

**BERNADETTE CORRÊA CATALAN SOARES**

**NÚCLEOS FAMILIARES INFECTADOS PELO VÍRUS LINFOTRÓPICO DE  
CÉLULAS T HUMANAS: DETERMINANTES  
EPIDEMIOLÓGICOS E GENÉTICOS**

**(BELO HORIZONTE, 1997-2005)**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
BELO HORIZONTE  
2006**

**BERNADETTE CORRÊA CATALAN SOARES**

**NÚCLEOS FAMILIARES INFECTADOS PELO VÍRUS LINFOTRÓPICO DE  
CÉLULAS T HUMANAS: DETERMINANTES  
EPIDEMIOLÓGICOS E GENÉTICOS**

**(BELO HORIZONTE, 1997-2005)**

**Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Saúde  
Pública da Faculdade de Medicina da Universidade  
Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à  
obtenção do título de Doutor em Saúde Pública (área de  
concentração em Epidemiologia)**

**Orientador: Prof. Fernando Proietti**

**Co-orientadora: Dra. Anna Bárbara Carneiro-Proietti**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
BELO HORIZONTE**

**2006**

## **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

### **Reitora**

Prof<sup>a</sup>. Ana Lúcia de Almeida Gazzola

### **Pró-Reitor**

Prof. Marcos Borato Viana

### **Pró-Reitora de Pós-Graduação**

Prof. Jaime Arturo Ramirez

### **Pró-Reitor de Pesquisa**

Prof. José Aurélio Garcia Bergmann

## **FACULDADE DE MEDICINA**

### **Diretor**

Prof. Geraldo Brasileiro Filho

## **DEPARTAMENTO DE MEDICINA PREVENTIVA E SOCIAL**

Prof<sup>a</sup>. Elza Machado de Melo

## **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE PÚBLICA**

**Coordenador** – Prof. Mark Drew C. Guimarães

**Sub-coordenadora** – Prof<sup>a</sup>. Sandhi Maria Barreto

### **Colegiado**

Prof<sup>a</sup>. Ada Ávila Assunção

Prof<sup>a</sup>. Eli Iola Gurgel de Andrade

Prof<sup>a</sup>. Elizabeth França

Prof. Fernando Augusto Proietti

Prof<sup>a</sup>. Maria Fernanda Furtado L Costa

Prof<sup>a</sup>. Mariângela Leal Cherchiglia

Prof<sup>a</sup>. Waleska Teixeira Caiaffa

### **Representante discente:**

Paulo César Rodrigues Pinto Corrêa

Elaine Leandro Machado

Roberto Marini Ladeira

Lorenza Nogueira Campos

## DECLARAÇÃO

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprovou a defesa da tese intitulada: “NÚCLEOS FAMILIARES INFECTADOS PELO VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANO: ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E LABORATORIAIS COMO PREDITORES DA EVOLUÇÃO CLÍNICA” apresentada em sessão pública pela doutoranda BERNADETTE CORRÊA CATALAN SOARES, para obtenção do título de Doutora em Saúde Pública, pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública – Área de Concentração em Epidemiologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em dez de março de 2006.

Prof. Fernando Augusto Proietti  
Orientador

Prof. Bernardo Galvão

Prof. Carlos Maurício de Castro Costa

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

Prof.<sup>a</sup> Maria Fernanda Furtado de Lima e Costa

C357	CATALAN-SOARES, Bernadette Corrêa. Núcleos familiares infectados pelo vírus linfotrópico de células T humanas: determinantes epidemiológicos e genéticos, Belo Horizonte 1997-2005 / Bernadette Corrêa Catalan-Soares. -- Belo Horizonte : Escola de Medicina / UFMG, 2006. 130 p. Tese (Doutorado) Saúde Pública Faculdade de Medicina da UFMG  1.HTLV-I e II 2. HTLV-Infecção. 3.Antígenos HLA. 4.Epidemiologia. 5.Saúde Pública .I.Título.  NLM-WC 502 NLM-QW 168.5R18
------	---

## **DEDICATÓRIA**

**Para meus filhos, Suzana e André, inspiração constante.**

## AGRADECIMENTOS

Aos participantes da pesquisa, cujos consentimentos viabilizaram esse trabalho.

A Direção da Fundação Hemominas, pela visão de que o crescimento se faz pelo ensino e pela pesquisa.

Fernando e Anna, pela experiência compartilhada e que me fez crescer.

Marina e Edel, pelo sequenciamento do vírus.

Rodrigo e Ronaldo, pela tipagem HLA.

Aos parceiros do GIPH, pelo espírito de equipe.

Simone, pela paciência na conferência de registros.

Aos amigos, pela torcida.

À minha família, pela solidariedade.

e

A Deus, pela fidelidade.

*“Aquietai-vos e sabeis que Eu sou Deus”. (Salmo 46:10)*

## **EPÍGRAFE**

**“Que quer dizer? Essa é a pergunta inicial de toda interpretação. A pergunta parte do espanto ante ao não entendido...”.**

**(Rubem Alves)**

## RESUMO

A revisão da Epidemiologia global do HTLV-I nos permitiu avaliar onde estamos em relação a vários aspectos concernentes ao vírus. Se estamos cientes da sua distribuição geográfica, com tendência à formação de aglomerados, se já compreendemos bem as formas de transmissão e doenças claramente a ele associadas (leucemia de células T do adulto e mielopatia associada ao HTLV), muito nos falta caminhar na busca de esclarecimentos sobre o papel do vírus em outras possíveis patologias, sobre os mecanismos patogénicos e sobre os fatores de risco / proteção que pudessem explicar porque a grande maioria dos infectados permanece assintomática.

As altas taxas de prevalência encontradas no estudo de familiares e parceiros sexuais estáveis de infectados sugerem agregação familiar da infecção, motivando-nos a buscar outros fatores de risco (genéticos? Ambientais?) para a infecção. Também nos alertam sobre a importância de se pesquisar a infecção em pessoas relacionadas aos infectados (mesmo assintomáticos), a fim de deter a disseminação silenciosa do vírus.

O tipo II do HTLV é menos prevalente que o tipo I, mas é encontrado com maior frequência em populações específicas (usuários de drogas injetáveis e populações nativas das Américas). Ter encontrado uma família HTLV-II em meio a uma coorte de doadores de sangue soropositivos, nos impulsionou os estudos moleculares que apontaram a evidência de transmissão vertical e horizontal na mesma família. Essas formas de transmissão são bem caracterizadas para o tipo I, mas ainda controversas para o tipo II, segundo alguns autores.

A questão mais desafiadora para pesquisadores do HTLV-I/II continua sendo o porquê a maioria dos infectados persiste como portadora assintomática. Autores japoneses apontam a possibilidade de que essa explicação resida na eficiência da resposta imune de cada indivíduo, resposta essa condicionada pelos genes HLA (antígenos leucocitários humanos). Com a tipagem HLA de famílias infectadas pelo vírus, percebemos que existem semelhanças e diferenças entre os resultados japoneses e brasileiros, sugerindo que os alelos HLA não controlam isoladamente o desfecho nos infectados.

Desde que não há tratamento para as doenças associadas ao HTLV e uma vacina não está disponível, o custo social e financeiro para o indivíduo, sua família e o sistema é imenso. Por

essa razão, intervenções em saúde pública direcionadas para aconselhamento e educação de indivíduos e populações em alto risco são de fundamental importância.

## ABSTRACT

The review of epidemiologic aspects of human T-lymphotropic virus type I let us to assess where we are. We know well about the geographic distribution of the virus and its trend to clustering; we understood the major modes of transmission and the HTLV's causative role in major disease association (adult T cell leukemia-ATL and HTLV associated myelopathy-TSP/HAM). But we still have a long way to run in search of other answers and more and better studies are needed for other apparent disease outcomes, to clarify pathogenesis and on the promoting / inhibition factors that could explain why the great majority of infected subjects remains health carriers.

The high prevalence rates found in the family studies point to family aggregation of infection, leading us to look for other distant factors (environmental? genetic?) that could contribute to this, and underline the importance of screening test for infected individual relatives and sexual partner, in order to detain HTLV silent dissemination.

HTLV type II is less prevalent than type I in Brazil, but is often found among UDI and American native population. We found a family infected with HTLV-II among a seropositive former blood donors cohort and this challenge us to molecular studies. The results point to vertical and horizontal transmission of the virus. These modes of transmission are well defined to HTLV-I but some doubts persist for type II, according some researches.

The major question related to HTLV keeps going why the great majority remains as health carriers. Japanese researches report the importance of the individual immune response conditioning the outcome in infected people. Since the efficiency of the immune answer is established by the HLA alleles, we decide to type some infected families. There were found similarities and differences among Japanese and Brazilian studies, and these results suggest HLA alleles could not control alone the disease outcome in the infected individuals.

Since there is not curative treatment of ATL and HAM/TSP and a vaccine is unavailable, the social and financial cost for the individual, his/her family and the health system is immense. For this reason, public health interventions aimed at counseling and educating high risk individuals and populations are of paramount importance.

## SUMÁRIO

<b>1. Considerações iniciais.....</b>	<b>12</b>
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>15</b>
<b>3. Artigo 1: Epidemiologia global da infecção pelo HTLV-I e doenças associadas. ....</b>	<b>16</b>
<b>3. Artigo 2: Vírus linfotrópico T humano em familiares de candidatos à doação de sangue soropositivos: disseminação silenciosa. ....</b>	<b>37</b>
<b>4. Artigo 3: Transmissão horizontal e vertical do HTLV-2 em família de área urbana no Brasil: estudo soropidemiológico, clínico e molecular. ....</b>	<b>57</b>
<b>5. Artigo 4: Perfil HLA-classe I em infectados pelo HTLV-1 em coorte brasileira. ....</b>	<b>70</b>
<b>6. Considerações finais.....</b>	<b>94</b>
<b>Apêndices.....</b>	<b>96</b>
• <b>Projeto de pesquisa</b>	
<b>Anexos.....</b>	<b>125</b>
• <b>Aprovação pelos Comitês de Ética em Pesquisa</b>	
• <b>Certificado de Qualificação</b>	
• <b>Folha de aprovação do projeto pelo Departamento</b>	

## 1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Se o que desafia um pesquisador são perguntas não respondidas sobre seu alvo de pesquisa, aqueles que se envolvem no estudo do HTLV tem motivação em boa dose.

É fato que vinte cinco anos após a identificação do tipo 1 ( o tipo 2 foi identificado dois anos após), muito se aprendeu sobre aspectos epidemiológicos, por exemplo. Hoje já se definiu a distribuição geográfica do vírus e Japão, África, ilhas do Caribe e América do Sul são as áreas de maior prevalência: o HTLV tende a se aglomerar em diferentes áreas e para essa tendência de formação de “cluster” ainda não existem explicações claras. Os modos de transmissão estão bem compreendidos: o vírus se propaga através da via horizontal (sexo, sangue contaminado) e vertical (amamentação natural); contudo, estudos sobre incidência da transmissão e sobre fatores facilitadores / inibidores ainda são necessários para esclarecimentos. Também não se sabe por que algumas pesquisas apresentam meninas sendo mais frequentemente infectadas que meninos pela via vertical. Há provas epidemiológicas da associação causal entre o vírus tipo 1 e a leucemia de células T do adulto (ATLL), a mielopatia associada ao HTLV / paraparesia espástica tropical (HAM / TSP), a uveíte associada ao HTLV (HAU) e a dermatite infecciosa. Entretanto, estudos mais profundos necessitam ser conduzidos para verificação da associação com outras patologias prováveis: doenças reumatológicas, psiquiátricas e infecciosas. O HTLV-2 apresenta em comum com o tipo 1 as formas de transmissão; difere na distribuição geográfica, nas taxas de prevalência, é mais freqüente entre populações nativas das Américas e usuários de drogas endovenosas. Muito depois de se estabelecer a relação causal das patologias supra citadas com o tipo 1 é que se começa a publicar achados de que o tipo 2 possa estar associado à doença neurológica semelhante a HAM /TSP e que possa causar uma predisposição a doenças infecciosas nos indivíduos infectados.

Mas as grandes questões residem na patogênese das doenças já claramente associadas ao vírus tipo 1: sabe-se que os infectados montam uma forte reação ao vírus, mas porque a infecção persiste a despeito dessa vigorosa resposta imune? E porque certos indivíduos infectados, na verdade a maioria deles, permanece assintomática, enquanto outros desenvolvem patologias graves? E nos que adoecem, que fator(es) definiria(m) a direção para doença neurológica ou doença hematológica?

Incomodados por essas intrigantes perguntas, um grupo de pesquisadores da Fundação Hemominas resolveu desenvolver um estudo de coorte de candidatos à doação de sangue, que a despeito de considerados aptos à triagem clínica, tiveram o vírus identificado na triagem sorológica para o HTLV-1/2, obrigatória em bancos de sangue brasileiros desde 1993. Por se tratar de uma virose crônica cujas patologias se caracterizam por longo período pré-clínico, pensamos em 20 anos de seguimento. Assim, em 1997 iniciamos o Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em HTLV (GIPH), com a parceria da Fundação Osvaldo Cruz – Instituto de Pesquisa René Rachou, do Hospital Sarah – Belo Horizonte e com o Instituto de Ciências Biológicas e Faculdade de Medicina – Departamento de Medicina Preventiva, os dois últimos da UFMG. Dezenove pesquisadores das áreas de medicina, biologia e bioquímica integram o grupo. Alguns resultados relevantes já estão publicados abordando aspectos da virologia, biologia molecular e imunologia do HTLV-1/2, bem como da área clínica, hematológica, dermatológica, oftalmológica, reumatológica, neurológica e psiquiátrica.

Quanto à abordagem epidemiológica, tivemos oportunidade de proceder a uma ampla revisão bibliográfica – “Os vírus linfotrópicos de células T humanos na última década (1990 – 2000)” e a uma verificação de fatores de risco para a infecção pelo HTLV entre doadores: “HTLV-I/II e doadores de sangue: determinantes associados à soropositividade em população de baixo risco”. Ambos os artigos fizeram parte do mestrado e estão publicados (vide anexo - produção científica).

Participamos de outro trabalho de revisão no período do doutorado. Uma edição especial da revista *Oncogene* foi toda ela dedicada a uma revisão como comemoração aos 25 anos da descoberta do HTLV-1. Do convite dos editores e juntamente com os orientadores, produzimos o artigo “Epidemiologia global da infecção pelo HTLV-1 e doenças associadas” (ARTIGO 1). Mas outros aspectos nos chamaram a atenção: considerando as formas de transmissão do HTLV e sua tendência para aglomeração, como estaria a transmissão intra-familiar? Na tentativa de verificar essas taxas, encontramos resultados interessantes para a população de doadores, seus familiares e seus parceiros sexuais estáveis: “Vírus T linfotrófico humano em familiares de candidatos à doação de sangue soropositivos: disseminação silenciosa”. (ARTIGO 2 )

Nesse estudo de familiares, na realidade um braço da coorte GIPH, identificamos uma família portadora do HTLV-2, fato não usual em pessoas vivendo em zona urbana. Pudemos

confirmar a transmissão transversal e vertical nessa família através do sequenciamento do vírus: “Transmissão horizontal e vertical do HTLV-2 em uma família de área urbana no Brasil: estudo soro epidemiológico, clínico e molecular”. (ARTIGO 3). E buscando melhor compreender questões relacionadas à patogênese, nos debruçamos sobre um estudo dos alelos HLA dos infectados e seus familiares. Seriam os haplótipos do MHC determinantes de prognóstico? Esse é o tema do quarto artigo: “Perfil HLA-classe I em infectados pelo HTLV-1 em coorte brasileira” (ARTIGO 4), ainda não submetido, aguardando avaliação crítica da banca.

Os resultados alcançados até agora servem como motivação para o aprofundamento dos estudos e pretendemos fazê-lo no seguimento da coorte.

Não existe tratamento para as graves patologias associadas ao HTLV e não existe vacina para evitar sua propagação; o custo social e financeiro para o indivíduo, sua família e o sistema de saúde é imenso. Portanto, medidas de saúde pública se tornam imprescindíveis nesse cenário, enfatizando-se a conscientização da população e intervenções para deter a transmissão.

## 2. OBJETIVOS

Sabemos que o HTLV pode causar diferentes patologias em 3 a 5% de seus portadores, e que seus sinais e sintomas podem demorar anos ou mesmo décadas para se manifestarem, caracterizando um longo período de incubação. Além disso, os mecanismos pelos quais se desencadeiam as doenças associadas ao HTLV-I ainda não estão bem esclarecidos. Desde a descoberta do vírus e a descrição das patologias associadas à infecção, as pesquisas têm sido focadas na procura de determinantes virais que possam levar à evolução para uma ou mais doenças, e que, portanto, serviriam como marcadores de risco nos portadores.

A identificação de marcadores biológicos, seja a partir de produtos virais ou do hospedeiro (HLA), que possam ser usados para avaliar a suscetibilidade à doença, prognóstico ou resposta terapêutica tem sido objeto de muitas pesquisas.

Entendemos que a avaliação transmissão intrafamiliar do vírus, associada à tipagem HLA aplicada aos núcleos familiares, se reveste de particular interesse pelos seguintes aspectos: a) número expressivo de núcleos familiares b) possibilidade de comparação entre núcleos formados por indivíduos portadores assintomáticos e núcleos contendo portadores que desenvolveram patologias associadas ao HTLV-I; c) avaliação da presença de alelos HLA interferindo na suscetibilidade para desenvolver TSP/HAM e/ou leucemia de células T do adulto, dentro dos diferentes núcleos ou de um mesmo núcleo.

Assim, consideramos como objetivos específicos desse estudo:

- a) Avaliar transmissão do HTLV-1 ou 2 nos núcleos familiares formados a partir de doadores soropositivos assintomáticos e verificar sua associação com sinais e sintomas nos infectados.
- b) Determinar e quantificar fatores associados à transmissão horizontal e vertical intrafamiliar.
- c) Determinar e quantificar fatores associados a soroconversão entre indivíduos com sorologia indeterminada, inseridos num núcleo familiar.
- d) Pesquisar alelos do antígeno leucocitário humano (HLA) em amostra de população brasileira, e verificar o seu comportamento comparado a outras populações já tipadas (japonesa). Avaliar possível associação do perfil HLA com suscetibilidade ou proteção para as patologias relacionadas ao HTLV-I.

**ARTIGO 1**

**Epidemiologia global da infecção pelo HTLV-1 e doenças associadas.**

Proietti FA, Carneiro Proietti AB, Catalan-Soares BC e Murphy E  
Oncogene (2005) 24, 6058-6068

## **Epidemiologia global da infecção pelo HTLV-I e doenças associadas**

Fernando A Proietti<sup>\*1</sup>, Anna Bárbara Carneiro-Proietti<sup>2</sup>, Bernadette C Catalan-Soares<sup>2</sup> e Edward Murphy<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>*Departamento de Medicina Preventiva e Social, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais;* <sup>2</sup>*Fundação Hemominas;* <sup>3</sup>*Universidade da Califórnia, São Francisco, CA – USA;* <sup>4</sup>*Blood Systems Research Institute, São Francisco, CA – USA.*

Aspectos epidemiológicos da infecção pelo vírus linfotrófico de células T humanas tipo I (HTLV-I) tem sido largamente estudados nesses 25 anos após a primeira descrição do vírus. A distribuição geográfica do vírus está definida, com Japão, África, ilhas do Caribe e América do Sul emergindo como áreas de maior prevalência. As razões para agregação do HTLV-I, como a alta ubiquidade no sudoeste do Japão e baixa prevalência nas regiões vizinhas da Coreia, China e Rússia oriental são ainda desconhecidas. Os principais modos de transmissão estão bem compreendidos, embora melhores dados quantitativos para verificação da incidência da transmissão e avaliação de fatores promotores / inibidores sejam necessários. Provas epidemiológicas têm sido obtidas para o papel do HTLV-I como associado a algumas doenças: leucemia de células T do adulto (ATL), mielopatia associada ao HTLV-I / paraparesia espástica tropical (HAM / TSP), uveíte associada ao HTLV-I e dermatite infecciosa. Entretanto, mais e melhores estudos são necessários para outras aparentes doenças tais como reumatológicas, psiquiátricas e infecciosas. Desde que não há tratamento para ATL e HAM/TSP e uma vacina não está disponível, o custo social e financeiro para o indivíduo, sua família e o sistema de saúde é imenso. Por essa razão, intervenções de saúde pública direcionadas para aconselhamento e educação de indivíduos e populações em alto risco são de fundamental importância.

Palavras chave: HTLV-I; epidemiologia; transmissão; distribuição geográfica.

---

## INTRODUÇÃO

Durante os últimos 25 anos a epidemiologia do HTLV-I tem amadurecido. A distribuição geográfica do vírus tem sido definida, embora algumas dificuldades persistam como a alta prevalência no sudoeste do Japão, mas baixa prevalência nas regiões vizinhas da Coreia, China e Rússia oriental, e alguns aparentes focos de infecção no Irã. Os principais modos de transmissão estão bem compreendidos, embora melhores dados quantitativos sobre a incidência da transmissão e sobre fatores promotores/inibidores sejam necessários para algumas vias de transmissão. Finalmente, provas epidemiológicas têm sido obtidas para o papel causal do HTLV-I, associado às doenças principais: leucemia de células T do adulto (ATL) e mielopatia associada ao HTLV-I / paraparesia espástica tropical (HAM/TSP) e uveíte (HAU). Entretanto, mais e melhores estudos são necessários para outras prováveis associações: artrite, pneumonia, disfunções do trato urinário e aumento da susceptibilidade a doenças infecciosas.

