-Oct;35(5):499-508.
48. Catalan-Soares B, Carneiro-Proietti AB, 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 Saude Publica*. 2005 May-Jun;21(3):926-31.
49. Kitagawa T, Fujishita M, Taguchi H, Miyoshi I, Tadokoro H. Antibodies to HTLV-I in Japanese immigrants in Brazil. *JAMA*. 1986 Nov 7;256(17):2342.
50. ASKILD AS, H.H.; HEGGER, B. Co-infection with HIV-1/HTLV-II and risk of progression to AIDS and death. The Oslo HIV Cohort Study Group APMIS. 1996;104:666-72.
51. Cooke FJ, Geretti AM, Zuckerman M. Human T-cell lymphotropic virus antibody prevalence in HIV-1-infected individuals attending a sexual health clinic in South-East London. *J Med Virol*. 2005 Jun;76(2):143-5.
52. Egan JF, O'Leary B, Lewis MJ, Mulcahy F, Sheehy N, Hasegawa H, et al. High rate of human T lymphotropic virus type IIa infection in HIV type 1-infected intravenous drug abusers in Ireland. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1999 May 20;15(8):699-705.
53. Goedert JJ, Fung MW, Felton S, Battjes RJ, Engels EA. Cause-specific mortality associated with HIV and HTLV-II infections among injecting drug users in the USA. *AIDS*. 2001 Jul 6;15(10):1295-302.
54. Cortes E, Detels R, Aboulaflia D, Li XL, Moudgil T, Alam M, et al. HIV-1, HIV-2, and HTLV-I infection in high-risk groups in Brazil. *N Engl J Med*. 1989 Apr 13;320(15):953-8.
55. de Araujo AC, Casseb JS, Neitzert E, de Souza ML, Mammano F, Del Mistro A, et al. HTLV-I and HTLV-II infections among HIV-1 seropositive patients in Sao Paulo, Brazil. *Eur J Epidemiol*. 1994 Apr;10(2):165-71.
56. Moreira ED, Jr., Ribeiro TT, Swanson P, Sampaio Filho C, Melo A, Brites C, et al. Seroepidemiology of human T-cell lymphotropic virus type I/II in northeastern Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1993 Aug;6(8):959-63.

57. Laurentino RV, Lopes IG, Azevedo VN, Machado LF, Moreira MR, Lobato L, et al. Molecular characterization of human T-cell lymphotropic virus coinfecting human immunodeficiency virus 1 infected patients in the Amazon region of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005 Jul;100(4):371-6.
58. Harrison LH, Vaz B, Taveira DM, Quinn TC, Gibbs CJ, de Souza SH, et al. Myelopathy among Brazilians coinfecting with human T-cell lymphotropic virus type I and HIV. *Neurology*. 1997 Jan;48(1):13-8.
59. Beilke MA, Japa S, Moeller-Hadi C, Martin-Schild S. Tropical spastic paraparesis/human T leukemia virus type 1-associated myelopathy in HIV type 1-coinfected patients. *Clin Infect Dis*. 2005 Sep 15;41(6):e57-63.
60. Bessinger R, Beilke M, Kissinger P, Jarrott C, Tabak OF. Retroviral coinfections at a New Orleans HIV outpatient clinic. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1997 Jan 1;14(1):67-71.
61. Casseb J, de Oliveira AC, Vergara MP, Montanheiro P, Bonasser F, Meilman Ferreira C, et al. Presence of tropical spastic paraparesis/human T-cell lymphotropic virus type 1-associated myelopathy (TSP/HAM)-like among HIV-1-infected patients. *J Med Virol*. 2008 Mar;80(3):392-8.
62. Gudo ES, Bhatt NB, Bila DR, Abreu CM, Tanuri A, Savino W, et al. Co-infection by human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and human T cell leukemia virus type 1 (HTLV-1): does immune activation lead to a faster progression to AIDS? *BMC Infect Dis*. 2009;9:211.
63. Schechter M, Harrison LH, Halsey NA, Trade G, Santino M, Moulton LH, et al. Coinfection with human T-cell lymphotropic virus type I and HIV in Brazil. Impact on markers of HIV disease progression. *JAMA*. 1994 Feb 2;271(5):353-7.
64. Brites C, Goyanna F, Franca LG, Pedroso C, Netto EM, Adriano S, et al. Coinfection by HTLV-I/II is associated with an increased risk of strongyloidiasis and delay in starting antiretroviral therapy for AIDS patients. *Braz J Infect Dis*. Feb;15(1):6-11.
65. Brites C, Sampalo J, Oliveira A. HIV/human T-cell lymphotropic virus coinfection revisited: impact on AIDS progression. *AIDS Rev*. 2009 Jan-Mar;11(1):8-16.
66. Daisley H, Charles WP, Swanston W. Role of HTLV-1 co-infection in the AIDS epidemic in the Caribbean: a cause for concern. *Int J STD AIDS*. 1999 Jul;10(7):487-9.
67. Sobesky M, Couppie P, Pradinaud R, Godard MC, Alvarez F, Benoit B, et al. [Coinfection with HIV and HTLV-I infection and survival in AIDS stage. French Guiana Study. GECVIG (Clinical HIV Study Group in Guiana)]. *Presse Med*. 2000 Mar 4;29(8):413-6.
68. Stuver SO, Tachibana N, Okayama A, Shioiri S, Tsunetoshi Y, Tsuda K, et al. Heterosexual transmission of human T cell leukemia/lymphoma virus type I among married couples in southwestern Japan: an initial report from the Miyazaki Cohort Study. *J Infect Dis*. 1993 Jan;167(1):57-65.
69. Manns A, Wilks RJ, Murphy EL, Haynes G, Figueroa JP, Barnett M, et al. A prospective study of transmission by transfusion of HTLV-I and risk factors associated with seroconversion. *Int J Cancer*. 1992 Jul 30;51(6):886-91.
70. Okochi K, Sato H, Hinuma Y. A retrospective study on transmission of adult T cell leukemia virus by blood transfusion: seroconversion in recipients. *Vox Sang*. 1984;46(5):245-53.