Essa revisão discutirá a filogenia e a epidemiologia do HTLV-I, sua prevalência pelo mundo, populações endêmicas, modos de transmissão, epidemiologia clínica das doenças associadas, e medidas de saúde pública, incluindo as preventivas. Os melhores estudos epidemiológicos do HTLV-I se baseiam em triagem sorológica para anticorpos anti-HTLV-I usando um método enzimático (EIA) e confirmando o diagnóstico por outro método, tipo Western blot, imunofluorescência (IFA) ou radio-imunoprecipitação (RIPA). Reação em cadeia da polimerase (PCR) que detecta o DNA proviral tem sido usada como teste confirmatório, para diferenciação entre o HTLV-I e o HTLV-2 e, quando usada juntamente com sequenciamento do DNA proviral ou análise de restrição do comprimento do fragmento e polimorfismo (RFLP), para subtipagem viral. Primeiramente, quando interpretando e comparando estudos internacionais de prevalência deve-se estar alerta para diferenças na idade, gênero e perfis de risco na população estudada. Em segundo lugar, os primeiros testes de EIA tinham especificidade menor, especialmente na década de 80. Em terceiro lugar, até os anos 90, a maioria dos testes sorológicos não distinguia entre HTLV-I e reação cruzada com anticorpos para o HTLV-2; nesses casos os resultados apresentam o termo HTLV-I/II. Finalmente, existe um fenômeno biológico de falso-positividade, particularmente na África, com EIAs reativos e padrões indeterminados para W blot, que podem ser falsamente interpretados como positivos (Mauclere et al., 1997). Esse fenômeno tem sido atribuído a possível reação cruzada com antígenos da malária (Mathieux et al., 2000).

## **Epidemiologia global do HTLV-I**

### *Filogenia e epidemiologia molecular*

A despeito da freqüente taxa de replicação dos retrovírus e do alto nível de provírus nos linfócitos infectados, o HTLV-I apresenta baixa variabilidade na seqüência tanto intra como inter indivíduos (Gessain et al., 1992). Esse aparente paradoxo tem sido postulado com devido à expansão clonal dos linfócitos infectados pelo HTLV-I (Wattel et al., 1995). Depois de um curto período de replicação mediada pela transcriptase reversa, logo após a infecção, a multiplicação do provirus ocorre predominantemente via expansão clonal dos linfócitos infectados, do que pela produção de novos virions. HTLV-I tem sido classificado em vários subtipos, baseado em diferenças na seqüência do DNA proviral de do gen env e da região do terminal longo de repetição (LTR) de isolados humanos, embora a última forma de classificação tenha precedentes na menor pressão de seleção nas seqüências não codificantes do LTR. (Slatery et al., 1999). Subtipos publicados do HTLV-I incluem o subtipo A, também chamado subtipo cosmopolita, o qual inclui a seqüência do protótipo do HTLV-I do Japão (Seiki et al., 1982) e é encontrado em muitas áreas endêmicas no mundo; subtipo B, D e F da África central; subtipo E da África central e do sul (Slatery et al., 1999); e subtipo C da Melanésia (Gessain et al., 1991; Sherman et al., 1992). As seqüências do HTLV-I também podem ser comparadas aos isolados de vírus linfotrópico de símios (STLV-I) isolados de espécies de primatas não humanos (Vandamme et al., 1994). Para a maioria dos subtipos, isolados STLV-I da mesma região geográfica forma aglomerado (cluster) próximo com o HTLV-I humano, sugerindo múltiplos episódios de transmissão de macacos para humanos e uma provável origem africana para o HTLV-I (Koralnik et al., 1994; Vandamme et al., 1994). A similaridade na seqüência entre HTLV-Ic e STLV-I isolada da *Macaca arctoides* na Melanésia é um exemplo desse fenômeno (Mathieux et al., 1997).

A baixa variabilidade na seqüência proviral do HTLV-I, somada às relativamente recente (algumas centenas de anos) migrações de indivíduos infectados, podem explicar a natureza verdadeiramente cosmopolita do subtipo Ia. Sua larga difusão geográfica parece ter ocorrido nos séculos passados com as viagens de descobertas dos europeus, o tráfico de escravos ou outras migrações humanas (Koralnik et al., 1994; Vandamme et al., 1994). Essa situação é bem diferente par o HTLV-II, para o qual distintos subtipos têm sido associados a populações específicas: subtipo HTLV-2c entre os índios brasileiros e usuários de drogas (Eiraku et al.,

1996), ou com comportamentos de risco, como o caso do subtipo HTLV-2a predominante entre pessoas negras mais idosas e entre usuários de drogas na América do Norte (Murphy et al., 1998; Liu et al., 2001). Apesar dessas interessantes observações, a tipagem molecular do HTLV-I tem desempenhado um papel relativamente pequeno nos estudos epidemiológicos do vírus, já que a grande maioria das infecções humanas causadas até hoje é pelo subtipo cosmopolita (subtipo A). Por outro lado, discretos aglomerados nas seqüências do LTR podem ser observados dentro do subtipo A em isolados da África, Brasil e Japão (Slatery et al., 1999) Interessante observar que isolados humanos de locais diversos como ilhas do Caribe, Japão, Chile, Irã e Kuwait estão relacionados bem próximo nas árvores filogenéticas baseadas na seqüência LTR (Gessain et al., 1992). A baixa variabilidade da seqüência proviral do HTLV-I limita o uso da tipagem molecular como prova de transmissão sexual ou vertical entre indivíduos ligados epidemiologicamente. Nem mesmo a ocorrência de ATL ou HAM/TSP está associada ao subtipo nos indivíduos infectados (Ehrlich et al., 1992; Gessain et al., 1992).

#### *Prevalência por região geográfica*

Embora não se conheça o número exato de indivíduos infectados pelo HTLV-I no mundo, estima-se que 15 a 20 milhões de pessoas vivem com a infecção (de The e Kazanji, 1996). As taxas de soroprevalência diferem, de acordo com a área geográfica, a composição sócio-demográfica da população estudada e os comportamentos de risco individuais. Por exemplo, taxas de prevalência muito altas como 37% foram reportadas em populações selecionadas no sudoeste do Japão (Yamaguchi, 1994; Mueller et al., 1996), em contraste com prevalências muito baixas de doadores de sangue franceses (Courouce et al., 1993). Entretanto, informações sobre taxas de soroprevalência em amostras representativas da população são raras. A maioria dos dados sobre soroprevalência é de estudos feitos em população de baixo risco como doadores de sangue ou grupos selecionados (gestantes, pacientes com doenças neurológicas ou hematológicas, familiares de pessoas infectadas, nativos, usuários de drogas e trabalhadoras do sexo), que certamente não representam a população geral (Mueller, 1991; Ferreira et al., 1997; Manns et al., 1999).

Em geral, taxas de prevalência elevadas na população geral ou em grupos específicos, como gestantes e candidatos à doação de sangue, são encontrados no sudoeste do Japão (mais de 10%) (Yamaguchi, 1994; Mueller et al., 1996), vários países do Caribe, incluindo Jamaica e

Trinidad (em torno de 6%) (Hanchard et al., 1990; Murphy et al., 1991) e em vários países da África sub-Saara, como por exemplo, Benin, Camarões e Guiné Bissau (5%) (Dumas et al., 1991; Gessain and de The, 1996; Andersson et al., 1997; Sarkodie et al., 2001) e áreas localizadas do Irã e Melanésia (menos de 5%) (Mueller, 1991; Manns et al., 1999). Taxas um pouco mais baixas são encontradas em países da América do Sul (Castillo et al., 2000; Carneiro-Proietti et al., 2002; Kazanji e Gessain, 2003; Catalan-Soares et al., 2004; Pouliquen et al., 2004). Dados da Argentina, Brasil, Colômbia e Peru são em sua maior parte restritos a doadores de sangue (em torno de 1-2% de soropositividade para HTLV-I/II) (Galvão-Castro et al., 1997; Kazanji e Gessain, 2003; Leon et al., 2003; Sanchez-Palacios et al., 2003; Gastaldello et al., 2004), mulheres grávidas e população nativa específica (Ishak et al., 2003), bem como UDI do Brasil. Para áreas não endêmicas como Europa e América do Norte, a infecção pelo HTLV-I é encontrada principalmente entre imigrantes provenientes de áreas endêmicas, seus filhos e contatos sexuais, entre trabalhadoras do sexo e UDI. Para doadores de sangue na América do Norte e Europa, a soroprevalência é muito baixa, por exemplo, 0,01-0,03% nos EUA e Canadá (Willians et al., 1988; Murphy et al., 1991; Chiavetta et al., 2003), 0,002% na Noruega (Stigum et al., 2000) e 0,0054% na Grécia (Tselieu et al., 2003). Dados de estudos com gestantes podem melhor refletir as taxas de prevalência da população geral. Taxas de prevalência para HTLV-I e II foram seis vezes mais elevadas em mulheres grávidas que em doadores de sangue no Reino Unido (Taylor et al., 2005). Um estudo de 6754 mulheres grávidas em Salvador, Brasil, encontrou 0,84% de soropositividade (Bittencourt et al., 2001).

#### *Fatores de risco e rotas de transmissão – contexto individual e social*

Vários comportamentos individuais e exposições têm sido associados com a soropositividade para HTLV-I, correspondendo aos modos de transmissão conhecidos: da mãe para a criança, principalmente através da amamentação natural; via sexual e via parenteral por transfusão de produtos celulares infectados ou compartilhamento de seringas e agulhas (Manns et al., 1999). Embora os mecanismos biológicos de transmissão ainda necessitem de esclarecimentos, células infectadas parecem ser essenciais para a transmissão, se a exposição ao vírus é através de sangue, contato sexual ou amamentação. Nas áreas endêmicas para o HTLV-I a infecção tende a se aglomerar em familiares e vizinhos e um declínio na soroprevalência é observado nas gerações subseqüentes das pessoas que migram de áreas endêmicas para áreas não

endêmicas. (Miller et al., 1994). Essas observações sugerem fortemente a presença de cofatores biológicos ou sociais influenciando a transmissão (Maloney et al., 1991).

A transmissão materno-infantil ocorre em 20% dos filhos das mães infectadas e tem sido relacionada à carga proviral da mãe, altos títulos de anticorpos e amamentação prolongada (Kinoshita et al., 1984; Ureta-Vidal et al., 1999). Infecção pós-natal pela amamentação parece desempenhar o papel principal na transmissão vertical. Triagem para o HTLV-I no pré-natal no Japão, seguida de aconselhamento às mulheres soropositivas para evitar a amamentação levou a significativa redução das taxas de infecção entre crianças amamentadas artificialmente (mamadeira) e amamentadas naturalmente (Hino et al., 1997). Outras formas de transmissão materno-infantil, como por exemplo, intrauterina ou peri-parto, parecem ser menos importantes (Fujino e Nagata, 2000) e pode ser impedida pela apoptose de células placentária induzida pelos anticorpos anti-HTLV-I (Fujino et al., 1999). Transmissão através da saliva também é possível, já que o DNA proviral e anticorpos anti-HTLV-I são detectáveis na saliva, mas até o momento não existe clara evidência da transmissão através desse modo (Fujino e Nagat, 2000).

Assim como outras infecções sexualmente transmissíveis, a soropositividade para o HTLV-I está associada com sexo sem proteção, múltiplos parceiros sexuais, presença de ulcerações genitais e sexo pago (Batholomew et al., Catalan-Soares et al., 2003; Belza, 2004). Estudos transversais tem postulado maior eficácia na direção homem-mulher que na inversa (Kajiyama et al., 1986; Murphy et al., 1989a; Larsen et al., 2000). Entretanto, estudos prospectivos têm apresentado resultados mesclados, um deles mostrando maior eficácia na transmissão homem-mulher (Stuver et al., 1993) e dois outros não encontrando diferença de eficácia de transmissão no sentido homem-mulher ou mulher-homem (Figueroa et al., 1997; Roucoux et al., 2005).

Exposição intravenosa ao sangue parece ser a via mais eficaz de transmissão do HTLV-I. No passado isso ocorria principalmente através da transfusão de sangue não testado para o HTLV-I (Okochi et al., 1984; Manns et al., 1992). A maioria dos estudos epidemiológicos relata a transfusão no passado como importante fator de risco para soropositividade para o HTLV-I (Murphy et al., 1996; Schreiber et al., 1997). Risco maior está associado a transfusão de concentrado de hemácias, sangue total e plaquetas, quando comparadas com plasma (Manns et al., 1992) e conservação no frio diminui o risco de transmissão, possivelmente

devido à destruição dos linfócitos infectados (Donegan et al., 1990). O risco de soroconversão após uma transfusão com sangue contaminado varia de 40 a 60%, com um intervalo de tempo de 51-56 dias após a transfusão (Okochi et al., 1984; Manns et al., 1992). Aquisição do HTLV-I pode estar associada ao desenvolvimento de HAM/TSP, algumas vezes após um período de incubação muito curto (Osame et al., 1986a; Gout et al., 1990).

Durante os passados 20 anos, teste de triagem para o HTLV-I/II foi implementado em vários países (Japão, Estados Unidos, Canadá, Brasil e vários países da Europa). Essa importante medida de saúde pública está excluindo indivíduos soropositivos do pool de doadores e tem resultado em menor taxa de infecção entre receptores de hemocomponentes e numa diminuição no número de novas infecções na população geral (Osame et al., 1986a; Taylor, 1996).

Compartilhamento de agulhas e seringas pelos UDI é outra importante via parenteral de transmissão do HTLV-I e II (Feiga et al., 1991; Khabbaz et al., 1992). HTLV-II parece ser muito mais prevalente que o HTLV-I em UDI da América do Norte e Europa, presumivelmente devido a uma mal compreendida epidemia nos anos 60 e 70 (Lee et al., 1989, 1990; Murphy et al., 1998; Liu et al., 2001). Entretanto, HTLV-I é prevalente entre UDI no Brasil (Etzel et al., 2001) e Nova York (Ehrlich e Poiesz, 1988; Lee et al., 1990).

Na maioria das áreas endêmicas e mesmos nas não endêmicas, as taxas de soroprevalência do HTLV-I são fortemente dependentes de sexo e idade, aumentando com a idade e sendo mais altas nas mulheres (Kajiyama et al., 1986; Murphy et al., 1991; Mueller et al., 1996). A maior prevalência com a idade pode ter várias explicações: o acúmulo de novas soroconversões de indivíduos que se convertem ao longo da vida; um efeito idade-coorte devido ao declínio na prevalência do HTLV-I nas últimas décadas; ou soroconversão tardia de infecção adquirida mais cedo na vida (Blattner et al., 1986; Murphy et al., 1991). A última explicação não encontra apoio em dados biológicos. Maior prevalência em mulheres pode ser devida à maior eficácia de transmissão na direção homem-mulher durante o relacionamento sexual; também, efeitos hormonais podem desempenhar um papel na susceptibilidade das mulheres (Chavance et al., 1990; Nakashima et al., 1995; Kaplan et al., 1996). A dinâmica da infecção pelo HTLV-I pode diferir entre países e variação nos hábitos sexuais (uso de preservativos com mais frequência) ou práticas de amamentação (duração) podem contribuir para a heterogeneidade nas taxas de prevalência. Por outro lado, apesar das desigualdades nas taxas de prevalência

absoluta no Japão, Jamaica e EUA, esses países mostram o mesmo padrão de variação com idade e sexo (Murphy et al., 1991, 1999; Mueller et al., 1996).

Vários estudos têm relatado que indicadores de baixo status sócio-econômico como educação, estão associados com infecção pelo HTLV-I em áreas endêmicas e não endêmicas (Murphy et al., 1991, Schreiber et al., 1997; Manns et al., 1999; Catalan-Soares et al., 2003; Sanchez-Palacios et al., 2003). Esses dados sugerem que fatores sociais e ambientais associados com a pobreza podem influenciar a transmissão do HTLV-I tanto em países endêmicos como através do mundo (Mueller et al., 1986; Maloney et al., 1991). Semelhantemente, países endêmicos para HTLV-I (à exceção do Japão) têm menor renda *per capita* e tem de lidar com o peso da maior prevalência e das doenças associadas ao HTLV-I com menos recursos que os países mais desenvolvidos.

## **Epidemiologia clínica das doenças associadas ao HTLV-I**

### *História da associação das doenças ao HTLV-I*

HTLV-I foi o primeiro retrovírus ligado à doença humana. Tem sido claramente associado à leucemia / linfoma de células T do adulto (ATL) (Poiesz et al., 1980; Hinuma et al., 1981; Miyoshi et al., 1981b; Yoshida et al., 1984; Takatsuki et al., 1985a, b), HAM/TSP (Cruikshank, 1956; Gessain et al., 1985; Rodgers-Johnson et al., 1985; Osame et al., 1986; Rodgers, 1965), uveíte (Pinheiro, 1990, 1995; Mochizuki et al., 1992) e dermatite infectiva (LaGrenade et al., 1990). HTLV-I tem sido também ligado a casos de polimiosite (Inose et al., 1992; Beilke et al., 1996), sinovite (Sowa, 1992), tireoidite (Kawai et al., 1992), e pneumonia bronco alveolar (Kimura, 1992) embora provas epidemiológicas definitivas da associação ainda faltem. As duas maiores doenças associadas ao HTLV-I, ATL e HAM/TSP estão presentes em todas as áreas endêmicas, embora as taxas de prevalência e incidência mostrem heterogeneidade geográfica significativa.

**Tabela 1. Doenças associadas com a infecção pelo HTLV-I (adaptada de Mathieux R e Gessain, 2003)**

Doença no adulto	Associação
ATL	++++

HAM/TSP	++++
Uveíte (freqüente no Japão)	++++
Dermatite infectiva	+++
Polimiosite	++
Artrite associada ao HTLV-I	++
Pneumonia infiltrativa	++
Síndrome de Sjogren	+
<i>Doença na criança</i>	<b>Associação</b>
Dermatite infectiva (freqüente na Jamaica)	++++
HAM/TSP (rara)	++++
ATL (muito rara)	++++
<b>Linfoadenopatia persistente</b>	+

++++, associação provada; +++, associação provável; ++ e + associação possível.

Interesse em possível associação de retrovíroses com tumores levou a esforços concentrados para detectar a enzima transcriptase reversa no sangue e tecidos de pacientes onco-hematológicos e isso resultou na identificação do HTLV-I como o causador de ATL (Gallo, 1973; Poiesz et al., 1980; Hinuma et al., 1981; Miyoshi et al., 1981a). A força da associação e doenças (Tabela 1) é baseada em estudos epidemiológicos, bem como em dados virológicos e moleculares, modelos animais, pesquisas clínicas (Mathieux e Gessain, 2003). Pesquisas em andamento focam nas razões porque só um pequeno percentual (cerca de 5%, dependendo da área) de indivíduos infectados pelo HTLV-I desenvolve doenças enquanto a vasta maioria permanece assintomática.

#### *Leucemia de células T do adulto*

ATL foi primeiro relatada em Kyoto, principalmente em pacientes do sudoeste do Japão em 1977 (Uchiyama et al., 1977) e a maior série de casos descrevendo o espectro clínico da ATL vem do Japão (Shimamoto e Yamaguchi, 1992; Yamagishi e Watanabe, 2002). Poucos anos mais tarde, foi descrito nos imigrantes caribenhos vivendo no Reino Unido (Catovsky et al., 1982) e mais tarde relatada em outras áreas endêmicas, incluindo a região do Caribe (Gibbs et al., 1987, Hanchard, 1996), África (Fouchard et al., 1998) e América do Sul (Matutes et al.,

1994; Gerard et al., 1995). Após a descrição inicial de ATL (Takatsuki et al., 1977) a tendência à formação de cluster em certas faixas etárias em áreas localizadas no sudeste do Japão levou os pesquisadores japoneses a pensar que a doença maligna poderia ser induzida por vírus. Doença maligna da célula T foi reconhecida como sendo uma das mais comuns entre doenças linfoproliferativas em certas regiões do Japão. Seguindo a descoberta do HTLV-I e o desenvolvimento de reagentes para testes sorológicos, foi demonstrado que tanto ATL como o vírus eram endêmicos em áreas de alta prevalência de HTLV-I (Mueller et al., 1996; Yamagushi e Watanabe, 2002) Anticorpos anti-HTLV-I foram encontrados em mais de um milhão de indivíduos e mais de 700 casos tem sido diagnosticados no Japão somente, a cada ano (Yamagushi e Watanabe, 2002).

A associação entre HTLV-I e ATL foi provada por: (1) estudos epidemiológicos que demonstraram a correspondência geográfica de ATL e HTLV-I; (2) estudo de clonalidade das células leucêmicas; (3) demonstração de infecção *in vitro* do linfócito T pelo vírus; (4) capacidade oncogênica em modelos animais; (5) presença de anticorpos em 80-90% nos casos de ATL; (6) habilidade de cultivar HTLV-I a partir de células de ATL; (7) detecção de provirus HTLV-I integrado na célula leucêmica (Blattner, 1990).

O risco de doenças associadas ao HTLV-I entre os portadores difere bastante de acordo com a área geográfica e segundo outras características. Apesar de vasta distribuição pelo mundo, dados relativos à incidência de ATL e taxas de prevalência são escassos e os números relatados podem estar subestimados, especialmente para os linfomas. O rápido curso da doença, a diferenciação diagnóstica com doenças semelhantes e a dificuldade de confirmação diagnóstica em países menos desenvolvidos sugerem uma maior ocorrência da ATL no mundo. A incidência acumulada de ATL entre os infectados é estimada em 1-5% para ambos os sexos nas áreas endêmicas (Murphy et al., 1986b).

ATL ocorre principalmente em adultos, pelo menos 20-30 anos após a infecção pelo HTLV-I; indivíduos infectados na infância (transmissão vertical) podem estar em maior risco para desenvolver ATL (Pawson et al., 1998). Embora ATL se manifeste tipicamente em pacientes na 5.<sup>a</sup> década no Japão (Takatsuki et al., 1996) em séries jamaicanas e brasileiras, pacientes tendem a apresentar a doença na 4.<sup>a</sup> década, o que é sugestivo de outros cofatores locais desempenhando um papel na ocorrência da doença (Gibbs et al., 1987; Pombo-de-Oliveira et

al., 1998), embora os últimos achados sejam complicados pela alta miscigenação da população brasileira..

Fatores de risco epidemiológicos para ATL foram estudados na coorte de Miyazaki e foi demonstrado que portadores com altos títulos e baixa reatividade anti-Tax podem estar em maior risco de ATL (Hisada et al., 1998). ATL é associada com infecção vertical principalmente através da amamentação natural (Wilks et al., 1996). Embora a infecção pelo HTLV-I através de transfusão de hemocomponentes seja considerada como risco para HAM/TSP, casos de ATL pós-transfusão são excepcionais (Bartholomew et al., 1998; Pombo-de-Oliveira et al., 2001). Assim, prevenção da transmissão vertical poderia resultar em diminuição significativa de doença maligna associada ao HTLV-I. Vários estudos mostraram a presença de infestação pelo *Strongyloides stercoralis* (SS) na ATL aguda ou linfoma; co-infecção com SS, através da indução da proliferação clonal dos linfócitos infectados pelo HTLV-I e alta carga proviral, podem ser cofatores no processo de leucemogênese induzido pelo HTLV-I (Gabet et al., 2000).

A patogênese da ATL e os determinantes para a progressão da doença estão apenas parcialmente descritos e podem estar relacionados com variantes genéticas do vírus, com o hospedeiro (alelos do HLA) ou ambiente (modo, dose ou idade da infecção) (Slatery et al., 1999; Plancoulaine et al., 2000; Yashiki et al.; Barmak et al., 2003). A herança genética, incluindo o genótipo dos antígenos leucocitários humanos (HLA), e a carga proviral do HTLV-I, parece serem importantes para predizerem o risco de doença entre os portadores do vírus (Usuku et al., 1998; Bangham, 2003). A herança genética de portadores do HLA (índios nativos da América do Sul e indivíduos vivendo nos Andes e em terras baixas de Orinoco) foi investigada os resultados sugerem que haplótipos do HLA podem estar etnicamente segregados e podem estar envolvidos em susceptibilidade à infecção pelo HTLV-I (Fujiyoshi et al., 1995).

Altos níveis de carga proviral podem estar associados às doenças; entretanto, fatores de risco para esses altos níveis são incertos (Takenouchi et al., 2003; Murphy et al., 2004a). Os anticorpos anti-HTLV-I podem decrescer com idade mais avançada, enquanto a quantidade do provirus permanece estável, mas a média da carga proviral não difere em diferentes idades e permanece estável no indivíduo através dos anos (Yashiki et al., 2001). Embora estudos desenvolvidos na Jamaica confirmem que a carga proviral do HTLV-I esta fortemente

correlacionada com o status da doença pelo HTLV-I, eles não confirmaram a correlação entre doença e presença / ausência do HLA-A\*02 (Li et al., 2003).

ATL tem um espectro de doença geralmente classificado em quatro formas: aguda, crônica; smoldering e linfoma. A forma aguda da ATL representa 55-75% de todas ATL (Hanchard et al., 1990; Yamagushi et al., 1990), e as formas crônicas e cutâneas representam outros 25%. Essas formas diferenciadas parecem ser mais frequentes no Japão e vários autores especulam se o reconhecimento precoce e diagnóstico poderiam explicar o fato. Sem tratamento ATL aguda é invariavelmente rápida e fatal, com complicações pulmonares, infecções oportunistas e septicemia emergindo como principal causa de morte. Hipercalcemia incontrolada também contribui para a fatalidade. O linfoma associado ao HTLV-I pode se apresentar na ausência de envolvimento do sangue ou medula em 10-15% dos casos de ATL. Quimioterapia convencional, ativa contra outras doenças malignas linfóides, é ineficaz no tratamento das formas agressivas de ATL. Assim, o tratamento da ATL tem se tornado o alvo de vários estudos clínicos com o objetivo de melhorar os resultados terapêuticos. Pacientes com as formas *smoldering* e crônica tem um curso diferente, geralmente assintomático e não existe evidência de que tratamento agressivo traga algum benefício (Ishikawa, 2003).

#### *HAM/TSP: manifestações neurológicas da infecção pelo HTLV-I*

Uma interessante seqüência de eventos levou à associação do HTLV-I e HAM/TSP. Observações clínicas em Martinica e Jamaica revelaram prevalências pouco comuns de paraplegia espástica em serviços de neurologia. Pacientes eram acometidos de um processo debilitante caracterizado por início lento de paraparesia espástica associada com distúrbios esfinterianos e vários graus de disfunção proprioceptiva e sensorial (Cruikshank, 1956; Rodgers, 1965).

Os primeiros estudos de soroprevalência na Martinica, e logo depois na Jamaica e no Japão, indicaram que anticorpos anti-HTLV-I estavam presentes em proporção muito elevada em pacientes com essa síndrome (Rodgers, 1965; Gessain et al., 1985; Rodgers-Johnson et al., 1985; Osame et al., 1986a).

A desordem, mais tarde chamada HAM/TSP por um grupo de trabalho da OMS, é caracterizada por uma paraparesia espástica de lenta progressão. A apresentação simultânea

de ATL em pacientes com HAM/TSP e vice-versa foi também relatada (Kawai et al., 1989; Freitas et al., 1997; Gonçalves et al., 1999; Kasahata et al., 2000). HTLV-I tem sido apontado como causador de HAM/TSP através de uma linha de evidências: (1) HTLV-I tem sido isolado do líquido de pacientes com HAM/TSP (Bhagavati et al., 1988); (2) síntese intratecal de anticorpos anti-HTLV-I pode ser detectado em alguns pacientes (Gessain et al., 1988); (3) genoma viral pode ser detectado nos tecidos envolvidos pela reação da PCR e por hibridação *in situ* (Iannone et al., Lehki et al., 1995); e (4) HAM/TSP desenvolve-se após transfusão de doadores soropositivos para HTLV-I em receptores soronegativos (Gout et al., 1990).

HAM/TSP tipicamente desenvolve em até 4% das pessoas infectadas, em mulheres com maior frequência que nos homens (Orland et al., 2003). Há pacientes que desenvolvem a doença na 1.<sup>a</sup> década de vida (McKhann et al., 1989; Quintas et al., 2004); entretanto, a maioria dos indivíduos tem o diagnóstico na 4.<sup>a</sup> ou 5.<sup>a</sup> década de vida. Evidências epidemiológicas sugerem que a transmissão sexual do HTLV-I é a principal via de transmissão levando ao desenvolvimento posterior de HAM/TSP. Essa teoria é apoiada pela predominância de HAM/TSP no sexo feminino (Maloney et al., 1998) e pela atividade sexual iniciada mais cedo nos pacientes com HAM/TSP quando comparados com portadores assintomáticos (Kramer et al., 1995). Raros casos, geralmente com curto período de incubação, têm sido relatados após infecção pelo HTLV-I adquirida pós-transfusão de hemocomponentes (Osame et al., 1986a; /gout et al., 1990).

HAM/TSP é caracterizada patologicamente por infiltração parenquimatosa da substância branca e cinzenta por células mononucleares da medula espinhal torácica, resultando em severa degeneração e fibrose da substância branca (Iwasaki, 1990). Parece ser causada por uma resposta imunológica à infecção pelo HTLV-I em um subconjunto dos indivíduos cronicamente infectado pelo retrovírus. Alguns estudos sugerem que a resposta imune específica para o HTLV-I desempenha papel crítico na patogênese de HAM/TSP (Sonoda, 1990; Jeffery et al., 1999). Influência dos alelos da classe I e II do MHC na resposta imune e a possibilidade de um perfil HLA que possa ser protetor ou, ao contrário, aumente a susceptibilidade para doenças associadas ao HTLV-I tem sido avaliadas em alguns estudos (Sonoda, 1990; Nakane et al., 2000; Yashiki et al., 2001). Além disso, um estudo examinando células mononucleares de sangue periférico para procura de mRNA das regiões *tax*/*rex* através de hibridização *in situ* em pacientes com HAM/TSP e seus parceiros(as) revelou maior número de mRNA- HTLV-I em mulheres parceiras de pacientes com HAM/TSP

(Beilke et al., 1991). O risco de desenvolver HAM/TSP é, pelo menos em parte, relacionado com a carga proviral (Takenouchi et al., 2003).

Tratamento para HAM/TSP tem incluído corticóide, outras medicações imunossupressivas, altas doses de vitamina C e interferon, além de medidas de suporte associadas aos antiespasmódicos e fisioterapia. Entretanto, nenhum desses tratamentos é satisfatório e estudos clínicos buscando novas abordagens são necessários.

#### *Uveíte, artrite e outras doenças auto-imunes.*

Além da associação confirmada entre HTLV-I com ATL e HAM/TSP, um espectro de condições reumatológicas associadas ao retrovírus tem sido descrito, nas quais o genoma e/ou proteínas virais tem sido detectadas nos tecidos alvos. Entre essas podemos citar uveíte, polimiosite, pneumonia bronco-alveolar, tireoidite auto-imune e artrite (Iijichi et al., 1990; Iwakura et al., 1991; Eguchi et al., 1992, 1996; Inose et al., 1992; Kawai et al., 1992; Kimura, 1992; Mochizuki et al., 1992; Sowa, 1992; Pinheiro et al., 1995; Beilke et al., 1996). Entretanto, com exceção da uveíte associada ao HTLV-I, associações epidemiológicas entre HTLV-I e doenças auto-imunes ainda necessitam de mais evidências.

Em casos de uveíte associada ao HTLV-I (Mochizuki et al., 1992) a seqüência viral do HTLV pode ser detectada no vítreo juntamente com grande número de linfócitos infectados pelo HTLV-I, quando comparado com o sangue periférico (Ono et al., 1998). A taxa de soroprevalência do HTLV-I de 35,4-44,8% foi encontrada em pacientes com uveíte de etiologia desconhecida no sudoeste do Japão, percentual bem mais elevado do que o da população local (Mochizuki et al., 1992). Em estudos em outras áreas soropositividade mais baixa foi encontrada (Goto et al., 1994; Pinheiro et al., 1996; Yamamoto et al., 1999).

Investigadores japoneses foram os primeiros a relatar casos de artrite ocorrendo em pacientes infectados pelo HTLV-I, algumas vezes simultaneamente com HAM/TSP; e um estudo epidemiológico nos EUA relatou um excesso de artrite entre soropositivos para HTLV-I quando comparados com controles soronegativos (Murphy et al., 2004b). Um modelo usando rato transgênico tem apoiado o papel do HTLV-I na artrite crônica (Yakova et al., 2005).

Doenças auto-imunes concorrentes, incluindo polimiosite, doença de Graves, artrite e HAM/TSP, têm sido descritas em várias séries de casos. De fato, HTLV-I tem sido associado com a síndrome da conjuntivite seca e tem também sido detectado em biópsias de polimiosites, em fluido bronco alveolar de alveolites e em líquido sinovial de casos de artrites. Na maioria desses casos, a seqüência proviral do HTLV-I pode ser detectada prontamente enquanto a expressão do antígeno viral é baixa ou ausente em áreas com extensa infiltração linfocitária. Evidências sugerem que restrição da expressão gênica viral pelas células apresentadoras de antígenos nos tecidos afetados, desencadeia uma vigorosa resposta imune CD4+ e CD8+ direcionada contra a região tax do HTLV-I ou algum outro produto gênico (McCallum et al., 1997; Sugaya et al., 2002).

### *Doenças infecciosas*

Diversas doenças oportunistas têm sido documentadas juntamente com a ATL. Essas incluem infecção pelo *Pneumocystis carinii*, aspergilose pulmonar, pneumonia por citomegalovirus (CMV), herpes zoster disseminado, *Cryptococcus neoformans*, *Mycobacterium avium-intracellulare* e síndrome da super infecção pelo *Strongyloides stercoralis* (Takatsuki et al., 1985a, b). Alguns portadores do HTLV-I sem ATL também parecem ter imunodeficiência associada com um risco aumentado para certas complicações de doenças infecciosas, incluindo estrogiloidiase. (Marsh, 1996; Hayashi et al., 1997; Satoh et al., 2002). Infectados pelo HTLV-I em áreas de alta endemicidade para SS devem fazer exames de fezes freqüentes, embora não exista uma orientação formal a esse respeito. Outras doenças associadas ao HTLV-I incluem relatos isolados de sarna norueguesa, molusco contagioso disseminado, histoplasmose extra-pulmonar (Marsh, 1996). Finalmente, infecções de pelo por estafilococos e estreptococos são freqüentes na síndrome da dermatite infectiva (LaGrenade, 1996), descrita na Jamaica em associação com infecção pelo HTLV-I em crianças. Essa síndrome foi a primeira manifestação pediátrica associada ao HTLV-I (LaGrenade et al., 1990). Fatores sócio-econômicos ou genéticos podem contribuir para o desenvolvimento da dermatite infectiva, pois não foi encontrada em áreas endêmicas do Japão.

### **Prevenção: intervenções de saúde individuais e públicas**

O impacto das doenças associadas ao HTLV-I no indivíduo e em sua comunidade é frequentemente devastador. Não existe vacina preventiva; e o prognóstico da ATL e HAM/TSP é pobre, em termos de sobrevivência e de qualidade de vida. Para HAM/TSP, doença progressiva de longa duração, o custo financeiro para o indivíduo sua família e o sistema de saúde pode ser imenso. Nesse sentido, intervenções de saúde pública tais como aconselhamento e educação dos indivíduos e comunidades em alto risco, são fundamentais.

Triagem de doadores de sangue tem mostrado ser uma estratégia eficiente na prevenção da transmissão do HTLV-I. Muitos países em áreas endêmicas tem implementado essa triagem sistemática e permanente de todos os doadores. Para áreas não endêmicas, relatos mostraram que o risco da infecção pelo HTLV-I pode estar aumentado em alguns grupos selecionados de doadores, recomendando a implementação de política de recrutamento seletivo (Price et al., 2001). Entretanto, devido aos altos custos de kits importados, outras estratégias para triagem de doadores devem ser desenhadas e avaliadas para países em desenvolvimento. Transfusão de sangue ainda representa um risco para infecção pelo HTLV-I em muitos países da África, como também para outras áreas menos desenvolvidas que não possuem políticas públicas apropriadas e infra-estrutura para serviços de transfusão (Mbanya et al., 2003).

Prevenir a transmissão materno-infantil terá provavelmente o mais significativo impacto na redução das doenças associadas ao HTLV-I. Triagem para HTLV-I no pré-natal deve ser implementada em áreas geográficas específicas, combinadas com aconselhamento de mães soropositivas em relação à transmissão do vírus através da amamentação natural (Hino et al., 1997). Entretanto, em muitas áreas endêmicas, a interrupção da amamentação natural pode ter impactos na saúde pessoal e na saúde pública, tais como desnutrição e aumento da mortalidade infantil. Políticas de saúde pública devem considerar esses efeitos adversos em países menos desenvolvidos e recomendar alimentação alternativa para crianças em risco de adquirir infecção pelo leite materno (Manns e Blattner., 1991; Passos, 1998; Poiesz et al., 2003). Recomendações para prevenção da transmissão sexual devem ser enfatizadas, incluindo uso de preservativo, evitando múltiplos parceiros ou parceiros desconhecidos ou receber dinheiro por sexo. Finalmente, aconselhamento de UDI para implementar políticas de redução de dano pode ser eficaz para reduzir a infecção pelo HTLV-I nessa população.

Problemas psicossociais como depressão, aumento de ansiedade, dificuldade em estabelecer e manter relacionamentos, medo ou culpa em relação a gravidez podem ser os mais frequentes

efeitos colaterais associados à infecção pelo HTLV-I (Guiltinan et al., 1998; DeVita et al., 2003). Acesso ao aconselhamento adequado e às informações corretas sobre o HTLV-I é de fundamental importância para os indivíduos soropositivos para o HTLV-I.

**Agradecimentos.** Dr. Proietti, Carneiro-Proietti e Catalan-Soares receberam apoio financeiro da FAPEMIG.

## REFERÊNCIAS

- Andersson S, Dias F, Mendez PJ, Rodrigues A and Biberfeld G. (1997). *J. Acq. Immun. Def. Synd. Hum. Retrovirol.*, **15**, 320-322.
- Bangham CR. (2003). *J. Gen. Virol.*, **84**, 3177-3189.
- Barmak K, Harhaj E, Grant C, Alefantis T and Wigdahl B. (2003). *Virology*, **308**, 1-12.
- Bartholomew C, Jack N, Edwards J, Charles W, Corbin D, Cleghorn FR and Blattner WA. (1998). *J. Hum. Virol.*, **1**, 302-305.
- Bartholomew C, Saxinger WC, Clark JW, Gail M, Dudgeon A, Mahabir B, Hull-Drysdale B, Cleghorn F, Gallo RC and Blattner WA. (1987). *JAMA*, **257**, 2604-2608.
- Beilke MA, In DR, Gravell M, Hamilton RS, Mora CA, Leon-Monzon M, Rodgers-Johnson PE, Gajdusek DC, Gibbs Jr CJ and Zaninovic V. (1991). *J. Med. Virol.*, **33**, 64-71.
- Beilke MA, Traina-Dorge V, England JD and Blanchard JL. (1996). *Arthritis Rheum.*, **39**, 610-615.
- Belza MJ. (2004). *Eur. J. Epidemiol.*, **19**, 279-282.
- Bhagavati S, Ehrlich G, Kula RW, Kwok S, Sninsky J, Udani V and Poesz BJ. (1988). *N. Engl. J. Med.*, **318**, 1141-1147.
- Bittencourt AL, Dourado I, Filho PB, Santos M, Valadao E, Alcantara LC and Galvao-Castro B. (2001). *J. Acq. Immun. Def. Synd.*, **26**, 490-494.
- Blattner WA. (1990). *Human Retrovirology: HTLV* Blattner WA (ed). Raven Press: New York, pp. 251-263.
- Blattner WA, Nomura A, Clark JW, Ho GY, Gallo NR and Robert-Guroff M. (1986). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 4895-4898.
- Carneiro-Proietti AB, Catalan-Soares B and Proietti FA. (2002). *J. Biomed. Sci.*, **9**, 587-595.
- Castillo LC, Gracia F, Roman GC, Levine P, Reeves WC and Kaplan J. (2000). *Acta Neurol. Scand.*, **101**, 405-412.
- Catalan-Soares B, Carneiro-Proietti AB and Proietti FA. (2004). *Rev. Panam. Salud. Publica.*, **16**, 387-394.
- Catalan-Soares BC, Carneiro-Proietti ABF and Proietti FA. (2003). *Rev. Saude. Publica.*, **37**, 470-476.
- Catovsky D, Greaves MF, Rose M, Galton DA, Goolden AW, McCluskey DR, White JM, Lampert I, Bourikas G, Ireland R, Brownell AI, Bridges JM, Blattner WA and Gallo RC. (1982). *Lancet*, **1**, 639-643.
- Chavance M, Frery N, Valette I, Schaffar-Deshayes L and Monplaisir N. (1990). *Am. J. Epidemiol.*, **131**, 395-399.
- Chiavetta JA, Escobar M, Newman A, He Y, Driezen P, Deeks S, Hone DE, O'Brien SF and Sher G. (2003). *Can. Med. Assoc. J.*, **169**, 767-773.
- Courouze AM, Pillonel J, Lemaire JM, Maniez M and Brunet JB. (1993). *Aids*, **7**, 841-847.
- Cruikshank EK. (1956). *West Indian Med. J.*, **5**, 147-158.
- de The G and Kazanji M. (1996). *J. Acq. Immun. Def. Synd. Hum. Retrovirol.*, **13** (Suppl 1), S191-S198.
- DeVita DA, Guiltinan AM and Murphy EL. (2003). *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, **19**, S-46.
- Donegan E, Busch MP, Galleshaw JA, Shaw GM and Mosley JW. (1990). *Ann. Intern. Med.*, **113**, 555-556.
- Dumas M, Houinato D, Verdier M, Zohoun T, Josse R, Bonis J, Zohoun I, Massougbojji A and Denis F. (1991). *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, **7**, 447-451.
- Eguchi K, Nakamura T, Mine M, Ida H, Kawakami A, Migita K, Nagasato K, Kurata A, Fukuda T and Nagataki S. (1992). *Ann. Rheum. Dis.*, **51**, 673-677.
- Eguchi K, Origuchi T, Takashima H, Iwata K, Katamine S and Nagataki S. (1996). *Arthritis Rheum.*, **39**, 463-466.
- Ehrlich GD, Andrews J, Sherman MP, Greenberg SJ and Poiez BJ. (1992). *Virology*, **186**, 619-627.
- Ehrlich GD and Poesz BJ. (1988). *Clin. Lab. Med.*, **8**, 65-84.
- Eiraku N, Novoa P, da Costa Ferreira M, Monken C, Ishak R, da Costa Ferreira O, Zhu SW, Lorenzo R, Ishak M, Azvedo V, Guerreiro J, de Oliveira MP, Loureiro P, Hammerschlag N, Ijichi S and Hall WM. (1996). *J. Virol.*, **70**, 1481-1492.
- Etzel A, Shibata GY, Rozman M, Jorge ML, Damas CD and Segurado AA. (2001). *J. Acq. Immun. Def. Synd.*, **26**, 185-190.
- Feigal E, Murphy E, Vranizan K, Bacchetti P, Chaisson R, Drummond JE and Blattner WA. (1991). *J. Infect. Dis.*, **164**, 36-42.
- Ferreira Jr OC, Planelles V and Rosenblatt JD. (1997). *Blood Rev.*, **11**, 91-104.
- Figueroa JP, Ward E, Morris J, Brathwaite AR, Peruga A, Blattner WA, Vermund SH and Hayes R. (1997). *J. Acq. Immun. Def. Synd. Hum. Retrovirol.*, **15**, 232-237.