71. Maloney EM, Cleghorn FR, Morgan OS, Rodgers-Johnson P, Cranston B, Jack N, et al. Incidence of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) in Jamaica and Trinidad. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1998 Feb 1;17(2):167-70.
72. Milagres AC, Jorge ML, Marchiori PE, Segurado AA. Human T cell lymphotropic virus type 1-associated myelopathy in Sao Paulo, Brazil. Epidemiologic and clinical features of a university hospital cohort. *Neuroepidemiology*. 2002 May-Jun;21(3):153-8.
73. Araujo AQ, Leite AC, Dultra SV, Andrada-Serpa MJ. Progression of neurological disability in HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *J Neurol Sci*. 1995 Apr;129(2):147-51.
74. Gotuzzo E, Cabrera J, Deza L, Verdonck K, Vandamme AM, Cairampoma R, et al. Clinical characteristics of patients in Peru with human T cell lymphotropic virus type 1-associated tropical spastic paraparesis. *Clin Infect Dis*. 2004 Oct 1;39(7):939-44.
75. Nakagawa M, Izumo S, Ijichi S, Kubota H, Arimura K, Kawabata M, et al. HTLV-I-associated myelopathy: analysis of 213 patients based on clinical features and laboratory findings. *J Neurovirol*. 1995 Mar;1(1):50-61.
76. De Castro-Costa CM, Araujo 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 Oct;22(10):931-5.
77. Iwasaki Y. Human T cell leukemia virus type I infection and chronic myelopathy. *Brain Pathol*. 1993 Jan;3(1):1-10.
78. Carvalho EM, Bacellar O, Porto AF, Braga S, Galvao-Castro B, Neva F. Cytokine profile and immunomodulation in asymptomatic human T-lymphotropic virus type 1-infected blood donors. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2001 May 1;27(1):1-6.
79. Izumo S, Umehara F, Osame M. HTLV-I-associated myelopathy. *Neuropathology*. 2000 Sep;20 Suppl:S65-8.
80. Biddison WE, Kubota R, Kawanishi T, Taub DD, Cruikshank WW, Center DM, et al. Human T cell leukemia virus type I (HTLV-I)-specific CD8+ CTL clones from patients with HTLV-I-associated neurologic disease secrete proinflammatory cytokines, chemokines, and matrix metalloproteinase. *J Immunol*. 1997 Aug 15;159(4):2018-25.
81. Santos SB, Porto AF, Muniz AL, de Jesus AR, Magalhaes E, Melo A, et al. Exacerbated inflammatory cellular immune response characteristics of HAM/TSP is observed in a large proportion of HTLV-I asymptomatic carriers. *BMC Infect Dis*. 2004 Mar 2;4:7.
82. Bhigjee AI, Wiley CA, Wachsman W, Amenomori T, Pirie D, Bill PL, et al. HTLV-I-associated myelopathy: clinicopathologic correlation with localization of provirus to spinal cord. *Neurology*. 1991 Dec;41(12):1990-2.
83. Garcia-Vallejo F, Dominguez MC, Tamayo O. Autoimmunity and molecular mimicry in tropical spastic paraparesis/human T-lymphotropic virus-associated myelopathy. *Braz J Med Biol Res*. 2005 Feb;38(2):241-50.
84. Gessain A, Gout O. Chronic myelopathy associated with human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I). *Ann Intern Med*. 1992 Dec 1;117(11):933-46.
85. Kalume F, Lee SM, Morcos Y, Callaway JC, Levin MC. Molecular mimicry: cross-reactive antibodies from patients with immune-mediated neurologic disease inhibit neuronal firing. *J Neurosci Res*. 2004 Jul 1;77(1):82-9.

86. Levin MC, Lee SM, Kalume F, Morcos Y, Dohan FC, Jr., Hasty KA, et al. Autoimmunity due to molecular mimicry as a cause of neurological disease. *Nat Med.* 2002 May;8(5):509-13.
87. Akizuki S, Setoguchi M, Nakazato O, Yoshida S, Higuchi Y, Yamamoto S, et al. An autopsy case of human T-lymphotropic virus type I-associated myelopathy. *Hum Pathol.* 1988 Aug;19(8):988-90.
88. Levin MC, Jacobson S. HTLV-I associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP): a chronic progressive neurologic disease associated with immunologically mediated damage to the central nervous system. *J Neurovirol.* 1997 Apr;3(2):126-40.
89. Rosenblum MK, Brew BJ, Hahn B, Shaw G, Haase A, Maroushek S, et al. Human T-lymphotropic virus type I-associated myelopathy in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Hum Pathol.* 1992 May;23(5):513-9.
90. Wu E, Dickson DW, Jacobson S, Raine CS. Neuroaxonal dystrophy in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis: neuropathologic and neuroimmunologic correlations. *Acta Neuropathol.* 1993;86(3):224-35.
91. Izumo S, Umehara F, Kashio N, Kubota R, Sato E, Osame M. Neuropathology of HTLV-1-associated myelopathy (HAM/TSP). *Leukemia.* 1997 Apr;11 Suppl 3:82-4.
92. Castro-Costa CM, Dom R, Carton H, Goubau P, Santos Tde J, Ferreira MV, et al. Neuropathology of two Brazilian autopsied cases of tropical spastic paraparesis / HTLV-I associated myelopathy (TSP/HAM) of long evolution. *Arq Neuropsiquiatr.* 2002 Sep;60(3-A):531-6.
93. Osame M. Pathological mechanisms of human T-cell lymphotropic virus type I-associated myelopathy (HAM/TSP). *J Neurovirol.* 2002 Oct;8(5):359-64.
94. Nagai M, Brennan MB, Sakai JA, Mora CA, Jacobson S. CD8(+) T cells are an in vivo reservoir for human T-cell lymphotropic virus type I. *Blood.* 2001 Sep 15;98(6):1858-61.
95. Macnamara A, Rowan A, Hilburn S, Kadolsky U, Fujiwara H, Suemori K, et al. HLA class I binding of HBZ determines outcome in HTLV-1 infection. *PLoS Pathog.* [Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2010;6(9).
96. Kubota R, Soldan SS, Martin R, Jacobson S. Selected cytotoxic T lymphocytes with high specificity for HTLV-I in cerebrospinal fluid from a HAM/TSP patient. *J Neurovirol.* 2002 Feb;8(1):53-7.
97. Osame M. [HTLV-I-associated myelopathy]. *Ryokibetsu Shokogun Shirizu.* 1999(24 Pt 2):41-5.
98. Taylor GP. Pathogenesis and treatment of HTLV-I associated myelopathy. *Sex Transm Infect.* 1998 Oct;74(5):316-22.
99. Jacobson S, Shida H, McFarlin DE, Fauci AS, Koenig S. Circulating CD8+ cytotoxic T lymphocytes specific for HTLV-I pX in patients with HTLV-I associated neurological disease. *Nature.* 1990 Nov 15;348(6298):245-8.
100. Greten TF, Slansky JE, Kubota R, Soldan SS, Jaffee EM, Leist TP, et al. Direct visualization of antigen-specific T cells: HTLV-1 Tax11-19- specific CD8(+) T cells are activated in peripheral blood and accumulate in cerebrospinal fluid from HAM/TSP patients. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 Jun 23;95(13):7568-73.



101. Banki K, Ablonczy E, Nakamura M, Perl A. Effect of p40tax trans-activator of human T cell lymphotropic virus type I on expression of autoantigens. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1994 Mar;10(3):303-8.
102. Martins-Filho OAB-M, G. E. A. Resposta imune na infecção pelo HTLV: ênfase em mecanismos pró e antiinflamatórios da HAM/TSP In: Proietti ABFC, editor. *HTLV*. 4a. ed. Belo Horizonte: Fundação Hemominas; 2006. p. 46-60.
103. Olah I, Fukumori LM, Montanheiro P, Vergara MP, Smid J, Duarte AJ, et al. Patterns of in vitro lymphoproliferative responses among HTLV-1-infected subjects: upregulation by HTLV-1 during HIV-1 co-infection. *Scand J Immunol*. 2007 Jun;65(6):577-80.
104. Bangham CR. CTL quality and the control of human retroviral infections. *Eur J Immunol*. 2009 Jul;39(7):1700-12.
105. Billiau A, Dijkmans R. Interferon-gamma: mechanism of action and therapeutic potential. *Biochem Pharmacol*. 1990 Oct 1;40(7):1433-9.
106. Horwitz DA, Gray JD, Ohtsuka K, Hirokawa M, Takahashi T. The immunoregulatory effects of NK cells: the role of TGF-beta and implications for autoimmunity. *Immunol Today*. 1997 Nov;18(11):538-42.
107. Umehara F, Izumo S, Ronquillo AT, Matsumuro K, Sato E, Osame M. Cytokine expression in the spinal cord lesions in HTLV-I-associated myelopathy. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1994 Jan;53(1):72-7.
108. Romero IA, Prevost MC, Perret E, Adamson P, Greenwood J, Couraud PO, et al. Interactions between brain endothelial cells and human T-cell leukemia virus type 1-infected lymphocytes: mechanisms of viral entry into the central nervous system. *J Virol*. 2000 Jul;74(13):6021-30.
109. Ijichi S, Eiraku N, Osame M, Izumo S, Kubota R, Maruyama I, et al. Activated T lymphocytes in cerebrospinal fluid of patients with HTLV-I-associated myelopathy (HAM/TSP). *J Neuroimmunol*. 1989 Dec;25(2-3):251-4.
110. Grant C, Barmak K, Alefantis T, Yao J, Jacobson S, Wigdahl B. Human T cell leukemia virus type I and neurologic disease: events in bone marrow, peripheral blood, and central nervous system during normal immune surveillance and neuroinflammation. *J Cell Physiol*. 2002 Feb;190(2):133-59.
111. Brito-Melo GE, Peruhype-Magalhaes V, Teixeira-Carvalho A, Barbosa-Stancioli EF, Carneiro-Proietti AB, Catalan-Soares B, et al. IL-10 produced by CD4+ and CD8+ T cells emerge as a putative immunoregulatory mechanism to counterbalance the monocyte-derived TNF-alpha and guarantee asymptomatic clinical status during chronic HTLV-I infection. *Clin Exp Immunol*. 2007 Jan;147(1):35-44.
112. Karpus WJ. Chemokines and central nervous system disorders. *J Neurovirol*. 2001 Dec;7(6):493-500.
113. Murphy PM, Baggiolini M, Charo IF, Hebert CA, Horuk R, Matsushima K, et al. International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacol Rev*. 2000 Mar;52(1):145-76.
114. Proudfoot AE, Power CA, Rommel C, Wells TN. Strategies for chemokine antagonists as therapeutics. *Semin Immunol*. 2003 Feb;15(1):57-65.
115. Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity*. 2000 Feb;12(2):121-7.