- Fouchard N, Mahe A, Huerre M, Fraitag S, Valensi F, Macintyre E, Sanou F, de The G and Gessain A. (1998). *Leukemia*, **12**, 578-585.
- Freitas V, Gomes I, Bittencourt A, Fernandes D and Melo A. (1997). *Arq. Neuropsiquiatr.*, **55**, 325-328.
- Fujino T, Iwamoto I, Otsuka H, Ikeda T, Takesako S and Nagata Y. (1999). *Obstet. Gynecol.*, **94**, 279-283.
- Fujino T and Nagata Y. (2000). *J. Reprod. Immunol.*, **47**, 197-206.
- Fujiyoshi T, Yashiki S, Fujiyama C, Kuwayama M, Miyashita H, Ohnishi H, Blank M, Zaninovic V, Blank A and Cartier L. (1995). *Int. J. Cancer*, **63**, 510-515.
- Gabet AS, Mortreux F, Talarmin A, Plumelle Y, Leclercq I, Leroy A, Gessain A, Clity E, Joubert M and Wattel E. (2000). *Oncogene*, **19**, 4954-4960.
- Gallo RC. (1973). *Am. J. Clin. Pathol.*, **60**, 80-87.
- Galvao-Castro B, Loures L, Rodrigues LG, Sereno A, Ferreira Junior OC, Franco LG, Muller M, Sampaio DA, Santana A, Passos LM and Proietti F. (1997). *Transfusion*, **37**, 242-243.
- Gastaldello R, Hall WW and Gallego S. (2004). *J. Acq. Immun. Def. Synd.*, **35**, 301-308.
- Gerard Y, Lepere JF, Pradinaud R, Joly F, Lepelletier L, Joubert M, Sainte Marie D, Mahieux R, Vidal AU, Larregain-Fournier D, Valensi E, Moynet D, De Thé G, Guillemain B, Moreau J and Gessain A. (1995). *Int. J. Cancer*, **60**, 773-776.
- Gessain A and de The G. (1996). *J. Acq. Immun. Def. Synd. Hum. Retrovirol.*, **13** (Suppl 1), S228-S235.
- Gessain A, Barin F, Vernant JC, Gout O, Maurs L, Calender A and de The G. (1985). *Lancet*, **2**, 407-410.
- Gessain A, Caudie C, Gout O, Vernant JC, Maurs L, Giordano C and Malone G. (1988). *J. Infect. Dis.*, **157**, 1226-1234.
- Gessain A, Gallo RC and Franchini G. (1992). *J. Virol.*, **66**, 2288-2295.
- Gessain A, Yanagihara R, Franchini G, Garruto RM, Jenkins CL, Ajdukiewicz AB, Gallo RC and Gajdusek DC. (1991). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 7694-7698.
- Gibbs WN, Lofters WS, Campbell M, Hanchard B, LaGrenade L, Cranston B and Hedriks J. (1987). *Ann. Intern. Med.*, **106**, 361-368.
- Goncalves DU, Guedes AC, Carneiro-Proietti AB, Pinheiro SR, Catalan-Soares B, Proietti FA and Lambertucci JR. (1999). *Int. J. STD AIDS*, **10**, 336-337.
- Goto K, Saeki K, Kurita M, Iijima Y, Miyake A and Ohno S. (1994). *Jpn. J. Ophthalmol.*, **38**, 175-177.
- Gout O, Baulac M, Gessain A, Semah F, Saal F, Peries J, Cabrol C, Foucault-Fretz C, Laplane D, Sigaux F and Thé GD. (1990). *N. Engl. J. Med.*, **322**, 383-388.
- Guiltinan AM, Murphy EL, Horton JA, Nass CC, McEntire RL and Watanabe K. (1998). *Transfusion*, **38**, 1056-1062.
- Hanchard B. (1996). *J. Acq. Immun. Def. Synd. Hum. Retrovirol.*, **13** (Suppl 1), S20-S25.
- Hanchard B, Gibbs WN, Lofters W, Campbell M, Williams E, Williams N, Jaffe E, Cranston B, Panchoosingh LD, LaGrenade L, Wilks R, Murphy E, Blattner W and Manns A. (1990). *Human Retrovirology: HTLV*. Blattner WA (ed). Raven Press: New York, pp. 173-183.
- Hayashi J, Kishihara Y, Yoshimura E, Furusyo N, Yamaji K, Kawakami Y, Murakami H and Kashiwagi S. (1997). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **56**, 71-75.
- Hino S, Katamine S, Miyata H, Tsuji Y, Yamabe T and Miyamoto T. (1997). *Leukemia*, **11** (Suppl 3), 57-59.
- Hinuma Y, Nagata K, Hanaoka M, Nakai M, Matsumoto T, Kinoshita KI and Shirakawa S. (1981). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**, 6476-6480.
- Hisada M, Okayama A, Shioiri S, Spiegelman DL, Stuver SO and Mueller NE. (1998). *Blood*, **92**, 3557-3561.
- Iannone R, Sherman MP, Rodgers-Johnson PE, Beilke MA, Mora CA, Amin RM, Tinsley SR, Papsidero LD, Poesz BJ and Gibbs Jr CJ. (1992). *J. Acq. Immun. Def. Synd.*, **5**, 810-816.
- Ijichi S, Matsuda T, Maruyama I, Izumihara T, Kojima K, Niimura T, Maruyama Y, Sonoda S, Yoshida A and Osame M. (1990). *Ann. Rheum. Dis.*, **49**, 718-721.
- Inose M, Higuchi I, Yoshimine K, Suehara M, Izumo S, Arimura K and Osame M. (1992). *J. Neurol. Sci.*, **110**, 73-78.
- Ishak R, Vallinoto AC, Azevedo VN and Ishak Mde O. (2003). *Cad. Saude. Publica.*, **19**, 901-914.
- Ishikawa T. (2003). *Int. J. Hematol.*, **78**, 304-311.
- Iwakura Y, Tosu M, Yoshida E, Takiguchi M, Sato K, Kitajima I, Nishioka K, Yamamoto K, Takeda T and Hatanaka M. (1991). *Science*, **253**, 1026-1028.
- Iwasaki Y. (1990). *J. Neurol. Sci.*, **96**, 103-123.
- Jeffery KJ, Usuku K, Hall SE, Matsumoto W, Taylor GP, Procter J, Bunce M, Ogg GS, Welsh KI, Weber JN, Lloyd AL, Nowak MA, Nagai M, Kodama D, Izumo S, Osame M and Bangham CR. (1999). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 3848-3853.
- Kajiyama W, Kashiwagi S, Ikematsu H, Hayashi J, Nomura H and Okochi K. (1986). *J. Infect. Dis.*, **154**, 851-857.
- Kaplan JE, Khabbaz RF, Murphy EL, Hermansen S, Roberts C, Lal R, Heneine W, Wright D, Matijas L, Thomson R, Rudolph D, Switzer WM, Kleinman S, Busch M and Schreiber GB. (1996). *J. Acq. Immun. Def. Synd. Hum. Retrovirol.*, **12**, 193-201.
- Kasahata N, Kawamura M, Shiota J, Miyazawa Y, Suzuki Y and Sugita K. (2000). *No To Shinkei*, **52**, 1003-1006.
- Kawai H, Inui T, Kashiwagi S, Tsuchihashi T, Masuda K, Kondo A, Niki S, Iwasa M and Saito S. (1992). *J. Med. Virol.*, **38**, 138-141.
- Kawai H, Nishida Y, Takagi M, Nakamura S and Saito S. (1989). *Rinsho. Shinkeigaku*, **29**, 588-592.
- Kazanji M and Gessain A. (2003). *Cad. Saude. Publica.*, **19**, 1227-1240.
- Khabbaz RF, Onorato IM, Cannon RO, Hartley TM, Roberts B, Hosein B and Kaplan JE. (1992). *N. Engl. J. Med.*, **326**, 375-380.
- Kimura I. (1992). *Nihon. Kyobu. Shikkan. Gakkai. Zasshi*, **30**, 787-795.
- Kinoshita K, Hino S, Amagaski T, Ikeda S, Yamada Y, Suzuyama J, Momita S, Toriya K, Kamihira S and Ichimaru M. (1984). *Gann*, **75**, 103-105.
- Koralnik IJ, Boeri E, Saxinger WC, Monico AL, Fullen J, Gessain A and Guo HG. (1994). *J. Virol.*, **68**, 2693-2707.
- Kramer A, Maloney EM, Morgan OS, Rodgers-Johnson P, Manns A, Murphy EL, Larsen S, Cranston B, Murphy J, Benichou J and Blattner WA. (1995). *Am. J. Epidemiol.*, **142**, 1212-1220.
- La Grenade L. (1996). *J. Acq. Immun. Def. Synd. Hum. Retrovirol.*, **13** (Suppl 1), S46-S49.
- LaGrenade L, Hanchard B, Fletcher V, Cranston B and Blattner W. (1990). *Lancet*, **336**, 1345-1346.
- Larsen O, Andersson S, da Silva Z, Hedegaard K, Sandstrom A, Naucler A, Dias F, Melbye M and Aaby P. (2000). *J. Acq. Immun. Def. Synd.*, **25**, 157-163.
- Lee H, Swanson P, Shorty VS, Zack JA, Rosenblatt JD and Chen IS. (1989). *Science*, **244**, 471-475.
- Lee HH, Weiss SH, Brown LS, Mildvan D, Shorty V, Saravolatz L and Chu A. (1990). *J. Infect. Dis.*, **162**, 347-352.

- Lehky TJ, Fox CH, Koenig S, Levin MC, Flerlage N, Izumo S, Sato E, Raine CS, Osame M and Jacobson S. (1995). *Ann. Neurol.*, **37**, 167-175.
- Leon G, Quiros AM, Lopez JL, Hung M, Diaz AM, Goncalves J, Da Costa O, Hernandez T, Chirinos M and Gomez R. (2003). *Rev. Panam. Salud. Publica.*, **13**, 117-123.
- Li H, Hisada M, Yamano Y, Maloney E, Yao K, Hanchard B, Morgan O and Jacobson S. (2003). *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, **19**, P9.
- Liu H, Leung P, Glynn S and Murphy EL. (2001). *Virology*, **279**, 90-96.
- Mahieux R, Horal P, Mauciere P, Mercereau-Puijalon O, Guillotte M, Meertens L, Murphy E and Gessain A. (2000). *J. Clin. Microbiol.*, **38**, 4049-4057.
- Mahieux R, Pecon-Slattey J and Gessain A. (1997). *J. Virol.*, **71**, 6253-6258.
- Maloney EM, Cleghorn FR, Morgan OS, Rodgers-Johnson P, Cranston B, Blattner WA, Bartholomew C and Manns A. (1998). *J. Acq. Immun. Def. Synd. Hum. Retrovirol.*, **17**, 167-170.
- Maloney EM, Murphy EL, Figueroa JP, Gibbs WN, Cranston B, Hanchard B and Holding-Cobham M. (1991). *Am. J. Epidemiol.*, **133**, 1125-1134.
- Manns A and Blattner WA. (1991). *Transfusion*, **31**, 67-75.
- Manns A, Hisada M and La Grenade L. (1999). *Lancet*, **353**, 1951-1958.
- Manns A, Wilks RJ, Murphy EL, Haynes G, Figueroa JP, Barnett M and Hanchard B. (1992). *Int. J. Cancer*, **51**, 886-891.
- Marsh BJ. (1996). *Clin. Infect. Dis.*, **23**, 138-145.
- Mathieux R and Gessain A. (2003). *Rev. Clin. Exp. Hematol.*, **7**, 336-361.
- Matutes E, Schulz T, Serpa MJ, de Queiroz-Campos-Araujo A and de Oliveira MS. (1994). *Leukemia*, **8**, 1092-1094.
- Mauciere P, Le Hesran JY, Mahieux R, Salla R, Mfoupouendoun J, Abada ET, Millan J, de The G and Gessain A. (1997). *J. Infect. Dis.*, **176**, 505-509.
- Mbanya DN, Takam D and Ndumbe PM. (2003). *Transfus. Med.*, **13**, 267-273.
- McCallum RM, Patel DD, Moore JO and Haynes BF. (1997). *Med. Clin. North Am.*, **81**, 261-276.
- McKhann II G, Gibbs Jr CJ, Mora CA, Rodgers-Johnson PE, Liberski PP, Gdula WJ and Zaninovic V. (1989). *J. Infect. Dis.*, **160**, 371-379.
- Miller GJ, Lewis LL, Colman SM, Cooper JA, Lloyd G, Scollen N, Jones N, Tedder RS and Greaves MF. (1994). *J. Infect. Dis.*, **170**, 44-50.
- Miller GJ, Pegram SM, Kirkwood BR, Beckles GL, Byam NT, Clayden SA, Kinlen LJ, Chan LC, Carson DC and Greaves MF. (1986). *Int. J. Cancer*, **38**, 801-808.
- Miyoshi I, Kubonishi I, Yoshimoto S, Akagi T, Ohtsuki Y, Shiraishi Y, Nagata K and Hinuma Y. (1981a). *Nature*, **294**, 770-771.
- Miyoshi I, Miyamoto K, Sumida M, Nishihara R, Lai M, Yoshimoto S and Sato J. (1981b). *Cancer Genet. Cytogenet.*, **3**, 251-259.
- Mochizuki M, Watanabe T, Yamaguchi K, Tajima K, Yoshimura K, Nakashima S, Shirao M, Araki S, Miyata N, Mori S and Takatsuki K. (1992). *J. Infect. Dis.*, **166**, 943-944.
- Mueller N. (1991). *Cancer Causes Control*, **2**, 37-52.
- Mueller N, Okayama A, Stuver S and Tachibana N. (1996). *J. Acq. Immun. Def. Synd. Hum. Retrovirol.*, **13** (Suppl 1), S2-S7.
- Murphy EL, Figueroa JP, Gibbs WN, Brathwaite A, Holding-Cobham M, Waters D and Cranston B. (1989a). *Ann. Intern. Med.*, **111**, 555-560.
- Murphy EL, Figueroa JP, Gibbs WN, Holding-Cobham M, Cranston B, Malley K and Bodner AJ. (1991). *Am. J. Epidemiol.*, **133**, 1114-1124.
- Murphy EL, Hanchard B, Figueroa JP, Gibbs WN, Lofters WS, Campbell M and Goedert JJ. (1989b). *Int. J. Cancer*, **43**, 250-253.
- Murphy EL, Lee TH, Chafets D, Nass CC, Wang B, Loughlin K and Smith D. (2004a). *J. Infect. Dis.*, **190**, 504-510.
- Murphy EL, Mahieux R, de The G, Tekaia F, Ameti D, Horton J and Gessain A. (1998). *Virology*, **242**, 425-434.
- Murphy EL, Wang B, Sacher RA, Fridey J, Smith JW, Nass CC, Newman B, Ownby HE, Garratty G, Hutching ST and Schreiber GB. (2004b). *Emerg. Infect. Dis.*, **10**, 109-116.
- Murphy EL, Watanabe K, Nass CC, Ownby H, Williams A and Nemo G. (1999). *J. Infect. Dis.*, **180**, 1777-1783.
- Murphy EL, Wilks R, Hanchard B, Cranston B, Figueroa JP, Gibbs WN, Murphy J and Blattner WA. (1996). *Int. J. Epidemiol.*, **25**, 1083-1089.
- Nakane S, Shirabe S, Moriuchi R, Mizokami A, Furuya T, Nishiura Y, Okazaki S, Yoshizuka N, Suzuki Y, Nakamura T, Katamine S, Gojobori T and Eguchi K. (2000). *J. Neurovirol.*, **6**, 275-283.
- Nakashima K, Kashiwagi S, Kajiyama W, Hirata M, Hayashi J, Noguchi A, Urabe K, Minami K and Maeda Y. (1995). *Am. J. Epidemiol.*, **141**, 305-311.
- Okochi K, Sato H and Hinuma Y. (1984). *Vox Sang.*, **46**, 245-253.
- Ono A, Ikeda E, Mochizuki M, Matsuoka M, Yamaguchi K, Sawada T, Yamane S, Tokudome S and Watanabe T. (1998). *Jpn. J. Cancer Res.*, **89**, 608-614.
- Orland JR, Engstrom J, Fridey J, Sacher RA, Smith JW, Nass C, Garratty G, Newman B, Smith D, Wang B, Loughlin K and Murphy EL. (2003). *Neurology*, **61**, 1588-1594.
- Osame M, Izumo S, Igata A, Matsumoto M, Matsumoto T, Sonoda S, Tara M and Shibata Y. (1986a). *Lancet*, **2**, 104-105.
- Osame M, Usuku K, Izumo S, Ijichi N, Amitani H, Igata A, Matsumoto M and Tara M. (1986b). *Lancet*, **1**, 1031-1032.
- Passos VMA. (1998). *Cad. Saude. Publ.*, **14**, 109-118.
- Pawson R, Mufti GJ and Pagliuca A. (1998). *Br. J. Haematol.*, **100**, 453-458.
- Pinheiro S. (1990). *J. Acq. Immun. Def. Synd.*, **20**, A67.
- Pinheiro SR, Carneiro-Proietti AB, Lima-Martins MV, Proietti FA, Pereira AA and Orefice F. (1996). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, **29**, 383-384.
- Pinheiro SR, Lana-Peixoto MA, Proietti AB, Orefice F, Lima-Martins MV and Proietti FA. (1995). *Arq. Neuropsiquiatr.*, **53**, 777-781.
- Plancoulaine S, Gessain A, Joubert M, Tortevoe P, Jeanne I, Talarmin A, de The G and Abel L. (2000). *J. Infect. Dis.*, **182**, 405-412.
- Poiesz BJ, Poiesz MJ and Choi D. (2003). *Cancer Invest.*, **21**, 253-277.
- Poiesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, Bunn PA, Minna JD and Gallo RC. (1980). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**, 7415-7419.
- Pombo-de-Oliveira MS, Carvalho SM, Borducchi D, Dobbin J, Salvador J, Correa RB, Moellman A, Loureiro P, Chiattonne C and Rios M. (2001). *Leuk. Lymphoma*, **42**, 135-144.
- Pombo-de-Oliveira MS, Loureiro P and Bittencourt A. (1998). *Int. J. Cancer*, **83**, 291-298.
- Pouliquen JF, Hardy L, Lavergne A, Kafiludine E and Kazanji M. (2004). *J. Clin. Microbiol.*, **42**, 2020-2026.