116. Chensue SW. Molecular machinations: chemokine signals in host-pathogen interactions. *Clin Microbiol Rev.* 2001 Oct;14(4):821-35, table of contents.
117. Chavarria A, Alcocer-Varela J. Is damage in central nervous system due to inflammation? *Autoimmun Rev.* 2004 Jun;3(4):251-60.
118. Thelen M. Dancing to the tune of chemokines. *Nat Immunol.* 2001 Feb;2(2):129-34.
119. Hesselgesser J, Horuk R. Chemokine and chemokine receptor expression in the central nervous system. *J Neurovirol.* 1999 Feb;5(1):13-26.
120. Huang D, Han Y, Rani MR, Glabinski A, Trebst C, Sorensen T, et al. Chemokines and chemokine receptors in inflammation of the nervous system: manifold roles and exquisite regulation. *Immunol Rev.* 2000 Oct;177:52-67.
121. Wekerle H, Sun D, Oropeza-Wekerle RL, Meyermann R. Immune reactivity in the nervous system: modulation of T-lymphocyte activation by glial cells. *J Exp Biol.* 1987 Sep;132:43-57.
122. Karpus WJ, Ransohoff RM. Chemokine regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis: temporal and spatial expression patterns govern disease pathogenesis. *J Immunol.* 1998 Sep 15;161(6):2667-71.
123. Bajetto A, Bonavia R, Barbero S, Piccioli P, Costa A, Florio T, et al. Glial and neuronal cells express functional chemokine receptor CXCR4 and its natural ligand stromal cell-derived factor 1. *J Neurochem.* 1999 Dec;73(6):2348-57.
124. Harrison JK, Jiang Y, Chen S, Xia Y, Maciejewski D, McNamara RK, et al. Role for neuronally derived fractalkine in mediating interactions between neurons and CX3CR1-expressing microglia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 Sep 1;95(18):10896-901.
125. Mantovani A. The chemokine system: redundancy for robust outputs. *Immunol Today.* 1999 Jun;20(6):254-7.
126. Asensio VC, Campbell IL. Chemokines in the CNS: plurifunctional mediators in diverse states. *Trends Neurosci.* 1999 Nov;22(11):504-12.
127. Bacon KB, Harrison JK. Chemokines and their receptors in neurobiology: perspectives in physiology and homeostasis. *J Neuroimmunol.* 2000 Apr 3;104(1):92-7.
128. Biber K, Zuurman MW, Dijkstra IM, Boddeke HW. Chemokines in the brain: neuroimmunology and beyond. *Curr Opin Pharmacol.* 2002 Feb;2(1):63-8.
129. Fife BT, Huffnagle GB, Kuziel WA, Karpus WJ. CC chemokine receptor 2 is critical for induction of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Exp Med.* 2000 Sep 18;192(6):899-905.
130. Huang DR, Wang J, Kivisakk P, Rollins BJ, Ransohoff RM. Absence of monocyte chemoattractant protein 1 in mice leads to decreased local macrophage recruitment and antigen-specific T helper cell type 1 immune response in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Exp Med.* 2001 Mar 19;193(6):713-26.
131. Izikson L, Klein RS, Charo IF, Weiner HL, Luster AD. Resistance to experimental autoimmune encephalomyelitis in mice lacking the CC chemokine receptor (CCR)2. *J Exp Med.* 2000 Oct 2;192(7):1075-80.
132. Mennicken F, Maki R, de Souza EB, Quirion R. Chemokines and chemokine receptors in the CNS: a possible role in neuroinflammation and patterning. *Trends Pharmacol Sci.* 1999 Feb;20(2):73-8.
133. Ransohoff RM, Tani M. Do chemokines mediate leukocyte recruitment in post-traumatic CNS inflammation? *Trends Neurosci.* 1998 Apr;21(4):154-9.

134. Siebert H, Sachse A, Kuziel WA, Maeda N, Bruck W. The chemokine receptor CCR2 is involved in macrophage recruitment to the injured peripheral nervous system. *J Neuroimmunol.* 2000 Oct 2;110(1-2):177-85.
135. Charo IF, Ransohoff RM. The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *N Engl J Med.* 2006 Feb 9;354(6):610-21.
136. Huang Y, Paxton WA, Wolinsky SM, Neumann AU, Zhang L, He T, et al. The role of a mutant CCR5 allele in HIV-1 transmission and disease progression. *Nat Med.* 1996 Nov;2(11):1240-3.
137. Liu R, Paxton WA, Choe S, Ceradini D, Martin SR, Horuk R, et al. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *Cell.* 1996 Aug 9;86(3):367-77.
138. Paxton WA, Martin SR, Tse D, O'Brien TR, Skurnick J, VanDevanter NL, et al. Relative resistance to HIV-1 infection of CD4 lymphocytes from persons who remain uninfected despite multiple high-risk sexual exposure. *Nat Med.* 1996 Apr;2(4):412-7.
139. Bleul CC, Wu L, Hoxie JA, Springer TA, Mackay CR. The HIV coreceptors CXCR4 and CCR5 are differentially expressed and regulated on human T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Mar 4;94(5):1925-30.
140. Brito A, Almeida A, Gonzalez CR, Mendonca M, Ferreira F, Fernandes SS, et al. Successful HAART is associated with high B-chemokine levels in chronic HIV type 1-infected patients. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2007 Jul;23(7):906-12.
141. Appay V, Rowland-Jones SL. RANTES: a versatile and controversial chemokine. *Trends Immunol.* 2001 Feb;22(2):83-7.
142. Cocchi F, DeVico AL, Garzino-Demo A, Arya SK, Gallo RC, Lusso P. Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells. *Science.* 1995 Dec 15;270(5243):1811-5.
143. McKenzie SW, Dallaglio G, North M, Frame P, Means RT, Jr. Serum chemokine levels in patients with non-progressing HIV infection. *AIDS.* 1996 Aug;10(9):F29-33.
144. Polo S, Veglia F, Malnati MS, Gobbi C, Farci P, Raiteri R, et al. Longitudinal analysis of serum chemokine levels in the course of HIV-1 infection. *AIDS.* 1999 Mar 11;13(4):447-54.
145. Zanussi S, D'Andrea M, Simonelli C, Tirelli U, De Paoli P. Serum levels of RANTES and MIP-1 alpha in HIV-positive long-term survivors and progressor patients. *AIDS.* 1996 Oct;10(12):1431-2.
146. Marechal V, Arenzana-Seisdedos F, Heard JM, Schwartz O. Opposite effects of SDF-1 on human immunodeficiency virus type 1 replication. *J Virol.* 1999 May;73(5):3608-15.
147. Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Interleukin-8 and related chemotactic cytokines--CXC and CC chemokines. *Adv Immunol.* 1994;55:97-179.
148. Gerszten RE, Garcia-Zepeda EA, Lim YC, Yoshida M, Ding HA, Gimbrone MA, Jr., et al. MCP-1 and IL-8 trigger firm adhesion of monocytes to vascular endothelium under flow conditions. *Nature.* 1999 Apr 22;398(6729):718-23.
149. Luster AD, Leder P. IP-10, a -C-X-C- chemokine, elicits a potent thymus-dependent antitumor response in vivo. *J Exp Med.* 1993 Sep 1;178(3):1057-65.
150. Taub DD. Chemokine-leukocyte interactions. The voodoo that they do so well. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1996 Dec;7(4):355-76.