- Price J, Cant BA, Barbara JA and Tedder RS. (2001). *Vox Sang.*, **80**, 148–150.
- Quintas S, Moreno T, Lobo-Antunes N and Levy-Gomes A. (2004). *Rev. Neurol.*, **39**, 1133–1136.
- Rodgers PE. (1965). *West Indian Med. J.*, **14**, 36–47.
- Rodgers-Johnson P, Gajdusek DC, Morgan OS, Zaninovic V, Sarin PS and Graham DS. (1985). *Lancet*, **2**, 1247–1248.
- Roucoux DF, Wang B, Smith D, Nass CC, Smith J, Hutching ST, Newman B, Lee T-H, Chafets D and Murphy EL. (2005). *J. Infectious Dis.*, **191**, 1490–1498.
- Sanchez-Palacios C, Gotuzzo E, Vandamme AM and Maldonado Y. (2003). *Int. J. Infect. Dis.*, **7**, 132–137.
- Sarkodie F, Adarkwa M, Adu-Sarkodie Y, Candotti D, Acheampong JW and Allain JP. (2001). *Vox Sang.*, **80**, 142–147.
- Satoh M, Toma H, Sugahara K, Etoh K, Shiroma Y, Kiyuna S, Takara M, Matsuoka M, Yamaguchi K, Nakada K, Fujita K, Kojima S, Hori E, Tanaka Y, Kamihira S, Sato Y and Watanabe T. (2002). *Oncogene*, **21**, 2466–2475.
- Schreiber GB, Murphy EL, Horton JA, Wright DJ, Garfein R, Chien HC and Nass CC. (1997). *J. Acq. Immun. Def. Synd. Hum. Retrovirol.*, **14**, 263–271.
- Seiki M, Hattori S and Yoshida M. (1982). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 6899–6902.
- Sherman MP, Saksena NK, Dube DK, Yanagihara R and Poiesz BJ. (1992). *J. Virol.*, **66**, 2556–2563.
- Shimamoto Y and Yamaguchi M. (1992). *Leuk. Lymphoma*, **7**, 37–45.
- Slattery JP, Franchini G and Gessain A. (1999). *Genome Res.*, **9**, 525–540.
- Sonoda S. (1990). *Human Retrovirology: HTLV Blattner W* (ed). Raven Press: New York.
- Sowa JM. (1992). *J. Rheumatol.*, **19**, 316–318.
- Stigum H, Magnus P, Samdal HH and Nord E. (2000). *Int. J. Epidemiol.*, **29**, 1076–1084.
- Stuver SO, Tachibana N, Okayama A, Shioiri S, Tsunetoshi Y, Tsuda K and Mueller N. (1993). *J. Infect. Dis.*, **167**, 57–65.
- Sugaya T, Ishizu A, Ikeda H, Nakamaru Y, Fugo K, Higuchi M, Yamazaki H, Imai K and Yoshiki T. (2002). *Exp. Mol. Pathol.*, **72**, 56–61.
- Takatsuki K, Matsuoka M and Yamaguchi K. (1996). *J. Acq. Immun. Def. Synd. Hum. Retrovirol.*, **13** (Suppl 1), S15–S19.
- Takatsuki K, Uchiyama T, Sagawa K and Yodoi J. (1977). *Topics in Hematology* Seno S, Takaku F, Irino S (eds). Excerpta Medica: Amsterdam, pp. 73–77.
- Takatsuki K, Yamaguchi K, Kawano F, Hattori T, Nishimura H, Tsuda H and Sanada I. (1985a). *Cancer Res.*, **45**, 4644s–4645s.
- Takatsuki K, Yamaguchi K, Kawano F, Nishimura H, Seiki M and Yoshida M. (1985b). *Microbiol. Immunol.*, **115**, 89–97.
- Takenouchi N, Yamano Y, Usuku K, Osame M and Izumo S. (2003). *J. Neurovirol.*, **9**, 29–35.
- Taylor GP. (1996). *J. Acq. Immun. Def. Synd. Hum. Retrovirol.*, **13** (Suppl 1), S8–S14.
- Taylor GP, Bodeus M, Courtois F, Pauli G, Del Mistro A, Machuca A, Padua E, Andersson S, Goubau P, Chieco-Bianchi L, Soriano V, Coste J, Ades AE and Weber JN. (2005). *J. Acq. Immun. Def. Synd.*, **38**, 104–109.
- Tseliou PM, Spanakis N, Spiliotakara A, Politis C, Legakis NJ and Tsakris A. (2003). *Transfusion*, **43**, 1641–1642.
- Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, Takatsuki K and Uchino H. (1977). *Blood*, **50**, 481–492.
- Ureta-Vidal A, Angelin-Duclos C, Tortevoeye P, Murphy E, Lepere JF, Buigues RP, Jolly N, Joubert M, Carles G, Pouliquen JF, de The G, Moreau JP and Gessain A. (1999). *Int. J. Cancer*, **82**, 832–836.
- Usuku K, Sonoda S, Osame M, Yashiki S, Takahashi K, Matsumoto M, Sawada T, Tsuji K, Tara M and Igata A. (1988). *Ann. Neurol.*, **23** (Suppl), S143–S150.
- Vandamme AM, Liu HF, Goubau P and Desmyter J. (1994). *Virology*, **202**, 212–223.
- Wattel E, Vartanian JP, Pannetier C and Wain-Hobson S. (1995). *J. Virol.*, **69**, 2863–2868.
- Wilks R, Hanchard B, Morgan O, Williams E, Cranston B, Smith ML, Rodgers-Johnson P and Manns A. (1996). *Int. J. Cancer*, **65**, 272–273.
- Williams AE, Fang CT, Slamon DJ, Poiesz BJ, Sandler SG, Darr Jr WF, Shulman G, McGowan EI, Douglas DK, Bowman RJ, Peetoom F, Kleinman SH, Lenes B and Dodd RY. (1988). *Science*, **240**, 643–646.
- Yakova M, Lezin A, Dantin F, Lagathu G, Olindo S, Jean-Baptiste G, Arfi S and Cesaire R. (2005). *Retrovirology*, **2**, 4.
- Yamaguchi K and Watanabe T. (2002). *Int. J. Hematol.*, **76** (Suppl 2), 240–245.
- Yamaguchi K. (1994). *Lancet*, **343**, 213–216.
- Yamaguchi K, Kiyokawa T, Futami G, Ishii T and Takatsuki K. (1990). *Human Retrovirology HTLV Blattner WA* (ed). Raven Press: New York, pp. 163–171.
- Yamamoto JH, Segurado AA, Hirata CE, Sampaio MW, Souza EC, Nukui Y, Cliquet M, Saez-Alquezar A, Olivalves E and Mochizuki M. (1999). *Arch. Ophthalmol.*, **117**, 513–517.
- Yanagihara R, Saitou N, Nerurkar VR, Song KJ, Bastian I, Franchini G and Gajdusek DC. (1995). *Cell Mol. Biol. (Noisy-le-grand)*, **41** (Suppl 1), S145–S161.
- Yashiki S, Fujiyoshi T, Arima N, Osame M, Yoshinaga M, Nagata Y, Tara M, Nomura K, Utsunomiya A, Hanada S, Tajima K and Sonoda S. (2001). *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, **17**, 1047–1061.
- Yoshida M, Seiki M, Yamaguchi K and Takatsuki K. (1984). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**, 2534–2537.

**ARTIGO 2**

**Vírus linfotrópico T humano em familiares de candidatos à doação de sangue soropositivos: disseminação silenciosa.**

Catalan-Soares BC, Carneiro-Proietti AB, Proietti FA, Grupo Interdisciplinar de Pesquisas em HTLV.  
Rev Panam Salud Publica. 2004; 16(6):387-94.

Catalan-Soares BC, Carneiro-Proietti AB, Proietti FA, Grupo Interdisciplinar de Pesquisas em HTLV.

Rev Panam Salud Publica. 2004; 16(6):387-94.

## **Vírus linfotrófico T humano em familiares de candidatos à doação de sangue soropositivos: disseminação silenciosa.**

### **RESUMO**

**Objetivo:** Verificar a ocorrência de transmissão do vírus T-linfotrófico humano entre familiares de portadores assintomáticos, identificados por ocasião de doação de sangue; e avaliar a provável direção da transmissão em parceiros sexuais com o mesmo diagnóstico sorológico (concordantes).

**Métodos:** Entre março de 1997 e junho de 2003 foram estudados familiares e parceiros sexuais estáveis de doadores de sangue soropositivos (e assintomáticos) para o vírus T-linfotrófico humano dos tipos I e II. O diagnóstico foi obtido pelos testes imunoenzimáticos e Western blot. Para determinar a direção da transmissão, foram coletados, através de um questionário, dados demográficos e comportamentais. Os participantes do estudo residiam na região metropolitana de Belo Horizonte, capital do Estado de Minas Gerais.

**Resultados:** A soroprevalência geral para o HTLV-I foi de 25,9% entre 352 familiares de 343 pacientes soropositivos (334 positivos para o tipo I e nove positivos para o tipo II). Em mães, parceiros sexuais e filhos de doadores soropositivos a prevalência foi de 36,6% (15/41), 35,9% (42/117) e 17,5% (34/194), respectivamente. A direção da infecção foi verificada analisando-se os fatores de risco nos casais soropositivos. Os dados obtidos acerca dos fatores de risco indicaram maior eficiência de transmissão no sentido do homem para a mulher.

**Conclusões:** As taxas de prevalência sugerem agregação familiar da infecção por vírus T-linfotrófico humano. A transmissão se deu principalmente por via sexual (horizontal). Deve-se avaliar a presença do HTLV-I/II em pessoas relacionadas a indivíduos infectados, mesmo se assintomáticos, para melhor compreensão da transmissão e implementação de medidas mais eficazes de prevenção contra a disseminação do vírus.

Palavras-chave: Epidemiologia, HTLV-I, HTLV-II, núcleo familiar.

## INTRODUÇÃO

O vírus linfotrópico de células T humanas do tipo I (HTLV-I), o primeiro retrovírus humano a ser identificado (1) tem sido associado epidemiologicamente à leucemia de células T do adulto, paraparesia espástica tropical, polimiosite, artrites, uveíte, lesões dermatológicas e strongiloidiase, entre outras doenças (2-7). O tipo II foi identificado em 1982 (8) e compartilha 66% do genoma com o tipo I. Contudo, ainda não está claramente associado a patologias, embora existam relatos de sua ocorrência com doenças neurológicas semelhante à associada ao HTLV-I (9). Globalmente se estima que o número de pessoas infectadas com o HTLV-I esteja entre 10 e 20 milhões (10). A presença do HTLV-I/II na América do Sul está bem estabelecida, embora sua origem e distribuição no continente não estejam completamente esclarecidos (11). Estudos conduzidos entre doadores de sangue no Brasil, no estado de Minas Gerais, apontaram prevalência média de 0,4% nessa população (12). Outro estudo envolvendo candidatos a doadores de sangue no mesmo Estado identificou a transfusão de sangue, a baixa escolaridade e o uso de drogas (maconha) como determinantes associados à soropositividade nessa população de baixo risco para retrovírus (13). Os modos de infecção são comuns ao HTLV-I e II e incluem a transmissão vertical, principalmente através da amamentação; a transmissão parenteral por transfusão de componentes celulares do sangue e compartilhamento de agulhas e seringas por usuários de drogas endovenosas; e a transmissão sexual, com maior eficiência no sentido homem-mulher (14,15)

Mais de duas décadas após a identificação do HTLV-I foi possível descrever um evidente padrão epidemiológico: tendência a agregação em diferentes áreas geográficas no mundo, variação de prevalência em regiões geográficas distintas, aumento da prevalência com a idade, maior soroprevalência no sexo feminino e agregação familiar da infecção e de patologias relacionadas ao vírus. Vários investigadores encontraram evidência dessa agregação e consideram a possibilidade de fatores outros além das vias naturais de transmissão, para justificar as altas taxas de prevalências intrafamiliares: fatores genéticos, como por exemplo, perfil dos antígenos leucocitários humanos (HLA), conferindo proteção ou predisposição para o desenvolvimento de patologias relacionadas ao HTLV-I; fatores relacionados ao vírus, tais como carga proviral e virulência; fatores ambientais e práticas culturais, como escarificação da pele com agulhas e facas não esterilizadas, prática comum em população da Nigéria; e interação desses fatores. (16-26).

No Brasil, a triagem para o HTLV-I e II tornou-se obrigatória em bancos de sangue brasileiros desde novembro de 1993. Cerca de 0,5% dos doadores de sangue no país apresentam sorologia positiva para os vírus, com ampla predominância do tipo I (27).

O Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em HTLV (GIPH), desde 1997, avalia prospectivamente candidatos à doação de sangue soropositivos para HTLV-I e II, pacientes com mielopatia associada ao HTLV-I atendidos em hospital especializado (Rede Sarah de Doenças do Aparelho Locomotor) e familiares dos dois grupos. O GIPH acompanha um dos maiores grupos de indivíduos infectados pelo HTLV-I na atualidade e pretende segui-lo prospectivamente até 2017, com avaliações bianuais.

O objetivo do presente estudo foi investigar as taxas e vias de transmissão nos familiares e parceiros sexuais dos candidatos à doação de sangue soropositivos, participantes da coorte GIPH. Também se procurou determinar a direção provável da infecção nos parceiros sexuais infectados com diagnósticos concordantes.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Minas Gerais localiza-se na região Sudeste do Brasil. Ocupa uma área de 586 624 Km<sup>2</sup> e tem uma população de 18 milhões de habitantes, 82 % dos quais vivem em zonas urbanas. A prevalência média da infecção pelo HTLV é de 0,1% considerando a população de candidatos a doação soropositivos que vivem na capital do estado, Belo Horizonte.

A coorte aberta prevalente (GIPH) acompanha ex-candidatos a doadores de sangue dessa região, objetivando uma maior compreensão de aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais associados ao vírus. O presente estudo se refere a esse grupo, que compreende 343 sujeitos soropositivos e 236 sorindeterminados para HTLV-I e II. Apenas nove indivíduos estão infectados pelo tipo II. Somente dois casos de infecção por ambos os subtipos foram identificados. A grande maioria, portanto, está infectada pelo HTLV-I.

Os doadores soropositivos da coorte GIPH foram estimulados a recrutar seus familiares e parceiros sexuais estáveis para serem testados sorologicamente para a presença do HTLV-I e II. Assim, familiares próximos (pais, irmãos e filhos) e parceiros sexuais atuais, com mais de seis meses de relacionamento, foram elegíveis para participação no estudo. Se constatada a

soropositividade, eram convidados a fazer parte do estudo prospectivo, seguindo o mesmo protocolo dos doadores infectados.

Foram testados sorologicamente 452 familiares e parceiros sexuais de 343 pacientes soropositivos e 236 soroindeviduados. Dados demográficos e comportamentais foram obtidos através de questionário estruturado, administrado após obtenção do consentimento livre e esclarecido. O projeto do presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hemominas.

### **Métodos laboratoriais/ sorologia para HTLV-I/II:**

As amostras de sangue dos participantes foram testadas para anticorpos anti-HTLV por método imunoenzimático (EIA), Western blot (WB) e reação em cadeia da polimerase (PCR). Os candidatos aptos à triagem clínica foram encaminhados à sala de coleta, onde foi colhida a bolsa de sangue conforme padrões técnicos especificados pelo Ministério de Saúde. Ao final desse procedimento foi colhida amostra de sangue e enviada ao laboratório de sorologia da Fundação Hemominas pra realização dos testes de hepatite B e C, sífilis, doença de Chagas, HIV e HTLV. No caso específico do HTLV, os indivíduos que apresentaram reação ao teste de triagem (ELISA) foram convocados para coleta de uma segunda amostra, ocasião na qual foi repetido o teste ELISA e realizado o exame confirmatório (Western blot). Foram considerados como positivos para HTLV-I ou II as amostras reativas a proteínas do *gag* (p19 e/ou p24) e do *env* (gp 46 e GD21.. A diferenciação entre tipo I e II foi feita pelo WB, através de proteínas recombinantes do *env* (rgp 46 I ou rgp 46 II) e pelo PCR.

### **Análise de fatores de risco para direção da transmissão sexual:**

Para avaliar a provável direção da infecção em pares concordantes (onde ambos os parceiros apresentavam o mesmo diagnóstico), verificamos a presença de fatores de risco principais ou secundários, de acordo com questionário validado em projeto piloto. O questionário foi aplicado por entrevistador treinado, em ambiente de privacidade. Foram considerados fatores de risco principais: transfusão de sangue antes de 1994, uso de drogas injetáveis, ter sido amamentado (a) por mãe ou ama de leite atualmente soropositiva, ter praticado sexo pago, e ter tido 10 ou mais parceiros (as) na vida. Os fatores secundários incluem: dois a nove parceiros (as) sexuais na vida e/ou uso de drogas ilegais não injetáveis.

A direção homem-mulher foi considerada provável se a mulher não apresentasse fator de risco e o homem apresentasse pelo menos um dos riscos principais ou dois riscos secundários; ou se a mulher apresentasse um dos riscos secundários e o homem apresentasse fator de risco principal. Também foi considerada como indicativa de direção homem-mulher a situação em que o homem era soropositivo e a mulher soroindeeterminada com conversão posterior. Em circunstâncias opostas, a direção foi considerada como provável no sentido mulher-homem. Para pares concordantes que não preencheram esses critérios, a direção da transmissão da infecção foi considerada incerta.

Para verificar fatores de risco para transmissão entre casais, os pares concordantes foram comparados aos pares discordantes (parceiros com diagnóstico diferente entre si) em função dos dados levantados pelo questionário.

## **RESULTADOS**

As análises sorológicas feitas em amostras de 352 familiares de doadores com sorologia positiva para HTLV-I, identificaram 91(25,9%) soropositivos e três (0,9%) soroindeeterminados, quando considerados globalmente mães, filhos e parceiros sexuais. Para 100 familiares de soroindeeterminados testados, foram identificados dois (2,0%) soropositivos e dois (2,0%) soroindeeterminados. Os resultados acerca dos indivíduos positivos são detalhados na tabela 1, onde se observa uma clara associação entre infecção e parceiros sexuais soropositivos e entre infecção e mães soropositivas, quando são comparados os familiares dos soropositivos aos familiares dos indeterminados. Quando os membros da família foram considerados em conjunto, verificamos agregação familiar da soropositividade.

De nove sujeitos positivos para HTLV-II, cinco tinham parceiros sexuais estáveis. Destes, quatro (80%) foram testados. Dentre os testados, um (25%) foi também soropositivo para o subtipo II. Uma portadora do HTLV-II amamentou três filhas; uma (33,3%) foi positiva para o tipo II e as outras duas foram soronegativas para o HTLV-I e II. O tempo de amamentação foi superior a seis meses para as três filhas e apenas a caçula adquiriu o vírus. Contudo, não podemos inferir que a mãe tenha se infectado entre a 2ª e 3ª gestação, já que a transmissão não ocorre em 100% dos casos e parece estar associada à carga pró-viral. As filhas soronegativas podem ter sido amamentadas em fase de baixa carga.

#### Transmissão horizontal:

Um total de 343 doadores soropositivos (figura 1) foi considerado nesse estudo. Desses, 64,1% (220) relataram ter parceiro sexual estável no momento, sendo 53,2% (118/220) homens e 46,8% (102/220) mulheres. Entre os casais, 55,0% (121/220) dos indivíduos recrutaram seus companheiros para serem testados, sendo homens 47,1% (57/121) e 52,9% mulheres (64/121). Noventa e nove parceiros sexuais não foram testados, ou por não terem sido recrutados ou por recusa em participar, caracterizando uma perda de 99/220 (45,0%).

Das mulheres parceiras dos doadores soropositivos para o tipo I, 43,6 % (24/55) foram positivas. Dos homens parceiros das doadoras positivas para o tipo I, 29,0 % (18/62) foram soropositivos. As duas mulheres parceiras de doadores soropositivos para o tipo II foram soronegativas para HTLV-I e II, no teste ELISA. Dentre os dois homens parceiros de doadoras positivas para o HTLV-II, um foi positivo para o mesmo subtipo; o outro foi soronegativo.

Quarenta e três pares concordantes (43/121 ou 35,5%) foram constituídos a partir dos resultados sorológicos positivos por ELISA, confirmados por WB e PCR; e 61,2% (74/121) pares discordantes foram estabelecidos pelo mesmo critério.

A direção da transmissão foi considerada como provável homem-mulher em 48,8% (21/43) casais e como provável mulher-homem em 7,0% (3/43) dos casais. Nos 44,2% (19/43) pares restantes a direção da infecção foi considerada como incerta. Quando comparados os pares concordantes com transmissão provável homem-mulher com casais discordantes nos quais o homem era positivo e a parceira era negativa, diferenças significativas não foram encontradas, em termos da idade média dos homens, do tempo de relacionamento, do número de parceiros sexuais e da soropositividade da mãe (tabela 2)

#### Transmissão vertical:

De um total de 331 filhos de mães soropositivas para o HTLV-I/II, 194 (58,6%) foram testados sorologicamente, caracterizando uma perda de 41,4%. Sorologia positiva foi confirmada em 17,5% (34/194). A tabela 3 mostra esses resultados e a distribuição de frequência por sexo e idade da população avaliada para possível transmissão vertical. Dos

filhos positivos 73,5% são maiores de 15 anos e poderiam ser também sexualmente ativos. Entretanto, a sorologia das mães é solicitada quando não são identificados comportamentos de risco para transmissão sexual (ausência de relacionamento, uso sistemático de preservativos, parceiro soronegativo). Dos 34 filhos positivos, 24 (70,6%) eram mulheres. Dentre os 160 filhos soronegativos, 97 (60,6%) eram do sexo feminino. A diferença entre reativos e não reativos aos testes não foi estatisticamente significativa quanto ao sexo ( $p=0,3$ ).

Núcleos familiares:

Sessenta e seis núcleos familiares, com pelo menos duas pessoas infectadas pelo HTLV-I ou II foram identificados. Um dos núcleos familiares foi formado por um casal e uma filha soropositivos para o HTLV-II. Todos os demais núcleos continham indivíduos infectados pelo tipo I; 60 dessas famílias continham apenas portadores assintomáticos do vírus. Em seis outras existiam casos de mielopatia associada ao HTLV/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP) ou leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL) em algum dos infectados pelo HTLV-I/II. De um total de 65 núcleos familiares infectados pelo HTLV-I, provável transmissão exclusivamente horizontal foi detectada em 55,4% (35/65); provável infecção exclusivamente vertical em 27,7 % (8/65) e ambas as vias de transmissão em 18,5 % (12/65) dos núcleos. No único núcleo infectado pelo HTLV-II constatamos transmissão vertical e horizontal. A figura 2 mostra o heredograma de um núcleo familiar com transmissão vertical e horizontal do HTLV-I.

## DISCUSSÃO

Evidenciou-se no presente trabalho a agregação da infecção em familiares e parceiros sexuais de portadores assintomáticos, aqui representados por indivíduos em quem a presença do vírus foi detectada pelo teste sorológico de triagem do banco de sangue. A taxa de prevalência encontrada de 25,9% (91/261) foi várias vezes maior que na população de candidatos a doadores de sangue, pois a média para o estado de Minas Gerais aponta para níveis de 0,1% nesses indivíduos.

Estudos têm mostrado alta prevalência entre familiares de indivíduos soropositivos para HTLV-I, mas principalmente em famílias com diagnósticos de paraparesia espástica tropical ou leucemia/linfoma de células T do adulto. No Chile, a taxa global da infecção entre familiares de pacientes com paresia espástica foi 30 vezes maior do que na população geral

(23). Um estudo brasileiro evidenciou agregação da infecção por HTLV-I e de patologias relacionadas, em familiares de pacientes com leucemia/linfoma de células T do adulto (25).

Há poucas informações divulgadas sobre a transmissão a partir de portadores assintomáticos. Um estudo envolvendo familiares de 20 doadores de sangue soropositivo para HTLV-I em Taiwan encontrou prevalência geral de 38,8% (26). Uma pesquisa entre familiares de gestantes soropositivas para o tipo I no Japão, aponta para agregação da infecção em famílias com prevalência de 41,7% entre os familiares.

No limite do nosso conhecimento e da literatura consultada, esse é o primeiro estudo de familiares de portadores assintomáticos do HTLV-I/II no Brasil. A coorte GIPH acompanha também doadores com sorologia considerada soroindeeterminada para o HTLV-I/II, ou seja, com EIA positivo e bandas positivas para o WB, sem contudo preencherem critérios de soropositividade. Provavelmente, a maioria destes indivíduos não se encontra infectada, mas alguns podem estar a caminho da soroconversão. Alguns casos de soroconversão já estão bem documentados nesse grupo, principalmente quando existem outros casos soropositivos no núcleo familiar (dados não mostrados).

Nesse artigo, mães e filhos de doadores soropositivos foram analisados separadamente para enfatizar o papel do portador assintomático como referência na identificação de outros casos soropositivos. Porém, se somados mães e filhos dos doadores soropositivos, a prevalência no grupo será de 20,9%. Tal prevalência é significativa e muito mais elevada ( $p=0,02$ ) do que a prevalência de 3,8% observada no grupo soroindeeterminado, e representa a provável taxa de transmissão vertical nesse grupo.

Prevalência semelhante à encontrada nesse estudo para filhos de doadoras soropositivas (17,5%) foi relatada em estudo conduzido em Taiwan (18,8%) (26). Em 82 filhos de pacientes com leucemia/linfoma de célula T, 12% foram soropositivos para HTLV-I no Brasil (25). Um estudo conduzido na Guiana Francesa encontrou prevalência de 9,7% entre filhos de 81 mães soropositivas (28).

Os grupos de familiares dos soropositivos e dos soroindeeterminados apresentaram tamanho diferente refletindo, provavelmente, maior motivação dos portadores do vírus no recrutamento

dos indivíduos a eles relacionados. Os dados não foram estratificados por sexo em virtude do pequeno tamanho da amostra para o grupo de indeterminados.

Somente um dos núcleos familiares é formado pelo casal e uma filha soropositivos para o HTLV-II indicando possibilidade de transmissão vertical e horizontal nessa família. Vale lembrar que os usuários de drogas injetáveis são excluídos da doação de sangue, o que pode ter contribuído para a menor prevalência do HTLV-II no estudo. Embora a importância da transmissão vertical do tipo I esteja clara desde 1985, a partir do estudo prospectivo de Hino (29), só mais recentemente é que evidências moleculares confirmaram a mesma via de transmissão para o tipo II (30).

Transmissão horizontal desempenhou importante papel no grupo avaliado, sendo a via mais significativa de disseminação, contrariando resultado de estudo conduzido entre familiares de portadores assintomáticos e pacientes com paraparesia espástica no Zaire (31) e no Japão (32), que indicam a transmissão vertical como principal via de propagação do HTLV-I. Já em Taiwan, os resultados de estudo ali conduzido com familiares de doadores de sangue, apontam também a transmissão sexual como mais importante que a vertical (26).

A predominância da transmissão homem-mulher está em concordância com outros estudos (19) e foi sete vezes mais freqüente que a provável direção mulher-homem. Os homens transmissores eram mais velhos e tiveram relacionamento por tempo maior do que os homens dos pares discordantes. Comparam-se fatores de risco que pudessem prever maior carga proviral, como por exemplo, transfusão de sangue pregressa e infecção desde o período pré-natal; mas as diferenças quanto a esses aspectos entre pares concordantes e discordantes não foram significativas. Comparações entre transmissão sexual do HTLV-I e do HTLV-II não foram feitas em virtude do pequeno número de casos de indivíduos infectados pelo subtipo II nessa população.

A transmissão vertical também foi significativa. Entre as crianças amamentadas filhas de doadoras soropositivas, a infecção foi mais prevalente no sexo feminino. Embora um estudo conduzido na Guiana Francesa (28) tenha encontrado o mesmo achado, o tamanho da presente amostra limita as conclusões. O trabalho conduzido na Guiana Francesa encontrou associação entre títulos de anticorpos e carga proviral com a soropositividade em crianças. Não foi possível aferir o tempo de amamentação, já que uma minoria dos participantes estava segura

quanto a esse aspecto e viés de memória ou informação comprometeriam a interpretação dos resultados.

Dentre as limitações do estudo devemos considerar as perdas na população elegível, em torno de 40%. Acreditamos que elas tenham sido devidas principalmente ao fato do recrutamento ser feito pelo próprio doador infectado, que muitas vezes prefere omitir ou minimizar seu diagnóstico, temendo a estigmatização por parte de seus familiares ou parceiros; ainda muita confusão é feita entre o HTLV-I/II e o HIV-1/2. O medo de represálias por perda de horário no trabalho foi apontado por alguns participantes da coorte para justificar a não submissão de seus familiares ou parceiros aos testes. Outra possível razão para perdas é a dificuldade de pessoas assintomáticas se dirigirem à instituição onde foi realizada a pesquisa, tendo limitação de recursos financeiros até para pagar a passagem de ônibus. Perdas em torno de 40% da população elegível são relatadas em outros estudos familiares (33). O grupo de familiares e parceiros sexuais testados quando comparado às perdas, não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação à distribuição de frequência de sexo.

## **CONCLUSÕES**

O presente estudo fornece evidências de agregação familiar da infecção por HTLV-I e II entre pessoas relacionadas a portadores assintomáticos. A transmissão sexual foi a forma mais provável de disseminação do vírus na população estudada. A formação de 66 núcleos familiares, além de mostrar a eficiência da transmissão entre assintomáticos, possibilitará estudos de epidemiologia genética.

As medidas para prevenir a disseminação dos vírus linfotrópicos de células T humanos devem ser enfatizadas, pois não existem maneiras efetivas de prevenir ou controlar a leucemia/linfoma de célula T ou a paraparesia espástica tropical. Indivíduos soropositivos devem ser aconselhados para prevenir a disseminação do vírus. A disponibilização do teste de HTLV-I e II para familiares de indivíduos infectados, a introdução desse teste no pré-natal e o aconselhamento e acompanhamento dos infectados em centros de referência são necessários para, juntamente com a triagem dos doadores de sangue, evitar a disseminação silenciosa do HTLV-I.

**Agradecimentos.** O presente estudo teve financiamento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), da Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação Hemominas. Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em HTLV: Regina Amarante, Gustavo Eustáquio Brito-Melo, Boris Cruz, Cibele Eponina Sanches Ferreira, Antônio Carlos Guedes, Maria Sueli Namen Lopes, Marina Lobato Martins, Olindo Assis Martins, Vandack Nobre, Olga Maria Carvalho Pfeilsticker, Lenice de Oliveira Piedade, Ronaldo Portela, João Gabriel Ribas, Edel Barbosa Stancioli e Bárbara Perdigão Stumpf.

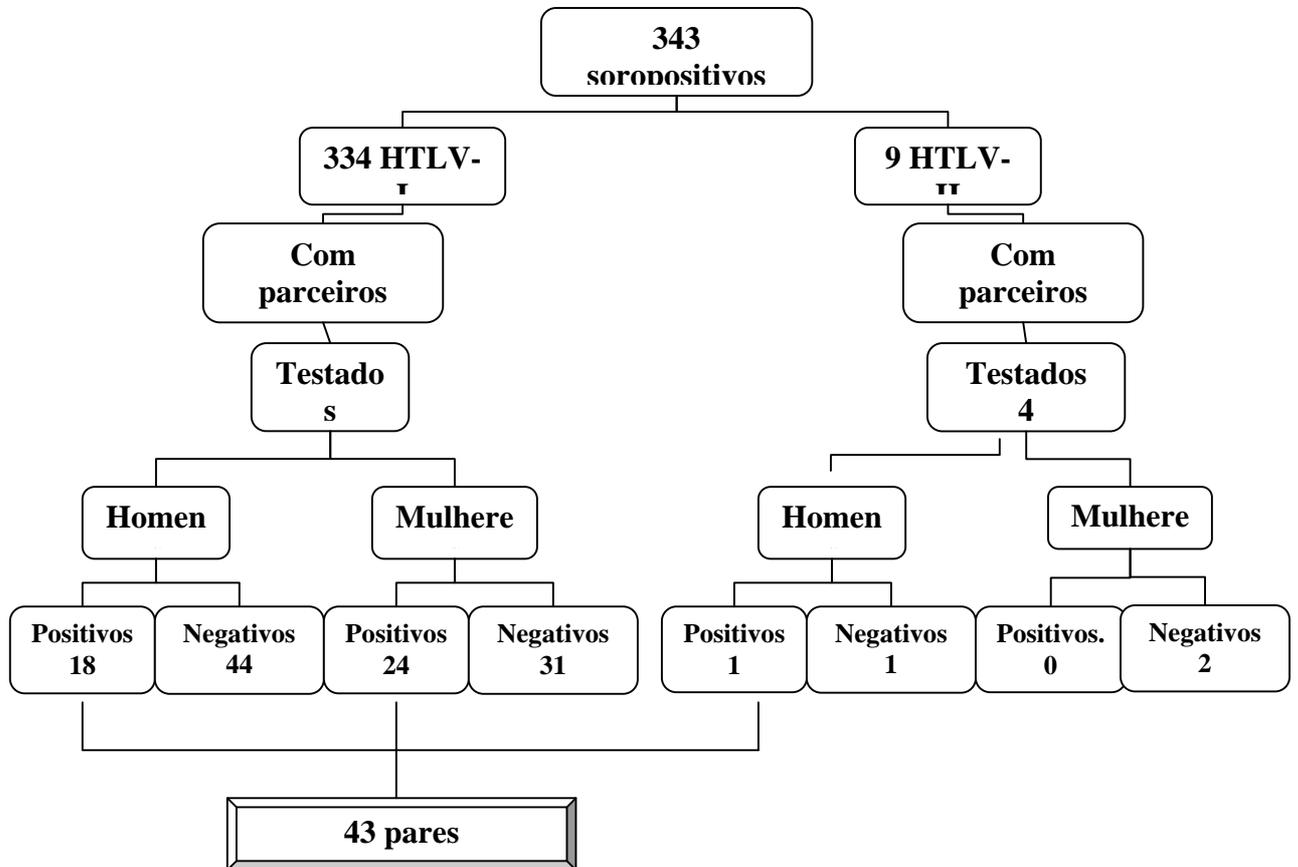
## REFERÊNCIAS

1. Poiesz 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* 1980; 77:7415-7419.
2. Murphy EL, Hanchard B, Figueroa JP, Gibbs WN, Lofters WS, Blattner WA. Modeling the risk of ATLL in persons infected with HTLV-I. *Int J Cancer* 1989; 43:250-253.
3. Gessain A, Gout O. Chronic myelopathy associated with HTLV-I. *Annals Intern Med* 1992; 117:933-946.
4. Mochizuki M, Watanabe T, Yamagushi K, Yoshimura K, Nakashima S, Shirao M et al. Uveitis associated with HTLV-I. *Am J Ophthalmol* 1992; 114: 123- 129.
5. Nishioka K. HTLV-I arthropathy and Sjogren Syndrome. *J Acquired Immune Defic Syndromes Hum Retrovirol* 1996; 13:50-56.
6. Gonçalves DU, Guedes AC, Proietti AB, Martins ML, Proietti FA, Lambertucci JR. Interdisciplinary HTLV-I/II Research Group. Dermatological lesions in asymptomatic blood donors seropositive for human T cell lymphotropic virus type-I. *Am J Trop Med Hyg* 2003; 68:562-568.
7. Adedayo AO, Grell GA, Bellot P. Case study: fatal strongyloidiasis associated with human T-cell lymphotropic virus type I infection. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65:650-651.
8. Kalyanaraman VS, Sarngadharan MG, Guroff M. A new subtype of human T-cell lymphotropic virus human T –cell leukaemia/lymphoma virus type II associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia. *Science* 1982; 218:571-3.
9. Murphy EL, Frisley J, Smith JW, Engstrom J, Sacher RA, Miller K et al. HTLV associated myelopathy in a cohort of HTLV type I and II infected blood donors. *Neurology* 1997; 48: 315-320
10. Thé GD, Bonford R. An HTLV-I vaccine: why, how, for whom? *Aids Res Hum Retroviruses* 1993; 9:381-386.
11. Carneiro-Proietti ABF, Catalan-Soares BC, Proietti FA, GIPH. Human T cell lymphotropic viruses (HTLV-I/II) in South America: should it be a public health concern? *J Biomed Sci* 2002; 9:587-595.
12. Proietti FA, Lima-Martins MVC, Passos VMA, Brener S, Carneiro-Proietti ABF. Human T-cell leukemia/lymphoma virus type I and II seropositivity among eligible blood donors from Minas Gerais State, Brazil. *Vox Sang* 1994; 67:77.
13. Catalan-Soares BC, Carneiro-Proietti ABF, Proietti FA, GIPH. HTLV-I/II and blood donors: determinants associated with seropositivity in a low risk population. *Rev Saúde Pública* 2003; 37:470-476.

14. Hirata M, Hayashi J, Noguchi A, Nakashima K, Kajiyama W, Sawada T et al. The effects of Breastfeeding and presence of antibody to p40tax protein of HTLV-I on mother-to-child transmission. *Int J Epidemiol* 1992; 21: 989-994.
15. Rouet F, Herrmann-Storck C, Courouble G, Deloumeaux J, Madani D, Strobel M. A case-control study of risk factors associated with human T-cell lymphotropic virus type-I seropositivity in blood donors from Guadeloupe, French West Indies. *Vox Sang* 2002; 82:61-66.
16. Kajiyama W, Kashiwagi S, Ikematsu H, Hayashi J, Nomura H, Otochi K. Intrafamilial transmission of adult T cell leukemia virus, *J Infect Dis* 1986; 154: 851-857.
17. Yanagihara R, Jenkins CL, Alexander SS, Mora CA, Garruto RM. Human T lymphotropic virus type I infection in Papua New Guinea: high prevalence among the Hagahai confirmed by Western analysis. *J Infect Dis* 1990; 164: 443-449.
18. Kayembe K, Goubau P, Desmyter J, Lietinck R, Carton H. A cluster of HTLV-I associated tropical spastic paresis in Equateur (Zaire): ethnic and familial distribution. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1990; 53:4-10.
19. Kaplan JE, Khabbaz FR, Murphy EL, Hermansen S, Roberts C, Lal R et al. Male-to-female transmission of human T-cell lymphotropic virus types I and II: association with viral load. *Acquired Immune Deficiency Syndromes Human Retrovirol* 1996; 12:193-201.
20. Arango C, Rugeles MT, Concha M, Borrero II, Lal H, Lai S et al. Risk factors for HTLV-I mother-to-child transmission: influence of genetic markers. *Braz J Infect Dis* 1998; 2:135-142.
21. Manns A, Hanchard B, Morgan OSC, Wilks R, Cranston B, Nam J et al. Human leukocyte antigen class II alleles associated with HTLV-I infection and ATLL in a black population. *J Natl Cancer Institute* 1998; 90:617-622.
22. Plancoulaine S, Buigues RP, Murphy EL, van Beveren M, Pouliquen JF, Joubert M et al. Demographic and familial characteristics of HTLV-I infection among an isolated, highly endemic population of African origin in French Guiana. *Int J Cancer* 1998; 76:331-336.
23. Cartier L, Ramirez VE, Galeno AH. Forma familiar de la paraparesia espástica tropical: estudio de cuatro familias. *Rev Med Chil* 1998; 126:419-426.
24. Olaleye DO, Omotade OO, Sheng Z, Adeyemo AA, Idaibo GN. Human T-cell lymphotropic virus types I and II infections in mother-child pairs in Nigeria. *J Trop Pediatr* 1999; 45:66-70.
25. Pombo-de-Oliveira MS, Carvalho SMF, Borducchi D, Dobbin J, Salvador J, Correa RB et al. Adult T-cell leukemia/lymphoma and cluster of HTLV-I associated diseases in Brazilian settings. *Leukemia Lymphoma* 2001; 42:135-144.

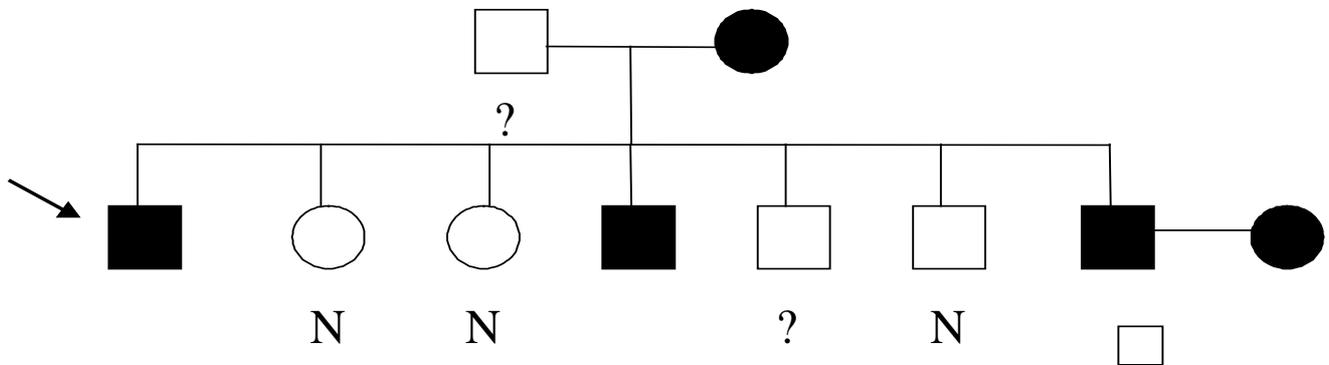
26. Lu SC, Kao CL, Chin LT, Chen JW, Yang CM, Chang AC et al. Intrafamilial transmission and risk assessment of HTLV-I among blood donors in southern Taiwan. *Kaohsiung J Med Sci* 2001; 17:126-132.
27. Catalan-Soares BC. HTLV infection in public Brazilian blood centers and intravenous drug users (UDI): considerations about prevention. In: Schatzmayr HG, Gaspar AMC, Kroon EG eds. *Proceedings of the XII National Meeting of Virology*. Brazil: Virus Reviews and Research; 2002. p.45-46.
28. Ureta-Vidal A, Angelin-Duclos C, Tortevoeye P, Murphy E, Lepère JF, Buigres RP et al. Mother-to-child transmission of HTLV-I: implication of high antiviral antibody titer and high proviral load in carrier mothers. *Int J Cancer*. 1999; 82:832-836
29. Hino S, Yamagushi K, Katamine S, Sugiyama H, Amagasaki T, Kinoshita K et al. Mother-to-child transmission of human T-cell leukemia virus type I. *Jpn J Cancer Res* 1985; 76:474-480.
30. Ishak R, Vallinoto ACR, Azevedo VN, Lewis M, Hall W, Ishak MOG. Molecular evidence of mother-to-child transmission of HTLV-c in the Kararao Village (Kayapo) in the Amazon Region of Brazil. *Revista da Soc Brasileira Med Trop* 2001; 34: 519-525.
31. Liu HF, Vandamme AM, Kazadi K, Carton H, Desmyter J, Goubau P. Familial transmission and minimal sequence variability of human T cell lymphotropic virus. *Aids Res Hum Retroviruses* 1994; 10:1135-1142.
32. Shimizu K. High prevalence of HTLV-I infection among the family members of a patient with ATLL from northeastern Japan. *Am J Hematol* 1999; 61:78-81.
33. Becher H, Schmidt S, Chang-Claude J. Reproductive factors and familial predisposition for breast cancer by age 50 years. A case-control-family study for assessing main effects and possible gene-environment interaction. *Int J Epidemiol* 2003; 32:38-48.

**Figura 1. Transmissão sexual entre portadores de HTLV-I e II. Belo Horizonte (MG), Brasil, 1997 a 2003\*.**



\* HTLV-I e II: vírus T-linfotrófico humano dos tipos I e II.

**Figura 2. Heredograma de um núcleo familiar com transmissão vertical e horizontal do HTLV-I, Belo Horizonte (MG), Brasil\*.**



HTLV-I: vírus T-linfotrópico humano tipo I. Os quadrados representam homens; os círculos representam mulheres. A cor preta indica soropositividade pra HTLV-I; N= negatividade para HTLV-I; ? = diagnóstico ignorado; a seta representa o caso-índice. Todos os indivíduos eram assintomáticos.

**Tabela 1: Positividade para HTLV-I em familiares de candidatos à doação de sangue soropositivos e indeterminados, Belo Horizonte (MG), Brasil, 1997-2003\*.**

Relação	Positivo No (%)	Indeterminado No (%)	OR (IC 95%)	p
<b>Mães</b>				
Positivas para HTLV-I	15 (36,6%)	1 (8,3%)	6,35 (0,71 a 144,50)	0,05
Negativas para HTLV-I	26	11		
Total	41	12		
<b>Filhos</b>				
Positivos para HTLV-I	34 (17,5%)	0	indefinido	0,07
Negativos para HTLV-I	160	14		
Total	194	14		
<b>Parceiros sexuais</b>				
Positivos para HTLV-I	42 (35,9%)	1 (1,4%)	40,88 (5,81 a 819,59)	<0,01
Negativos para HTLV-I	75	73		
Total	117	74		
<b>Todos os membros da família</b>				
Positivos para HTLV-I			17,08 (4,04; 102,2)	<0,01
Negativos para HTLV-I	91 (25,9%)	2 (1,9%)		
Total	261	98		
	352	100		

\* HTLV-I e II: vírus T-linfotrópico humano dos tipos I e II.

**Tabela 2: Comparação entre casais com parceiros soropositivos para HTLV-I e casais com parceiros que apresentam diagnósticos discordantes GIPH. Belo Horizonte (MG), Brasil. 1997-2003. (a)**

	Pares concordantes (b)	Pares discordantes (c)	OR (IC a 95%) <sup>+</sup>	p (d)
Idade média dos homens (anos)	39,7 (21,0 a 52,0 ) (e)	36,7 (19,0 a 55,0 ) (e)		>0,05
Tempo médio de relacionamento (anos)	15,3 (6,0 a 25,0 ) (e)	10,9 (1,0 a 30,0 ) (e)		>0,05
Transusão de sangue pregressa	3 (14,3%)	7 (21,8%)	,60 (0,10; a 3,11)	0,40
10 ou mais parceiras sexuais	11 (52,4%)	15 (46,9%)	1,25 (0,36 a 4,34)	0,71
Mãe soropositiva	4 (19,0%)	3 (9,4%)	2,27 (0,36 a 14,98)	0,33

(a) HTLV-I: vírus T-linfotrópico humano

(b) homem e mulher soropositivos para HTLV-I, com direção provável de transmissão homem-mulher; n = 21

(c) homem soropositivo e mulher soronegativa; n = 32

(d) teste Z para comparação de médias; qui-quadrado para proporções.