151. Taub DD, Oppenheim JJ. Review of the chemokine meeting the Third International Symposium of Chemotactic Cytokines. *Cytokine*. 1993 May;5(3):175-9.
152. Kolb SA, Sporer B, Lahrtz F, Koedel U, Pfister HW, Fontana A. Identification of a T cell chemotactic factor in the cerebrospinal fluid of HIV-1-infected individuals as interferon-gamma inducible protein 10. *J Neuroimmunol*. 1999 Jan 1;93(1-2):172-81.
153. Stylianou E, Aukrust P, Bendtzen K, Muller F, Froland SS. Interferons and interferon (IFN)-inducible protein 10 during highly active anti-retroviral therapy (HAART)-possible immunosuppressive role of IFN-alpha in HIV infection. *Clin Exp Immunol*. 2000 Mar;119(3):479-85.
154. Lane BR, King SR, Bock PJ, Strieter RM, Coffey MJ, Markovitz DM. The C-X-C chemokine IP-10 stimulates HIV-1 replication. *Virology*. 2003 Mar 1;307(1):122-34.
155. Baba M, Imai T, Yoshida T, Yoshie O. Constitutive expression of various chemokine genes in human T-cell lines infected with human T-cell leukemia virus type 1: role of the viral transactivator Tax. *Int J Cancer*. 1996 Mar 28;66(1):124-9.
156. Yoshie O, Fujisawa R, Nakayama T, Harasawa H, Tago H, Izawa D, et al. Frequent expression of CCR4 in adult T-cell leukemia and human T-cell leukemia virus type 1-transformed T cells. *Blood*. 2002 Mar 1;99(5):1505-11.
157. Narikawa K, Fujihara K, Misu T, Feng J, Fujimori J, Nakashima I, et al. CSF-chemokines in HTLV-I-associated myelopathy: CXCL10 up-regulation and therapeutic effect of interferon-alpha. *J Neuroimmunol*. 2005 Feb;159(1-2):177-82.
158. Teixeira AL, Jr., Cardoso F, Souza AL, Teixeira MM. Increased serum concentrations of monokine induced by interferon-gamma/CXCL9 and interferon-gamma-inducible protein 10/CXCL-10 in Sydenham's chorea patients. *J Neuroimmunol*. 2004 May;150(1-2):157-62.
159. Umehara F, Izumo S, Takeya M, Takahashi K, Sato E, Osame M. Expression of adhesion molecules and monocyte chemoattractant protein -1 (MCP-1) in the spinal cord lesions in HTLV-I-associated myelopathy. *Acta Neuropathol*. 1996;91(4):343-50.
160. Siekevitz M, Feinberg MB, Holbrook N, Wong-Staal F, Greene WC. Activation of interleukin 2 and interleukin 2 receptor (Tac) promoter expression by the trans-activator (tat) gene product of human T-cell leukemia virus, type I. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987 Aug;84(15):5389-93.
161. Casseb J. Is human T-cell lymphotropic virus type I more clever than human immunodeficiency virus type 1? *Clin Infect Dis*. 1998 Nov;27(5):1309-10.
162. Casoli C, Vicenzi E, Cimarelli A, Magnani G, Ciancianaini P, Cattaneo E, et al. HTLV-II down-regulates HIV-1 replication in IL-2-stimulated primary PBMC of coinfecting individuals through expression of MIP-1alpha. *Blood*. 2000 May 1;95(9):2760-9.
163. Moriuchi H, Moriuchi M, Fauci AS. Factors secreted by human T lymphotropic virus type I (HTLV-I)-infected cells can enhance or inhibit replication of HIV-1 in HTLV-I-uninfected cells: implications for in vivo coinfection with HTLV-I and HIV-1. *J Exp Med*. 1998 May 18;187(10):1689-97.
164. Lee S, Fernandez S, French M, Price P. Chemokine receptor expression on dendritic cells is normal in HIV-infected patients with a stable response to art, but chemokine levels remain elevated. *J Med Virol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2011 Jul;83(7):1128-33.

165. Scapellato PG, Bottaro EG, Seoane MB, Rodriguez Brieschke MT, Scapellato JL, Dato A, et al. [Clinical, epidemiological and immunological study of patients coinfecting with HIV and HTLV-1]. *Medicina (B Aires)*. 2004;64(5):413-8.
166. Stuver SO, Okayama A, Tachibana N, Tsubouchi H, Mueller NE, Tabor E. HCV infection and liver cancer mortality in a Japanese population with HTLV-I. *Int J Cancer*. 1996 Jul 3;67(1):35-7.
167. Beilke MA, Japa S, Vinson DG. HTLV-I and HTLV-II virus expression increase with HIV-1 coinfection. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1998 Apr 15;17(5):391-7.
168. Nakagawa M, Nakahara K, Maruyama Y, Kawabata M, Higuchi I, Kubota H, et al. Therapeutic trials in 200 patients with HTLV-I-associated myelopathy/ tropical spastic paraparesis. *J Neurovirol*. 1996 Oct;2(5):345-55.
169. Pot C, Chizzolini C, Vokatch N, Tiercy JM, Ribic C, Landis T, et al. Combined antiviral-immunosuppressive treatment in human T-lymphotropic virus 1-Sjogren-associated myelopathy. *Arch Neurol*. 2006 Sep;63(9):1318-20.
170. Taylor GP, Goon P, Furukawa Y, Green H, Barfield A, Mosley A, et al. Zidovudine plus lamivudine in Human T-Lymphotropic Virus type-I-associated myelopathy: a randomised trial. *Retrovirology*. 2006;3:63.
171. Bhatt NB, Gudo ES, Sema C, Bila D, Di Mattei P, Augusto O, et al. Loss of correlation between HIV viral load and CD4+ T-cell counts in HIV/HTLV-1 co-infection in treatment naive Mozambican patients. *Int J STD AIDS*. 2009 Dec;20(12):863-8.
172. Schechter M, Moulton LH, Harrison LH. HIV viral load and CD4+ lymphocyte counts in subjects coinfecting with HTLV-I and HIV-1. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1997 Aug 1;15(4):308-11.
173. Beilke MA, Traina-Dorge VL, Sirois M, Bhuiyan A, Murphy EL, Walls JM, et al. Relationship between human T lymphotropic virus (HTLV) type 1/2 viral burden and clinical and treatment parameters among patients with HIV type 1 and HTLV-1/2 coinfection. *Clin Infect Dis*. 2007 May 1;44(9):1229-34.
174. Breen EC, Rezai AR, Nakajima K, Beall GN, Mitsuyasu RT, Hirano T, et al. Infection with HIV is associated with elevated IL-6 levels and production. *J Immunol*. 1990 Jan 15;144(2):480-4.
175. Matsumoto T, Miike T, Nelson RP, Trudeau WL, Lockey RF, Yodoi J. Elevated serum levels of IL-8 in patients with HIV infection. *Clin Exp Immunol*. 1993 Aug;93(2):149-51.
176. Kuller LH, Tracy R, Belloso W, De Wit S, Drummond F, Lane HC, et al. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Med*. 2008 Oct 21;5(10):e203.
177. Chaudhuri A, Duan F, Morsey B, Persidsky Y, Kanmogne GD. HIV-1 activates proinflammatory and interferon-inducible genes in human brain microvascular endothelial cells: putative mechanisms of blood-brain barrier dysfunction. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2008 Apr;28(4):697-711.
178. Yang B, Akhter S, Chaudhuri A, Kanmogne GD. HIV-1 gp120 induces cytokine expression, leukocyte adhesion, and transmigration across the blood-brain barrier: modulatory effects of STAT1 signaling. *Microvasc Res*. 2009 Mar;77(2):212-9.

179. Nishimoto N, Yoshizaki K, Eiraku N, Machigashira K, Tagoh H, Ogata A, et al. Elevated levels of interleukin-6 in serum and cerebrospinal fluid of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Neurol Sci.* 1990 Jul;97(2-3):183-93.
180. Ohbo K, Sugamura K, Sekizawa T, Kogure K. Interleukin-6 in cerebrospinal fluid of HTLV-I-associated myelopathy. *Neurology.* 1991 Apr;41(4):594-5.
181. Legler DF, Micheau O, Doucey MA, Tschopp J, Bron C. Recruitment of TNF receptor 1 to lipid rafts is essential for TNFalpha-mediated NF-kappaB activation. *Immunity.* 2003 May;18(5):655-64.
182. Badley AD, Dockrell D, Simpson M, Schut R, Lynch DH, Leibson P, et al. Macrophage-dependent apoptosis of CD4+ T lymphocytes from HIV-infected individuals is mediated by FasL and tumor necrosis factor. *J Exp Med.* 1997 Jan 6;185(1):55-64.
183. de Oliveira Pinto LM, Garcia S, Lecoeur H, Rapp C, Gougeon ML. Increased sensitivity of T lymphocytes to tumor necrosis factor receptor 1 (TNFR1)- and TNFR2-mediated apoptosis in HIV infection: relation to expression of Bcl-2 and active caspase-8 and caspase-3. *Blood.* 2002 Mar 1;99(5):1666-75.
184. Herbein G, Khan KA. Is HIV infection a TNF receptor signalling-driven disease? *Trends Immunol.* 2008 Feb;29(2):61-7.
185. Goon PK, Igakura T, Hanon E, Mosley AJ, Asquith B, Gould KG, et al. High circulating frequencies of tumor necrosis factor alpha- and interleukin-2-secreting human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-specific CD4+ T cells in patients with HTLV-1-associated neurological disease. *J Virol.* 2003 Sep;77(17):9716-22.
186. Furukawa Y, Saito M, Matsumoto W, Usuku K, Tanaka Y, Izumo S, et al. Different cytokine production in tax-expressing cells between patients with human T cell lymphotropic virus type I (HTLV-I)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis and asymptomatic HTLV-I carriers. *J Infect Dis.* 2003 Apr 1;187(7):1116-25.
187. Hanon E, Goon P, Taylor GP, Hasegawa H, Tanaka Y, Weber JN, et al. High production of interferon gamma but not interleukin-2 by human T-lymphotropic virus type I-infected peripheral blood mononuclear cells. *Blood.* 2001 Aug 1;98(3):721-6.
188. Abrams D, Levy Y, Losso MH, Babiker A, Collins G, Cooper DA, et al. Interleukin-2 therapy in patients with HIV infection. *N Engl J Med.* 2009 Oct 15;361(16):1548-59.
189. Baggiolini M, Walz A, Kunkel SL. Neutrophil-activating peptide-1/interleukin 8, a novel cytokine that activates neutrophils. *J Clin Invest.* 1989 Oct;84(4):1045-9.
190. Gouwy M, Struyf S, Noppen S, Schutyser E, Springael JY, Parmentier M, et al. Synergy between coproduced CC and CXC chemokines in monocyte chemotaxis through receptor-mediated events. *Mol Pharmacol.* 2008 Aug;74(2):485-95.
191. Cota M, Kleinschmidt A, Ceccherini-Silberstein F, Aloisi F, Mengozzi M, Mantovani A, et al. Upregulated expression of interleukin-8, RANTES and chemokine receptors in human astrocytic cells infected with HIV-1. *J Neurovirol.* 2000 Feb;6(1):75-83.
192. Zheng JC, Huang Y, Tang K, Cui M, Niemann D, Lopez A, et al. HIV-1-infected and/or immune-activated macrophages regulate astrocyte CXCL8 production through IL-1beta and TNF-alpha: involvement of mitogen-activated protein kinases and protein kinase R. *J Neuroimmunol.* 2008 Aug 30;200(1-2):100-10.

193. Ansari AW, Bhatnagar N, Dittrich-Breiholz O, Kracht M, Schmidt RE, Heiken H. Host chemokine (C-C motif) ligand-2 (CCL2) is differentially regulated in HIV type 1 (HIV-1)-infected individuals. *Int Immunol*. 2006 Oct;18(10):1443-51.
194. Muratori C, Mangino G, Affabris E, Federico M. Astrocytes contacting HIV-1-infected macrophages increase the release of CCL2 in response to the HIV-1-dependent enhancement of membrane-associated TNFalpha in macrophages. *Glia*. Dec;58(16):1893-904.
195. Conant K, Garzino-Demo A, Nath A, McArthur JC, Halliday W, Power C, et al. Induction of monocyte chemoattractant protein-1 in HIV-1 Tat-stimulated astrocytes and elevation in AIDS dementia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Mar 17;95(6):3117-21.
196. Hadida F, Vieillard V, Autran B, Clark-Lewis I, Baggiolini M, Debre P. HIV-specific T cell cytotoxicity mediated by RANTES via the chemokine receptor CCR3. *J Exp Med*. 1998 Aug 3;188(3):609-14.
197. Deng H, Liu R, Ellmeier W, Choe S, Unutmaz D, Burkhart M, et al. Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature*. 1996 Jun 20;381(6584):661-6.
198. Kakkanaiiah VN, Ojo-Amaize EA, Peter JB. Concentrations of circulating beta-chemokines do not correlate with viral load in human immunodeficiency virus-infected individuals. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1998 Jul;5(4):499-502.
199. Montanheiro P, Vergara MP, Smid J, da Silva Duarte AJ, de Oliveira AC, Casseb J. High production of RANTES and MIP-1alpha in the tropical spastic paraparesis/HTLV-1-associated myelopathy (TSP/HAM). *J Neuroimmunol*. 2007 Aug;188(1-2):138-42.





Anexo 1. Aprovação do estudo pelo Comitê de Ética em Pesquisa - UFMG

---



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

**Parecer nº. ETIC 279/08**

**Interessado(a): Prof. José Roberto Lambertucci  
Departamento de Clínica Médica  
Faculdade de Medicina - UFMG**

**DECISÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 20 de agosto de 2008, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado "**Características imunológicas da co-infecção pelos vírus da imunodeficiência humana tipo 1 e vírus linfotrópico humano de células tipo 1**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

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

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

Anexo 2. Aprovação do estudo pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos  
– Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte

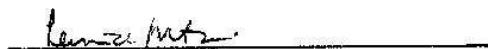
**Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte**  
**Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos**

Parecer 068.2008

**Pesquisadores:** Prof. José Roberto Lambertucci (orientador)  
Prof. Christian Rezende de Freitas co-orientador  
Sílvia Roberto de Souza Pereira (doutorando)

O Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte – CEP/SMSA/BH aprovou em 18 de novembro de 2008, após solução de pendências, o projeto de pesquisa intitulado “**Características imunológicas e manifestações neurológicas da co-infecção pelos vírus da imunodeficiência humana tipo 1 e vírus linfotrópico humano de células T tipo 1**” bem como seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido..