(e) amplitude de idade e do tempo de relacionamento entre parêntesis.

**Tabela 3 – Sorologia para HTLV-I e II em filhos amamentados por mães soropositivas para HTLV-I e II, Belo Horizonte (MG), Brasil. 1997-2003. (a)**

Soropositividade	Sexo masculino (b)		Sexo feminino (c)		Total (d)	
	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)
HTLV-I						
> 5	0		0		0	
5 – 10	1	(1,4)	3	(2,5)	4	(2,1)
11 – 15	2	(2,8)	2	(1,7)	4	(2,1)
> 15	7	(9,6)	18	(14,9)	25	(12,9)
HTLV-II	0		1	(0,8) (e)	1	(0,5)
Total	10	(13,7)	24	(19,9)	34	(17,5)

(a) HTLV I e II: vírus T-linfotrópico humano tipos I e II

(b) n = 73

(c) n = 121

(d) n = 194

(e) idade: 7 anos; mãe positiva para HTLV-II.

\* refere-se a 58,6% (194/331) dos filhos elegíveis

# Idade: sete anos. Mãe soropositiva para tipo II do HTLV

**ARTIGO 3****Transmissão horizontal e vertical do HTLV-2 em família de área urbana no Brasil: estudo soropidemiológico, clínico e molecular.****AIDS RESEARCH AND HUMAN RETROVIRUSES****Volume 21, Number 6. 2005, pp. 521-526****Mary Ann Liebert. Inc**

**Bernadette Catalan-Soares <sup>1</sup>, Edel Figueiredo Barbosa-Stancioli <sup>2</sup>, Luiz Carlos Jr. Alcântara <sup>4</sup>, Anna Bárbara de F. Carneiro Proietti <sup>1</sup>, Marina Lobato Martins <sup>1</sup>, Maria Sueli Namen-Lopes <sup>1</sup>, Bernardo Galvão-Castro <sup>4</sup>, Cibele Eponina Sanches Ferreira <sup>1</sup>, Maria Cristina Ramos Costa <sup>5</sup>, Sônia Regina Pinheiro <sup>1</sup>, Fernando Augusto Proietti <sup>3</sup> e GIPH (Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em HTLV).**

**<sup>1</sup> Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (Hemominas); <sup>2</sup> Laboratório de Biologia Molecular de Microorganismos Intracelulares (departamento de Microbiologia – UFMG); <sup>3</sup> Departamento de Medicina Preventiva e Social, UFMG; <sup>4</sup> Laboratório Avançado de Saúde Pública, Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Bahia; <sup>5</sup> Hemocentro de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.**

**Transmissão horizontal e vertical do HTLV-2 em família de área urbana no Brasil: estudo soropidemiológico, clínico e molecular.**

AIDS RESEARCH AND HUMAN RETROVIRUSES

Volume 21, Number 6. 2005, pp. 521-526

Mary Ann Liebert. Inc

**RESUMO**

O vírus linfotrópico de células T humano tipo 2 tem se mostrado endêmico entre os índios brasileiros e usuários de drogas injetáveis em regiões urbanas, mas a transmissão dessa infecção parece ser rara entre a população urbana vivendo em áreas urbanas do Brasil. Seis pessoas de três gerações de uma família brasileira foram avaliadas para verificar a transmissão do vírus e suas características moleculares nos casos positivos. O caso índice foi identificado durante teste de triagem para o HTLV-2 (Elisa) de sangue doado na Fundação Hemominas, Belo Horizonte, Brasil. Teste sorológico confirmatório e tipagem viral foram realizados por Western blot e reação em cadeia da polimerase. A família consistiu de marido, esposa (caso-índice), três filhas do casal e a mãe do caso-índice. O marido e uma filha foram soropositivos para HTLV-2, apontando para a possibilidade de transmissão transversal e vertical. O marido era motorista de caminhão e relatou relacionamentos sexuais durante suas frequentes viagens. A filha positiva foi amamentada por três meses, diferentemente de suas duas irmãs soronegativas, amamentadas por um mês. A mãe do caso-índice foi soronegativa. Para identificar os subtipos do HTLV-2 foi realizada análise filogenética da região não codificadora do LTR (long terminal repeat) e parte das regiões codificadoras das regiões env e tax. Esses novos isolados de Belo Horizonte estão relacionados com o subtipo IIa, mas apresentam uma variante molecular com tax estendida, previamente relatada como Iic. A análise das regiões env e LTR mostraram que as seqüências virais da família se agregam com isolados de usuários de drogas brasileiros e receptores de hemocomponentes.

## INTRODUÇÃO

O vírus linfotrópico de células T humano tipo 2 (HTLV-2) é endêmico em muitas comunidades indígenas e entre usuários de drogas intravenosas (UDIs) na América do Sul, especialmente no Brasil <sup>1, 2</sup>. HTLV-2 é transmitido através de transfusão de sangue contaminado, incluindo agulhas e seringas compartilhadas por UDIs, relacionamento sexual e de mãe para filho através da amamentação natural <sup>3,4</sup>.

HTLV-2 pode ter sido introduzido no continente americano através da migração de parte da população asiática, há 15000-35000 anos, pelo estreito de Bhering <sup>5,6</sup>. Nas últimas décadas o vírus parece ter sido transmitido de índios americanos para usuários de drogas e se espalhado com a prática do compartilhamento de seringas e agulhas <sup>7</sup>. Embora o HTLV-2 não tenha sido associado claramente à doenças, vários relatos vêm apontando a possibilidade de associação com doença neurológica e taxas maiores para doenças infecciosas <sup>8-11</sup>. Altas taxas de infecção pelo HTLV-2 são encontradas entre UDIs em áreas urbanas, mas é raro entre doadores soropositivos para o HTLV em Belo Horizonte, representando menos de 3% dos candidatos à doação soropositivos para HTLV-1/2.

Nesse estudo descrevemos a transmissão, aspectos clínicos e filogenéticos do HTLV-2 em três gerações de uma família brasileira, identificada a partir de uma candidata à doação de sangue soropositiva, em Belo Horizonte, estado de Minas Gerais.

## MATERIAL E MÉTODOS

População de estudo e sorologia para HTLV-2:

Belo Horizonte é a capital do Estado de Minas Gerais e sua área metropolitana tem próximo a quatro milhões de habitantes – a quarta maior área urbana do Brasil. Nós estudamos uma família da cidade de Sete Lagoas, localizada a 116 km de Belo Horizonte.

A Fundação Hemominas acompanha há nove anos uma coorte de candidatos à doação de sangue, soropositivos para o HTLV-1/2. O consentimento livre e esclarecido é obtido de todos os participantes e a cada dois anos eles são submetidos a testes laboratoriais e exame clínico. O caso índice do estudo foi identificado entre esses candidatos à doação de sangue. A família estudada é formada pela esposa (caso índice), marido, três filhas e a mãe do caso índice.

Diagnóstico sorológico:

Anticorpos para HTLV-1/2 no soro foram detectados por um kit comercial (EIA, Ortho ®), e foram interpretados de acordo com instruções do fabricante.

Reação em cadeia da polimerase (PCR), clonagem e sequenciamento do HTLV-2:

Células mononucleares do sangue periférico (PBMC) foram obtidas pela separação em gradiente Ficoll-Hypaque (Pharmacia, Sweden). DNA genômico das PBMC foi extraído usando o kit DNAzol (GIBCO-BLR). A PCR (nested) de parte do LTR (long terminal repeat), das regiões *env* e *tax* foram feitos como descritos anteriormente <sup>2,12</sup>.

Todos os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel agarose a 2% e corados por brometo de etídio. Os produtos amplificados da região *tax* foram purificados usando o sistema Promega Wizard PCR e sequenciados diretamente em Perkin-Elmer/ABI Prism 377 DNA Stretch Sequencer por Taq FS Dye terminator cycle sequencing. Os mesmos primers internos para PCR foram usados nas reações de sequenciamento. O amplicon de ambas LTR (661 pares de base) foram clonados em pGEM-T easy vector (PROMEGA). Pelo menos dois clones de cada região foram sequenciados (ABI PRISM – Applied Biosystems INC). Sequências foram obtidas dos dois *strands*, repetidas pelo menos uma vez e analisadas usando os software BLASTN, BLASTN GAPPED e BLASTX, disponíveis no Centro Nacional para informação biotecnológica (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) e depositados no GenBank (NCBI, Bethesda, MD).

### **Análise filogenética**

Alinhamento para seqüência múltipla para as regiões *gp21-env*, *tax* e LTR do HTLV-2 das amostras estudadas às seqüências do banco de dados do GenBank / EMBL foram feitas pelo programa Dambe <sup>13</sup>, usando o algoritmos Clustal-W e posteriormente editado pelo programa GeneDoc <sup>14</sup>, resultando alinhamento com 586, 657 e 433 pb, respectivamente.

Árvores de junções vizinhas (NJ) e máxima verossimilhança (ML) foram feitas pelo programa PAUP\* versão 4.0.2b <sup>15</sup> usando o modelo de substituição HKY85, incluindo taxa de heterogeneidade para *env* (taxa de transição / transversão = 3.32; parâmetro alfa = 0.485483) e LTR (taxa de transição / transversão = 1.89; parâmetro alfa = 0.603405) e modelo de substituição de, GTR incluindo taxa de heterogeneidade para *tax* (taxa de transição / transversão = 3.57; parâmetro alfa = 0.36662). A confiabilidade das árvores NJ foi avaliada

analisando 1.000 replicações bootstrap. As árvores foram desenhadas com o programa TreeView 1.4 (Glasgow University, Scotland).

## RESULTADOS

Entre os seis familiares testados três foram soropositivos para HTLV-2 (EIA e Western blot): o caso índice, o marido e uma das filhas (isolados de HTLV-2 BH223, BH339 e BH315, respectivamente). Todos eles foram negativos para HTLV-1. Testadas por PCR, as amostras reativas confirmaram positividade apenas para o tipo 2. A criança infectada tinha 7 anos de idade e havia sido amamentada pela mãe por três meses, diferentemente de suas irmãs que foram amamentadas por um mês. Nenhum membro da família recebeu transfusão de sangue.

O caso índice, uma mulher de 39 anos, foi vista pela primeira vez em julho de 1998, após ser diagnóstica positiva para HTLV-2. Os demais testes de triagem para candidatos a doadores de sangue (HIV, HCV, HBV, Doença de Chagas e sífilis) foram negativos. Ela não tinha outros fatores de risco para HTLV-2, a não ser contato sexual com seu marido positivo para o mesmo vírus. Embora tenha sido amamentada, sua mãe era soronegativa. À primeira consulta ela queixava-se de fraqueza e dores em MMII e lombalgia. Ao exame clínico não foi observada hepato-esplenomegalia ou adenopatia. Nenhuma alteração neurológica foi observada. Análise laboratorial mostrou contagem de leucócitos em  $11 \times 10^3$  células/mm<sup>3</sup>, com  $1,0 \times 10^3$  linfócitos/mm<sup>3</sup>. Nenhum linfócito atípico foi observado ao exame do esfregaço e a avaliação fenotípica dos leucócitos de sangue periférico foi normal. O exame do líquido foi negativo para HTLV-1. Exame de fezes não mostrou a presença de parasitas (técnicas de Hoffman-Pons-Jenner e Baerman-Moraes). Avaliação angiológica dos MMII não mostrou alterações que pudessem explicar a dor nas pernas. Ao exame oftalmológico evidenciou-se *Keratoconjunctivitis sicca*, que foi tratada e o olho voltou ao normal. Também normal foi o exame dermatológico. Reavaliada em 2003, além das mesmas queixas de 1998, a paciente estava sendo tratada para epicondilite no cotovelo esquerdo e iniciara hormonioterapia para menopausa precoce. O exame clínico e oftalmológico persistia sem alterações outras. Foram encontrados linfócitos atípicos nessa ocasião (1% / mm<sup>3</sup>).

O marido estava sob tratamento para câncer de intestino, sob remissão no momento da avaliação, assintomático. Estava com 44 anos e tinha história familiar de câncer do intestino (pai). A filha estava assintomática na primeira visita em 1999, assim como em 2003. A menor havia apresentado infecção bilateral nas unhas dos halux com complicações que exigiram

cirurgia. O exame do sangue periférico não mostrou outras alterações além de presença de plaquetas gigantes.

#### Análise filogenética do HTLV-2:

A análise filogenética do fragmento de 657 e 586 pb compreendendo parte das regiões LTR (figura 1) e *gp21-env* (figura 2), respectivamente, demonstrou que todos os isolados pertencem ao subtipo 2a, evidenciado pelos valores de bootstrap de 76% (LTR) e 88% (*env*). Na análise do LTR, o isolado de Belo Horizonte forma um cluster separado dentro do subgrupo IIa com 76% de evidência e se agrupa com amostras brasileiras de usuários de drogas injetáveis e de pacientes que receberam transfusão, com bootstrap de 82%. Um fragmento de 523 pb compreendendo parte do gene *tax* e correspondendo a posição 7.752-8.274 pb no protótipo HTLV-2a Mo prototype, foi estudado em todas as três amostras de Belo Horizonte (figura 3). Todos os isolados tinham a mesma seqüência no alinhamento final. A análise filogenética desses isolados agrupou-os com outros protótipos brasileiros isolados de índios Kayapós (K96 e RP329) com valor de bootstrap de 53% e pertencentes à variante molecular brasileira HTLV-2, previamente classificada como IIc<sup>16,17</sup>.

## DISCUSSÃO

Nesse trabalho descrevemos a ocorrência de transmissão vertical e horizontal do HTLV-2 numa mesma família. O marido, um motorista de caminhão, relatou contato sexual casual em viagens pelo nordeste do Brasil. Considerando que a mãe da esposa (caso índice) era negativa para o vírus, relação sexual foi a fonte provável de infecção na família.

A criança infectada foi amamentada por três meses, portanto mais tempo que as suas irmãs mais velhas, soronegativas (amamentadas por um mês). Sendo mais nova, ela pode inclusive ter sido exposta a uma carga maior, se considerada a possibilidade de progressão da infecção na mãe<sup>18</sup>.

O caso índice tem queixas neurológicas persistentes, que, embora não preencham critério para diagnóstico de doença neurológica semelhante a HAM/TSP (HAM/TSP like), merecem acompanhamento, com exames físico e de imagens para detecção de possível dano neural. Importante notar a infecção complicada nos halux da criança infectada, que pode apontar comprometimento do sistema imunológico, já previamente relatado em associação com

infecção pelo HTLV-2<sup>11</sup>. A presença de plaquetas gigante parece não ter associação com o vírus tipo 2, pois foram encontradas em sujeitos soronegativos do grupo controle da coorte. O fato da análise filogenética de BH223, BH315 e BH339 usando as seqüências *env* e LTR demonstrar que esses isolados pertencem ao subtipo 2a e se agrupam com isolados brasileiros de usuários de drogas injetáveis e receptores de hemocomponentes, confirma os dados epidemiológicos da família. Além disso, a análise filogenética das regiões LTR e *tax*, confirma que todas as seqüências de Belo Horizontes podem ser classificadas com variante brasileira do HTLV-2a ou subtipo IIc, já que os três isolados mostram uma substituição do nucleotídeo na posição 8.203 (T→ C), quando comparada com protótipo MO. Essa substituição leva a geração de uma proteína Tax mais longa (25 aminoácidos mais longa), como observada previamente em quase todos os isolados brasileiros, fortalecendo a hipótese da transmissão urbana<sup>2, 16, 17</sup>.

Esses resultados demonstram a utilidade de estudos familiares conjuntamente com análise filogenética para inferir vias prováveis de transmissão e para caracterizar geneticamente as cepas; essa abordagem também possibilitaria avaliar a circulação da virose em zonas urbanas e rurais do Brasil.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG, Fundação Hemominas, CNPq e CAPES pelo suporte à essa pesquisa.

## NÚMEROS DE ACESSO

Os números de acesso no GenBank para os fragmentos do HTLV-2 incluídos no estudo filogenético foram os seguintes:

*Análise do Env* : **BH223 (AY509597), BH315(AY509598), BH339 (AY509599)**, PP164 (Y14570), Efe2 (Y14365), G2 (AF074965), G12 (L11456), PIL (AF058086), FOR2 (AF058079), P7 (AF058083), Gab (Y13051), NRA (L20734), Gu (X89270), WH7 (U32900), WH6 (M85226), PH230PCAM (Z46837), Mo (M10060), KAY1 (U19110), KAY2 (U19109), K96 (AF326584), RP329 (AF326583), IVDAros (AF058089), SP5 (U32895), SP-WV (AF139382), BAIDU81 (AF197282), BAIDU72 (AF197281), BAIDU211 (AF197280), BAIDU187 (AF197279), BAIDU2 (AF401496).

*Análise do LTR*: **BH223 (AY509600), BH315 (AY509601), BH339 (AY509602)**, PPI1664 (Y14570), Efe2 (Y14365), NAV.DS (U10257), PH230PCAM (Z46838), LA8A (U10256),

Mo (M10060), PUERB.RB (U10262), NOR2N (U102580), ATL18 (U10252), Mexy17 (L42510), BRAZ.A21 (U10253), KAY73 (L42509), KAY139 (L42508), Kayapo83 (AF139390), Kayapo78 (AF139388), Kayapo79 (AF139389), RP329 (AF326583), SP-WV (AF139382), Tyrio80 (AF139391). Belem02 (AF139392), Belem10 (AF139393), G12 (L11456), WYU1 (U12792), PUERB.AG (U10261), SEM1051 (U10264), PENN7A (U10260), WYU2 (U12794), PYGCAM1 (Z46888), SEM1050 (U10263), NRA (L20734), ITA47A (U10254), NY185 (10259), AA (177238), JÁ (L77243), SPAN129 (U10265), SPAN130 (U10266), 130 (L77235), ITA50A (U10255), Gu (X89270, JAN (L77241), SMH1 (Y09147), SMH2 (Y09148), I-OV (Y09155), I-OG (Y09154), I-IT (Y09151), SFIDU 5-5 (U73010), SFIDU 6-2 (U73022), OkInd 15-8 (U73015), Pilaga (AFO54271), OkInd 14-7 (U73009), FOR6 (AFO54273), Gab (Y13051), G2 (AFO74965), BCIH-2 (AF185282), BAIDU70 (AF401495), BAIDU148 (AF401491), BAIDU86 (AF401492), BAIDU25 (AF491493), BAIDU2 (AF401496),

*Análise do PX:* **BH223 (AY547508)**, **BH315 (AY547510)**, **BH339 (AY547509)**, PP1664 (Y14570), Efe (Y14365), Mo (M10060), RP329 (AF326583), K96 (AF326584), SP-WV (AF139382), Gu (X89270), NRA (L20734), Gab (Y13051), G2 (AF074965), G12 (S67034), BAIDU2 (AF401496).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Shindo N, Alcantara LC, Van Dooren S, Salemi M, Costa MC, Kashima S, Covas DT, Teva A, Pellegrini M, Brito I, Vandamme AM, Galvao-Castro B: Human retroviruses (HIV and HTLV) in Brazilian Indians: seroepidemiological study and molecular epidemiology of HTLV type 2 isolates. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2002 Jan 1;18:71-77.
2. Alcantara LCJ, Shindo N, Van Dooren S, Salemi M, Costa MCR, Kashima S, Covas DT, Vandamme A-M, Galvao-Castro B: Brazilian HTLV type 2a strains from intravenous drug users (IDUs) appear to have originated from two sources: Brazilian Amerindians and European/North American IDUs. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2003; 19:519-523.
3. Lee H, Swanson P, Shorty VS, Zack JA, Rosenblatt JD, Chen IS: High rate of HTLV-2 infection in seropositive IV drug abusers in New Orleans. *Science*. 1989; 244:471-475.
4. Catalan-Soares BC, Carneiro-Proietti ABF, Proietti FA, GIPH: HTLV-I/II and blood donors: determinants associated with seropositivity in a low risk population. *Rev Saúde Pública* 2003; 37:470-476.
5. Lairmore MD, Jacobson S, Gracia F, De BK, Castillo L, Larreategui M, Roberts BD, Levine PH, Blattner WA, Kaplan JE: Isolation of human T-cell lymphotropic virus type 2 from Guaymi Indians in Panama. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990; 87:8840-8844.
6. Biggar RJ, Taylor ME, Neel JV, Hjelle B, Levine PH, Black FL, Shaw GM, Sharp PM, Hahn BH: Genetic variants of human T-lymphotropic virus type II in American Indian groups. *Virology*. 1996; 216:165-173.
7. Vandamme AM, Bertazzoni U, Salemi M: Evolutionary strategies of human T-cell lymphotropic virus type II. *Gene* 2000; 261:171-178.
8. Biglione MM, Pizarro M, Salomon HE, Berria MI: A possible case of myelopathy/tropical spastic paraparesis in an Argentinian woman with human T lymphocyte virus type II. *Clin Infect Dis* 2003; 37:456-458.
9. Silva EA, Otsuki K, Leite AC, Alamy AH, Sa-Carvalho D, Vicente AC: HTLV-2 infection associated with a chronic neurodegenerative disease: clinical and molecular analysis. *J Med Virol* 2002;66:253-257.
10. Modah LE, Young KC, Varney KF, Khayam-Bashi H, Murphy EL: Are Human T-cell leukemia/lymphoma virus type II seropositive injection drug users at increased risk of bacterial pneumonia, abscess and lymphadenopathy? *J Acq Imm Defic Syndr Human Retrovirol*. 1997; 16:169-175
11. Murphy EL, Fridey J, Smith JW, Engstrom J, Sacher RA, Miller K et al: HTLV associated myelopathy in a cohort of Human T-cell leukemia/lymphoma virus type I and II infected blood donors. *Neurology* 1997; 48:315-320.