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao CEP um ano após início do projeto ou ao final desde, se em prazo inferior a um ano.



☐ **Celeste de Souza Rodrigues**

Coordenadora do CEP/SMSA/BH

Celeste de Souza Rodrigues - BM: 37316-1  
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa - SMSA/SH



## Apêndice 1. Termo de consentimento livre e esclarecido

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**  
**Projeto de Pesquisa: CARACTERÍSTICAS IMUNOLÓGICAS DA CO-INFECÇÃO PELOS**  
**VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA TIPO 1 E VÍRUS LINFOTRÓPICO HUMANO DE**  
**CÉLULAS T TIPO 1**

Você, \_\_\_\_\_, paciente do ambulatório de doenças infecciosas do Hospital das Clínicas CTR/Orestes Diniz, foi selecionado para participar de um projeto de pesquisa e tem o direito de saber sobre sua participação.

O objetivo desta pesquisa é conhecer melhor as manifestações da infecção do vírus HIV-1 associada ao HTLV-1. O HTLV-1 é um vírus que raramente pode produzir lesão na medula espinhal, ocasionando prejuízo para andar, urinar e evacuar. Muito pouco se conhece como o sistema de defesa do ser humano reage a este vírus quando ele está junto com o HIV, por isso estamos estudando estas manifestações.

Sua participação neste estudo é voluntária e gratuita. Você tem a liberdade de recusar participar do estudo, e se aceitar a participar, retirar seu consentimento a qualquer momento. Este fato não implicará na interrupção de seu atendimento, que está assegurado. Ela constituirá em permitir que as informações sobre a sua doença contidas no seu prontuário sejam utilizadas na pesquisa e análise do seu sangue. Caso você participe, será necessário colher uma amostra de 20 ml de sangue e realizar exame médico. Os riscos da coleta de sangue estão associados à formação de pequeno coágulo no local da coleta. O benefício esperado é a melhor compreensão da infecção do HIV-1 associada ao HTLV-1.

Os médicos da equipe do Ambulatório de Doenças Infecciosas do Hospital das Clínicas da UFMG poderão ser contatados através de dos telefones (31) 3409-9547 ou pelo celular do Dr. Sílvio (31) 9976-4119 para esclarecimentos e em caso de urgências. O Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos da UFMG também poderá esclarecer dúvidas sobre os aspectos éticos da pesquisa na Av. Antonio Carlos, 6627 Unidade Administrativa II 2o.andar Campus Pampulha Cep 31270-901 Belo Horizonte-MG ou pelo Telefone: (31) 3409-4592 e pelo email coep@prpq.ufmg.br ou no Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde da Prefeitura de Belo Horizonte no endereço Av. Afonso Pena, 2336/9º. Andar Funcionários Cep 30130-007 Belo Horizonte-MG ou pelo telefone: (31) 3277-5309.

Os resultados desta pesquisa serão mostrados para outros pesquisadores, mas não aparecerá seu nome, e sim um código.

Eu, \_\_\_\_\_ li o texto acima e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual fui convidado a participar. A explicação que recebi fala dos riscos e benefícios do estudo. Entendi que sou livre para interromper minha participação no estudo a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem que esta decisão afete meu tratamento com o meu médico.

Após esclarecido sobre a pesquisa, aceito participar do estudo, concordando com o uso, na pesquisa, das informações clínicas e laboratoriais da minha doença. Assino em duas vias, sendo uma minha e a segunda será arquivada pelos pesquisadores.

Belo Horizonte, \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Nome do voluntário: \_\_\_\_\_

Assinatura do voluntário \_\_\_\_\_

Nome do pesquisador: Sílvio Roberto de Sousa Pereira

Assinatura do pesquisador \_\_\_\_\_

1ª via do participante 2ª. via do pesquisador

**QUESTIONÁRIO - HTLV/HIV**

Nº {Protocolo}: \_\_/\_\_/\_\_/ Reg}istro no {SAME}: \_\_/\_\_/\_\_/\_\_/{datapreen}chimento:  
 /\_\_/\_\_/\_\_\_\_/

**1) {IDENT}IFICAÇÃO:**

1.1) {Nome}:

---

1.2) {Endereço}: Rua/Av.

---

Nº: \_\_\_\_\_ Apto: \_\_\_\_\_ Bairro:

Cidade: \_\_\_\_\_

CEP: \_\_/\_\_/\_\_/\_\_/\_\_/\_\_\_\_/ Telefones: \_\_/\_\_/ \_\_/\_\_/\_\_/\_\_-\_\_/\_\_/\_\_/

1.3) {Sexo}: /\_/ 0-masc /\_/ 1-fem

1.4) {DN}: /\_\_/\_\_/\_\_\_\_/

1.5) {Idade} completa (em anos): /\_/\_/

1.6) {Natural}idade: \_\_\_\_\_

**2) {HIST}ÓRIA {CLÍN}ICA:**

2.1) {HTLV} /\_/

1) DEFINIDA: /\_/

2) PROVÁVEL: /\_/

3) POSSÍVEL: /\_/

2.1.2 {História}:

2.1.2.1) sintomas na {cabeça V006}: /\_/\_/\_/\_/

2.1.2.1.1 O que você sente ou percebe {V007}: /\_/\_/\_/\_/

2.1.2.1.2 Há quanto tempo {V008}: /\_/

2.1.2.1.3 Melhorou, piorou ou igual {V009}: /\_/

2.1.2.1.4 Consultou médico {V010}: /\_/

2.1.2.1.5 Diagnóstico {V011}:

---

2.1.2.2) sintomas nos {olhos V012}: /\_/

2.1.2.2.1 O que você sente ou percebe {V013}: /\_/\_/\_/\_/

2.1.2.2.2 Há quanto tempo {V014}: /\_/

2.1.2.2.3 Melhorou, piorou ou igual {V015}: /\_/

2.1.2.2.4 Consultou médico {V016}: /\_/

2.1.2.2.5 Diagnóstico {V017}:

---

2.1.2.3) sintomas nos {ouvidos V018}: /\_/

2.1.2.3.1 O que você sente ou percebe {V019}: /\_/\_/\_/\_/

2.1.2.3.2 Há quanto tempo {V020}: /\_/

2.1.2.3.3 Melhorou, piorou ou igual {V021}: /\_/

2.1.2.3.4 Consultou médico {V022}: /\_/

2.1.2.3.5 Diagnóstico {V023}:

---

2.1.2.4) sintomas no {intestino V048}: /\_/

2.1.2.4.1 O que você sente ou percebe {V049}: /\_/\_/\_/\_/

2.1.2.4.2 Há quanto tempo {V050}: /\_/

2.1.2.4.3 Melhorou, piorou ou igual {V051}: /\_/

2.1.2.4.4 Consultou médico {V052}: /\_/

2.1.2.4.5 Diagnóstico {V053}:

---

2.1.2.5) sintomas na {urina V054}: /\_/ 0-não /\_/1-sim

2.1.2.5.1 O que você sente ou percebe {V055}: /\_/\_/\_/\_/

2.1.2.5.2 Há quanto tempo {V056}: /\_/

2.1.2.5.3 Melhorou, piorou ou igual {V057}: /\_/

2.1.2.5.4 Consultou médico {V058}: /\_/

2.1.2.5.5 Diagnóstico {V059}:

---

2.1.2.6) sintomas genital {feminino V060}: /\_/

2.1.2.6.1 O que você sente ou percebe {V061}: /\_/\_/\_/\_/

- 2.1.2.6.2 Há quanto tempo {V062}: /\_/
- 2.1.2.6.3 Melhorou, piorou ou igual {V063}: /\_/
- 2.1.2.6.4 Consultou médico {V064}: /\_/
- 2.1.2.6.5 Diagnóstico {V065}:

- 
- 2.1.2.7) sintomas genital {masculino V066}: /\_/
  - 2.1.2.7.1 O que você sente ou percebe {V067}: /\_/\_/\_/\_/\_/
  - 2.1.2.7.2 Há quanto tempo {V068}: /\_/
  - 2.1.2.7.3 Melhorou, piorou ou igual {V069}: /\_/
  - 2.1.2.7.4 Consultou médico {V070}: /\_/
  - 2.1.2.7.5 Diagnóstico {V071}:

- 
- 2.1.2.8) sintomas no {corpo V084}: /\_/
  - 2.1.2.8.1 O que você sente ou percebe {V085}: /\_/\_/\_/\_/\_/
  - 2.1.2.8.2 Há quanto tempo {V086}: /\_/
  - 2.1.2.8.3 Melhorou, piorou ou igual {V087}: /\_/
  - 2.1.2.8.4 Consultou médico {V088}: /\_/
  - 2.1.2.8.5 Diagnóstico {V089}:

- 
- 2.1.2.9) sintomas no {braços V90}: /\_/
  - 2.1.2.9.1 O que você sente ou percebe {V091}: /\_/\_/\_/\_/\_/
  - 2.1.2.9.2 Local {V092}: /\_/\_/\_/\_/\_/
  - 2.1.2.9.3 Igual a direita e a esquerda {V093}: /\_/
  - 2.1.2.9.4 Qual lado é pior {V094}: /\_/
  - 2.1.2.9.5 Há quanto tempo {V095}: /\_/
  - 2.1.2.9.6 Melhorou, piorou ou igual {V096}: /\_/
  - 2.1.2.9.7 Como está a progressão {V097}: /\_/
  - 2.1.2.9.8 Consultou médico {V098}: /\_/
  - 2.1.2.9.9 Diagnóstico {V099}:

- 
- 2.1.2.10) sintomas no dorso e {pernas V100}: /\_/
  - 2.1.2.9.1 O que você sente ou percebe {V101}: /\_/\_/\_/\_/\_/
  - 2.1.2.9.2 Local {V102}: /\_/\_/\_/\_/\_/
  - 2.1.2.9.3 Igual a direita e a esquerda {V103}: /\_/
  - 2.1.2.9.4 Qual lado é pior {V104}: /\_/\_/
  - 2.1.2.9.5 Há quanto tempo {V105}: /\_/
  - 2.1.2.9.6 Melhorou, piorou ou igual {V106}: /\_/
  - 2.1.2.9.7 Como está a progressão {V107}: /\_/
  - 2.1.2.10.8 Dificuldade para deambular {V108}: /\_/
  - 2.1.2.10.9 Desde quando {V109}: /\_/
  - 2.1.2.10.10 Dificuldade para correr {V110}: /\_/
  - 2.1.2.10.11 Desde quando {V111}: /\_/
  - 2.1.2.10.12 Dificuldade para pular {V112}: /\_/
  - 2.1.2.10.13 Desde quando {V113}: /\_/
  - 2.1.2.10.14 Dificuldade para subir escadas {V114}: /\_/
  - 2.1.2.10.15 Desde quando {V115}: /\_/
  - 2.1.2.10.16 Dificuldade para descer escadas {V116}: /\_/
  - 2.1.2.10.17 Desde quando {V117}: /\_/
  - 2.2.2.10.18 Médico disse sobre problema de

saúde: \_\_\_\_\_

- 2.1.2.11) uso nos últimos seis meses de {medicamentos V125}: /\_/
- 2.1.2.11.1 Qual {V126} /\_/
- 2.1.2.12) teve vermes/lumbrigas nas {fezes V129}: /\_/
- 2.1.2.12.1 Qual {V130}: /\_/

### 2.3) {HIV}

#### 2.3.1) {SIDA} /\_/

    Usou regular de {medic}amentos {ARV}: /\_/ 0-não /\_/ 1-sim

Se sim, especificar:

- 2.3.1.1) \_\_\_\_\_
- 2.3.1.2) \_\_\_\_\_
- 2.3.1.3) \_\_\_\_\_
- 2.3.1.4) \_\_\_\_\_

2.3.1.5) \_\_\_\_\_

- 2.4) Outras {comorbid}ades: /\_/ 0-não /\_/ 1-sim /\_/ 9 - IGN  
 Se sim, especificar:
- 2.5.1) \_\_\_\_\_ CID: \_\_\_\_\_  
 2.5.2) \_\_\_\_\_ CID: \_\_\_\_\_  
 2.5.3) \_\_\_\_\_ CID: \_\_\_\_\_
- 2.5) {Fat}ores de {risco} para infecção por HCV e/ou HIV:
- 2.5.1) {Transfusão}: /\_/ 0-não /\_/ 1-sim /\_/ 9-IGN  
 2.5.1.1) Se sim, há /\_/ /\_/ {anos}
- 2.5.2) {Ativ}idade {sexual}: /\_/ 0-não /\_/ 1-sim /\_/ 9-IGN  
 2.5.2.1) {Parceiros} nos últimos 12 meses : /\_/ 0-não /\_/ 1-sim  
 2.5.2.1.1) Se sim, /\_/ /\_/ {parceiros}  
 2.5.2.2) {Op}ção {sexual}: /\_/ 0- homossexual /\_/ 1- bissexual /\_/ 2-  
 heterossexual /\_/ 9- IGN
- 2.5.3) Uso de {drog}as {ilícit}as: /\_/ 0-não /\_/ 1-sim /\_/ 9-IGN  
 2.5.3.1) Se sim, {injetável}: /\_/ 0-não /\_/ 1-sim /\_/ 9-IGN
- 2.5.4) {Amamentação}: /\_/ 0-não /\_/ 1-sim /\_/ 9-IGN
- 2.5.5) {Tatuagem}/Piercing: /\_/ 0-não /\_/ 1-sim /\_/ 9-IGN
- 2.5.6) {Detenção}: /\_/ 0-não /\_/ 1-sim /\_/ 9-IGN
- 2.5.7) {Contato} com material contaminado: /\_/ 0-não /\_/ 1-sim /\_/ 9-IGN

### 3) {EX}AME {FÍSICO}:

- 3.1) Dados vitais
- 3.1.1) {linfonodos}:
- 3.1.1.1) {palpaveis V143}: /\_/  
 3.1.1.2) {quais V144}: /\_/  
 3.1.1.3) {características V145}: /\_/
- 3.1.2) {PA V132}: /\_/ /\_/ /\_/ /\_/ /\_/ mmHg
- 3.1.3) {Pulso V133}: /\_/ /\_/ /\_/ bpm
- 3.1.4) {Peso V131}: /\_/ /\_/ /\_/
- 3.2) Abdome
- 3.2.1) {V157} /\_/  
 3.2.2) {V158} /\_/ /\_/ /\_/ /\_/
- 3.3) {Ex Neurol}ogico:
- 3.3.1) {Fala V160}: /\_/
- 3.3.2) {Pares V161} cranianos: /\_/  
 3.3.2.1) qual {Nervo V162V185}: /\_/
- 3.3.3) {sensib V186}ilidade:
- 3.3.3.1) {Superf V187}icial: /\_/  
 3.3.3.2) {Profunda V187}: /\_/  
 3.3.3.3) {analgesia V188}: /\_/  
 3.3.3.4) {hipoalgesia V188}: /\_/  
 3.3.3.5) {anestesia V188}: /\_/  
 3.3.3.6) {hipoestesia V188}: /\_/  
 3.3.3.7) Topografia:
- 
- 3.3.3.8) {Posicional V189}: /\_/  
 3.3.3.9) {Palestésica V189}: /\_/
- 3.3.4) {Ref}lexo cutaneo-{abd}ominal:
- 3.3.4.1) {direito V190}: /\_/  
 3.3.4.2) {esquerdo V191}: /\_/
- 3.3.5) {Ref}lexo cutaneo-{plant}ar:
- 3.3.4.1) {direito V192}: /\_/  
 3.3.4.2) {esquerdo V193}: /\_/
- 3.3.6) {Ref}lexo {tend}íneos:
- 3.3.6.1) {bicip}ital  
 3.3.6.1.1) {direito V194}: /\_/  
 3.3.6.1.2) {esquerdo V195}: /\_/
- 3.3.6.2) {tricip}ital

- 3.3.6.2.1) {direito V196}: /\_/\_/
- 3.3.6.2.2) {esquerdo V197}: /\_/\_/
- 3.3.6.3) {radial}
  - 3.3.6.3.1) {direito V198}: /\_/\_/
  - 3.3.6.3.2) {esquerdo V199}: /\_/\_/
- 3.3.6.4) {patelar}
  - 3.3.6.4.1) {direito V200}: /\_/\_/
  - 3.3.6.4.2) {esquerdo V201}: /\_/\_/
- 3.3.6.5) {aquileu}
  - 3.3.6.5.1) {direito V202}: /\_/\_/
  - 3.3.6.5.2) {esquerdo V203}: /\_/\_/
- 3.3.7) {Força}
  - 3.3.7.1) {MSProx}imal
    - 3.3.7.1.1) {direito V204}: /\_/\_/
    - 3.3.7.1.2) {esquerdo V205}: /\_/\_/
  - 3.3.7.2) {MSDistal}
    - 3.3.7.1.1) {direito V206}: /\_/\_/
    - 3.3.7.1.2) {esquerdo V207}: /\_/\_/
  - 3.3.7.3) {MIProx}imal
    - 3.3.7.3.1) {direito V208}: /\_/\_/
    - 3.3.7.3.2) {esquerdo V209}: /\_/\_/
  - 3.3.7.4) {MIDistal}
    - 3.3.7.4.1) {direito V210}: /\_/\_/
    - 3.3.7.4.2) {esquerdo V211}: /\_/\_/
- 3.3.8) {atrofia V212} muscular /\_/\_/
- 3.3.9) {marcha 213}: /\_/\_/
- 3.3.10) {coorde}nação:
  - 3.3.10.1) {MS}
    - 3.3.10.1) {direito V214}: /\_/\_/
    - 3.3.10.2) {esquerdo V215}: /\_/\_/
  - 3.3.10.2) {MI}
    - 3.3.10.1) {direito V216}: /\_/\_/
    - 3.3.10.2) {esquerdo 217}: /\_/\_/
- 3.3.11) {Romberg V218}: /\_/\_/
- 3.3.12) {Mov}imentos {anor V219}mais: /\_/\_/

3.4. {ConclusaoV220}:  
/\_/\_/

---

#### 4) EXAMES COMPLEMENTARES

- 4.1) {Hb}: /\_/\_/\_/\_/
- 4.2) {Leuc}ócitos: /\_/\_/\_/\_/\_/\_/\_/\_/ Linfócitos: /\_/\_/\_/\_/\_/\_/\_/\_/
- 4.3) {Plaquetas}: /\_/\_/\_/\_/\_/\_/\_/\_/
- 4.4) {anti-HCV}: /\_/\_/ 0-negativo /\_/\_/ 1-positivo
- 4.5) {HbsAg}: /\_/\_/ 0-negativo /\_/\_/ 1-positivo
- 4.6) {FAN}: /\_/\_/ 0-negativo /\_/\_/ 1-positivo
- 4.8) {VDRL}: /\_/\_/ 0-negativo /\_/\_/ 1-positivo
- 4.9) {HIV}:
  - 4.9.1) {Sorologia}:
    - 1° ELISA: /\_/\_/ 0-negativo /\_/\_/ 1-positivo
    - 2° ELISA: /\_/\_/ 0-negativo /\_/\_/ 1-positivo
  - 4.9.2) {WESTERN} BLOT: /\_/\_/ 0-negativo /\_/\_/ 1-positivo
  - 4.9.3) {PCR}: /\_/\_/ 0-negativo /\_/\_/ 1-positivo
    - Se positivo,
    - 4.9.3.1) {Genótipo}: /\_/\_/ 1 /\_/\_/ 2 /\_/\_/ 3
    - 4.9.3.2) {Carga} {Viral}: /\_/\_/\_/\_/\_/\_/\_/\_/\_/\_/
  - 4.9.4) Dosagem de {CD4+}
    - 1) /\_/\_/\_/\_/\_/\_/\_/\_/
    - 2) /\_/\_/\_/\_/\_/\_/\_/\_/
- 4.10) {EPF}: 0-negativo /\_/\_/ 1-positivo
- 4.11) HTLV 1 0-negativo /\_/\_/ 1-positivo
  - 4.11.1) {ELISA}: 0-negativo /\_/\_/ 1-positivo



4.11.2) {WESTERN} BLOT: 0-negativo /\_/ 1-positivo  
 4.11.3) Carga {Pró-viral}: /\_/ /\_/ /\_/ /\_/ /\_  
 4.12) HTLV 2 0-negativo /\_/ 1-positivo  
 4.12.1) {ELISA}: 0-negativo /\_/ 1-positivo  
 4.12.2) {WESTERN} BLOT: 0-negativo /\_/ 1-positivo  
 4.12.3) Carga {Pró-viral}: /\_/ /\_/ /\_/ /\_/ /\_  
 4.13) {Ressonância} magnética: /\_/ 0-normal /\_/ 1-alterada  
 4.13.1 Descrição das  
 alterações \_\_\_\_\_

---

4.14) Citocinas  
 4.14.1 {INF}gama: /\_/ /\_/ /\_/ /\_/ /\_  
 4.14.2 {TNF}alfa: /\_/ /\_/ /\_/ /\_/ /\_  
 4.14.3 {IL2}: /\_/ /\_/ /\_/ /\_/ /\_  
 4.14.4 {IL4}: /\_/ /\_/ /\_/ /\_/ /\_  
 4.14.5 {IL5}: /\_/ /\_/ /\_/ /\_/ /\_  
 4.14.6 {IL10}: /\_/ /\_/ /\_/ /\_/ /\_  
 4.14.4 {IL12}: /\_/ /\_/ /\_/ /\_/ /\_  
 4.15) Quimiocinas  
 4.15.1 {CCL2/MCP1}: /\_/ /\_/ /\_/ /\_/ /\_  
 4.15.2 {CCL3}: /\_/ /\_/ /\_/ /\_/ /\_  
 4.15.3 {CCL5/RANTES}: /\_/ /\_/ /\_/ /\_/ /\_  
 4.15.4 {CCL11}: /\_/ /\_/ /\_/ /\_/ /\_  
 4.15.5 {CCL24}: /\_/ /\_/ /\_/ /\_/ /\_  
 4.15.6 {CXCL8/IL8}: /\_/ /\_/ /\_/ /\_/ /\_  
 4.15.7 {CXCL9/MIG}: /\_/ /\_/ /\_/ /\_/ /\_  
 4.15.8 {CXCL10/IP10}: /\_/ /\_/ /\_/ /\_/ /\_