12. Switzer, W.M.; Pieniazek, D.; Swanso, P.; SAMDAL, H.H.; Soriano, V.; Khabbaz, R.F.; Kaplan, J.E.; Lal, R.B.; Heneine, W: Phylogenetic Relationship and Geographic Distribution of Multiple Human T-Cell Lymphotropic Virus Type II Subtypes, *J Virol* 1995; 69:621-632.
13. Xia, X. 2000. DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution. Department of Ecology and Biodiversity, University of Hong Kong.
14. Nicholas KB, Nicholas HBJ, Deerfield DW 1997. GeneDoc: Analysis and visualization of genetic variation. *EMBNEW.NEWS* 4.
15. Swofford, DL, Olsen GJ, Waddell PJ, Hillis DM: Phylogenetic inference. In: *Molecular systematics*. (D.M. Hillis *et al*, ed.) Massachusetts, 1996, pp. 407-514.
16. Lewis MJ, Novoa P, Ishak R, Ishak M, Salemi M, Vandamme AM, Kaplan MH, Hall WW. Isolation, cloning, and complete nucleotide sequence of a phenotypically distinct Brazilian isolate of human T-lymphotropic virus type II (HTLV-2). *Virology*. 2000 May 25;271(1):142-154
17. Eiraku N, Novoa P, da Costa Ferreira M, Monken C, Ishak R, da Costa Ferreira O, Zhu SW, Lorenco R, Ishak M, Azevedo V, Guerreiro J, de Oliveira MP, Loureiro P, Hammerschlak N, Ijichi S, Hall WM: Identification and characterization of a new and distinct molecular subtype of human T-cell lymphotropic virus type 2. *J Virol*. 1996; 70:1481-1492.
18. Kaplan JE, Lhabbaz RF, Murphy EL et al. Male to female transmission of HTLV-I/II: association of viral load. *J Acq Imm Defic Syndr Human Retrovirol* 1996; 12:193-201.

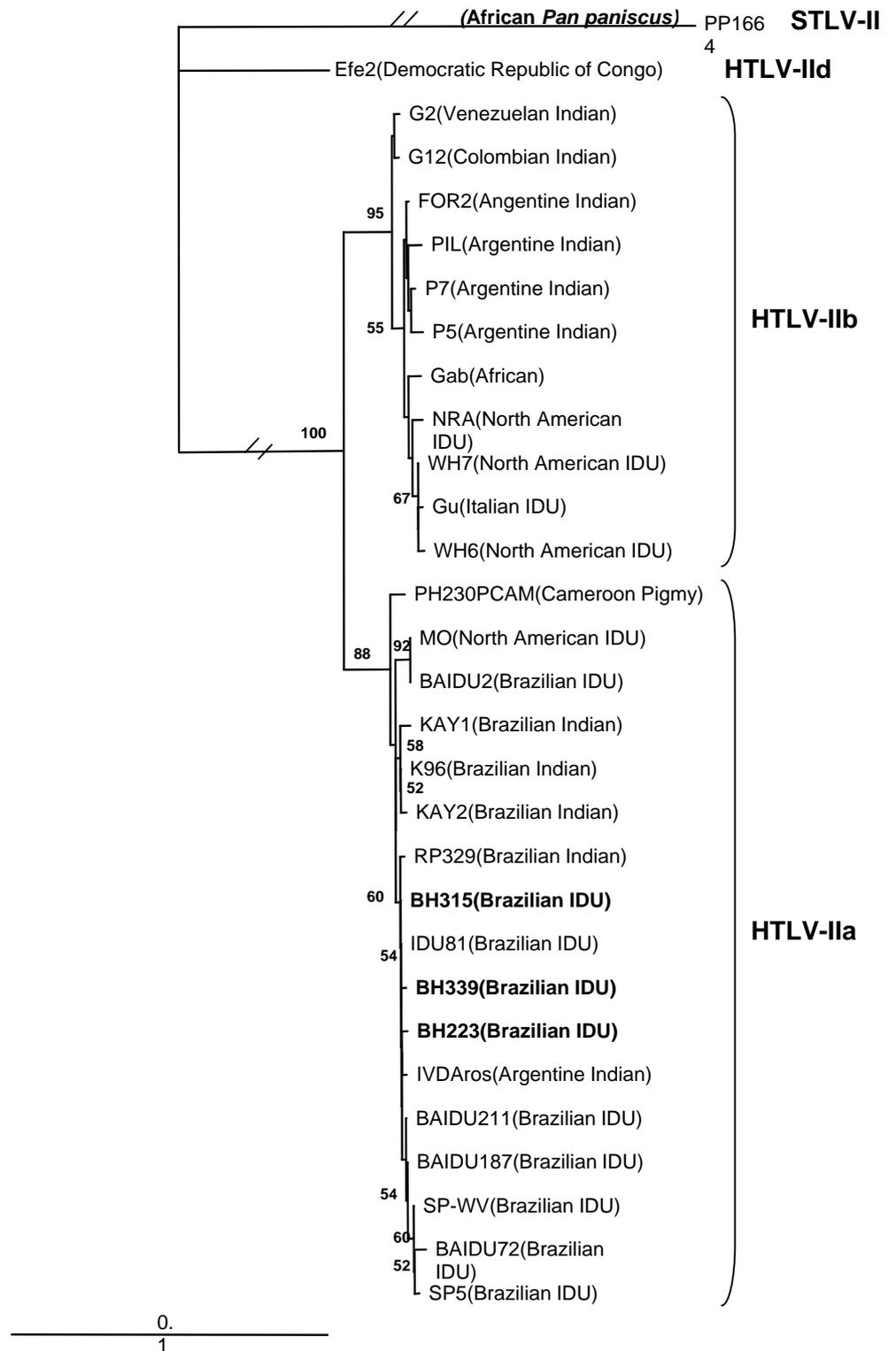


Figura 1. Árvore NJ (rooted) de três novos sequenciamentos e um conjunto representativo de subtipos baseados em 586 fragmentos de pares de bases da região *env*. Os valores de *bootstrap* (acima de 50%, usando 1000 amostras) nos ramos representam o percentual de árvores para as quais a seqüência num dos terminais dos ramos forma um grupo monofilético. Os subtipos Efe2 e PP1664 são usados como grupos externos. As origens geográfica e étnica são dadas entre parênteses. Os novos sequenciamentos de *env* incluídos nessa análise estão em negrito.

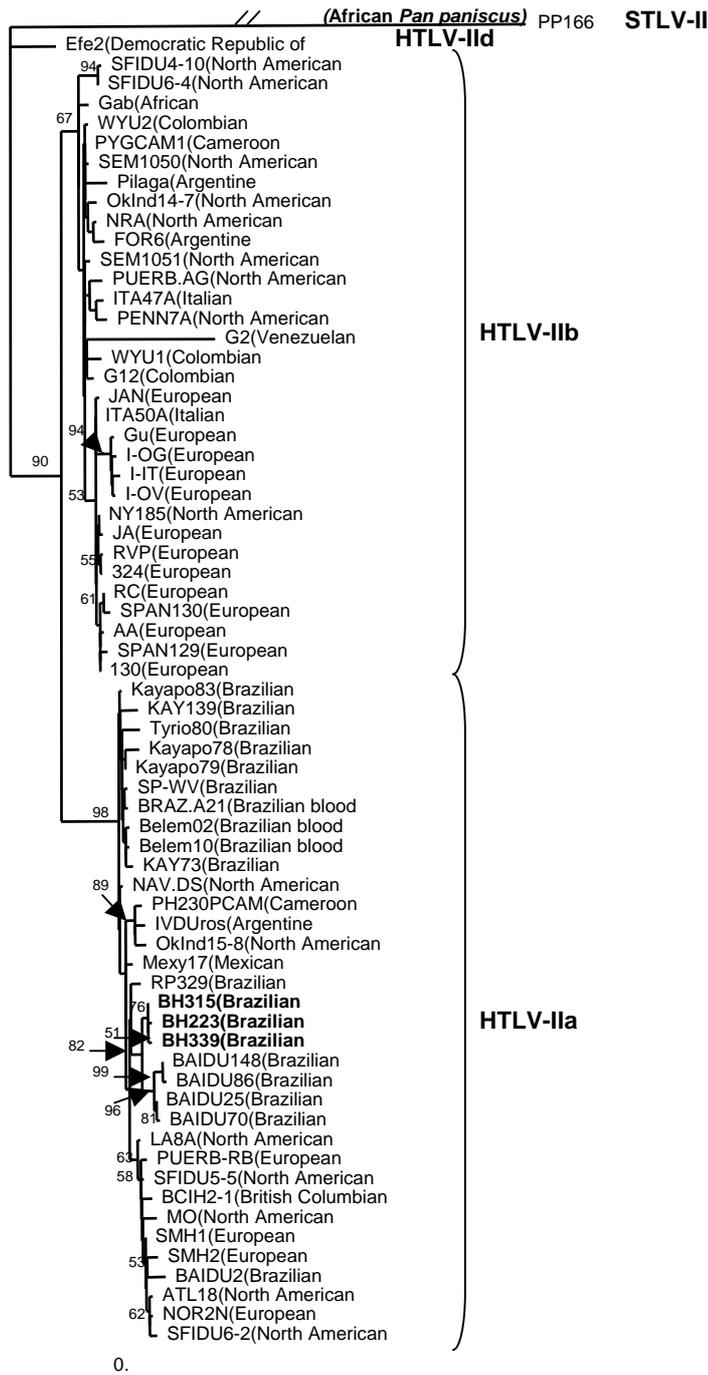


Figura 2. Árvore NJ (rooted) de três novos sequenciamentos baseados em fragmento de 626 pares de base da região LTR. Os valores do *bootstrap* (acima de 50%, usando 1000 amostras) nos ramos representam o percentual de árvores para as quais a seqüência num dos terminais dos ramos forma um grupo monofilético. Os subtipos Efe2 e PP1664 são usados como grupos externos. As origens geográfica e étnica são dadas entre parênteses. Os novos sequenciamentos de *LTR* incluídos nessa análise estão em negrito.

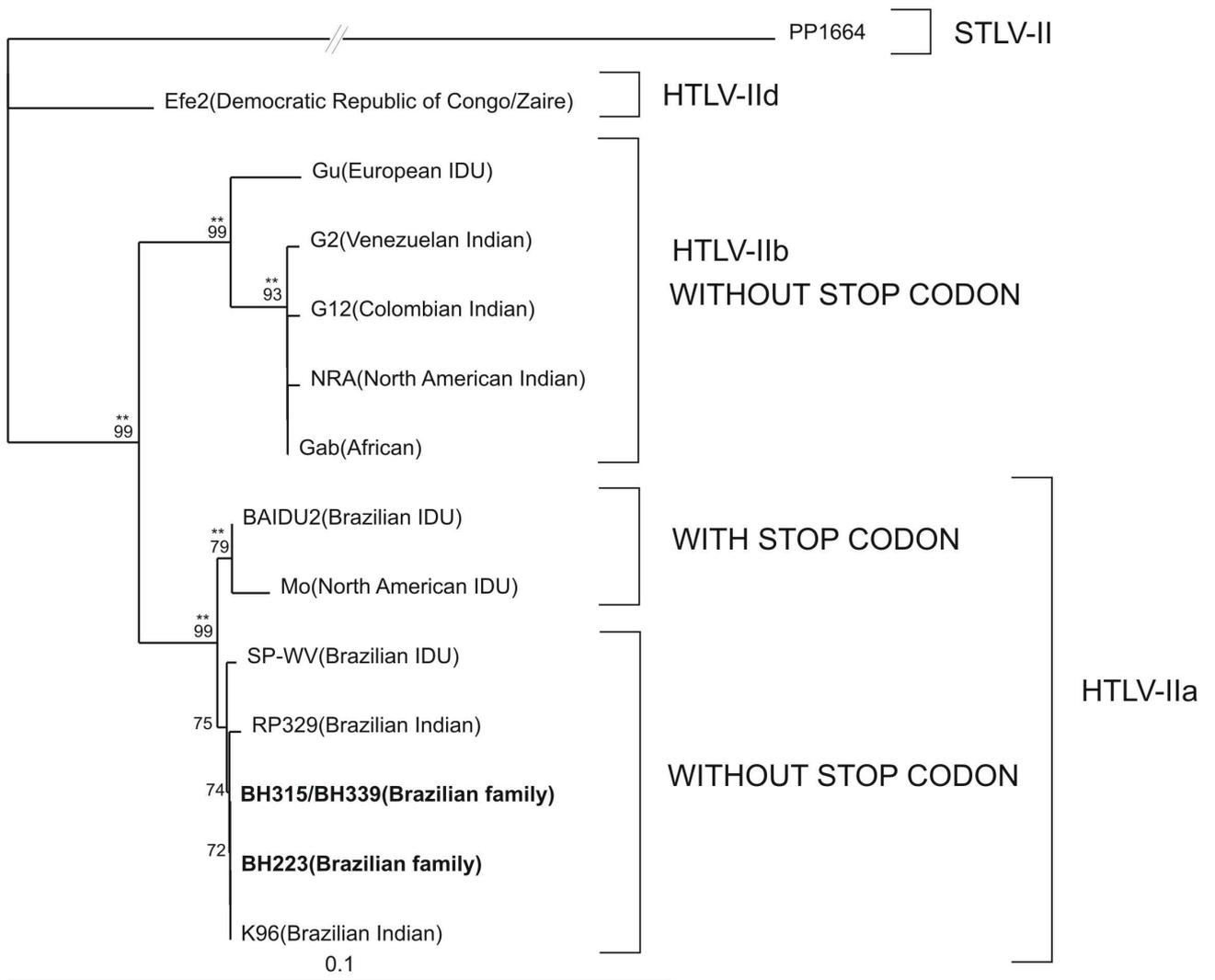


Figura 3. Árvore NJ (rooted) de três novos sequenciamentos baseados em fragmento de 530 pares de base da região *tax*. Os valores do *bootstrap* (acima de 50%, usando 1000 amostras) nos ramos representam o percentual de árvores para as quais a seqüência num dos terminais dos ramos forma um grupo monofilético. . Os subtipos Efe2 e PP1664 são usados como grupos externos. As origens geográfica e étnica são dadas entre parênteses. Os novos sequenciamentos de *tax* incluídos nessa análise estão em negrito (BH226, BH315 E BH 339)

**ARTIGO 4**

**Perfil HLA-classe I em infectados pelo HTLV-1 em coorte brasileira.**

## PERFIL HLA – CLASSE I EM INFECTADOS PELO HTLV-1 EM COORTE BRASILEIRA

**Bernadette Catalan-Soares<sup>1</sup>, Anna Bárbara de Freitas Carneiro Proietti<sup>1</sup>,  
Rodrigo Corrêa-Oliveira<sup>2</sup>, Flávio da Fonseca<sup>2</sup>, Daniela Peralva-Lima<sup>2</sup>,  
Fernando Augusto Proietti<sup>3</sup> e GIPH\*.**

<sup>1</sup>Fundação Hemominas; <sup>2</sup> Centro de Pesquisa René Rachou, Fiocruz, <sup>3</sup>Departamento de Medicina Preventiva e Social, Faculdade de Medicina, UFMG; <sup>3</sup>Departamento de Medicina Preventiva e Social, Faculdade de Medicina, UFMG;

\*Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em HTLV-1/2

Palavras-chave: HTLV-1/2; tipagem HLA; ATL; HAM/TSP; prognóstico.

### RESUMO

A clara associação do HTLV-1 com patologias de prognóstico reservado, somada à evidência de carga proviral mais alta nas pessoas com mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP) e com leucemia de células T do adulto (ATL) do que em portadores assintomáticos, desafiam estudiosos do vírus. Dados sobre fatores que pudessem interferir na carga proviral de infectados ainda permanecem controversos. A eficiência da resposta imune parece ser um dos principais determinantes da carga proviral e é regulada (*in vivo*) pelos genes associados ao complexo principal de histocompatibilidade (HLA). Como a maioria dos trabalhos de tipagem HLA em infectados pelo HTLV-1 se refere à população japonesa, é importante verificar o que ocorre com brasileiros infectados pelo vírus, não só pela diferente herança genética como pelo alto grau de miscigenação existente na formação da população brasileira. Noventa e quatro indivíduos infectados pelo HTLV-1 participaram do estudo: 84 (89,37%) assintomáticos, nove (9,57%) com HAM/TSP e um (1,06%) ATL. A tipagem HLA foi realizada pelo método PCR-SSP. O estudo mostrou que existem semelhanças e diferenças entre os resultados japoneses e brasileiros, sugerindo que os genes HLA não controlam isoladamente os desfechos nos infectados.

## INTRODUÇÃO

Os vírus linfotrópicos humanos tipo 1 e 2 (HTLV-1 e 2) foram os primeiros retrovírus humanos isolados no início da década de 80 (Poiesz BJ, 1980). O tipo 1 (HTLV-1) está associado à leucemia/linfoma de células T do adulto (ATL) em 2 a 4 % dos infectados (Murphy EL, 1989); a uma doença neurológica degenerativa, a paraparesia espástica tropical / mielopatia associada ao HTLV-1 (TSP/HAM) em proporção semelhante à da ATL (Osame M, 1990; Gessain A, 1992) e à uveíte associada ao HTLV-1, conhecida como HAU (Mochizuki M, 1992). Entretanto, mais estudos são necessários para definir a sua associação a outras patologias como artrite, fibromialgia, depressão, infecções pulmonares, urinárias e susceptibilidade aumentada à infecção, a fenômenos imunológicos como uveíte e artrite (Nishioka K, 1996) e a lesões dermatológicas (Gonçalves DU, 1999). Nas regiões consideradas endêmicas – sudoeste do Japão, Caribe e África – as prevalências para anticorpos anti-HTLV-1 variam de 3% a 15%, são maiores em idade mais avançada e no sexo feminino (Blattner WA, 1986; Chavance M, 1990; Tokudome S, 1989).

Embora compartilhando 65% do genoma com o tipo 1, o HTLV-2 é bem menos prevalente, predominando em grupos indígenas nativos nas Américas e entre usuários de drogas injetáveis nos Estados Unidos e Europa (Hall WW, 1994). Não existe associação clara de patologias e HTLV-2. Recentemente ele tem sido associado a uma alteração neurológica semelhante à TSP/HAM e parece causar aumento de susceptibilidade a infecções bacterianas (Murphy EL, 1999). Um importante desafio na pesquisa da infecção por HTLV-1 é tentar determinar a razão para os diferentes desfechos entre os indivíduos infectados pelo vírus, já que a maioria persiste como portador assintomático e alguns desenvolvem graves patologias como HAM/TSP e ATL. Variações mínimas na sequência de ácidos nucleicos no genoma de isolados virais já foram observadas entre regiões geográficas diferentes, e certos subtipos do HTLV-1, estão provavelmente associadas a riscos diferentes para HAM/TSP. (Slattery JP, 1999).

A maioria dos infectados pelo HTLV-1 apresenta intensa resposta celular imune na fase crônica da infecção, indicando que proteínas virais são expressas persistentemente. O título de anticorpos no soro se correlaciona com a carga proviral, mas não está claro se esse título elevado contribui para proteção ou patogênese das doenças. O fato do HTLV-1 proviral ser

capaz de ser transmitido diretamente de uma célula para outra, sem a necessidade de formar virions envelopados extracelulares, (Igakura T, 2003) sugere que o vírus tem exposição limitada à pressão de seleção exercida pelos anticorpos do hospedeiro. A eficiência da resposta do linfócito T citotóxico (CTL) individual parece ser um dos principais determinantes da carga proviral de um indivíduo. Segundo pesquisas realizadas em população japonesa infectada, essa eficiência na resposta poderia ser geneticamente condicionada (Jeffery KJM, 1999). Outros autores defendem que a função da célula T e sua expressão genética também devem ser consideradas nessa eficiência do sistema imune (Bangham CRM, 2003). A resposta do linfócito T CD4+ (“helper”) é 25 maior nos pacientes com HAM/TSP do que nos portadores assintomáticos com carga semelhante. Isso reforça a hipótese de que estas células, ativadas pelo contato com o antígeno do HTLV-1 ou pela infecção da própria célula, causem lesões inflamatórias que resultem em danos teciduais. (Goon PKC, 2002). Além disso, células infectadas pelo HTLV-1 se tornam susceptíveis à lise mediada por CD8+, antes do aparecimento de proteínas de envelope detectáveis na superfície celular. (Kannagi M, 1983). Como CD8+ desempenha importante papel na limitação da replicação viral em outras infecções, é natural pensar que o mesmo possa ocorrer com a infecção pelo HTLV-1. Outros autores sugerem que são exatamente as células CD8+ específicas para o HTLV-1 que causam dano tecidual em HAM/TSP (Jacobson S, 2002).

Avaliação da resposta imune em pacientes com HAM/TSP e em portadores assintomáticos é importante para compreensão da patogênese e pode identificar marcadores de risco (ou proteção) nos indivíduos que desenvolveram (ou não desenvolveram) a mielopatia. Em estudo brasileiro comparando ex-doadores de sangue soropositivos para o HTLV-1 (n=36) e pacientes que desenvolveram a mielopatia associada ao HTLV-1 (n=17), foi observada resposta imune celular exacerbada, típica de HAM/TSP, em 14 (39%) portadores assintomáticos (Santos SB, 2004). O acompanhamento desses assintomáticos com resposta exacerbada mostrará se a intensidade da resposta imune pode ser considerada determinante de prognóstico.

A magnitude das respostas imunes *in vivo* é regulada por genes associados ao complexo principal de histocompatibilidade do hospedeiro (HLA). Este complexo é constituído por alelos, cujas moléculas funcionam na sinalização entre linfócitos e células apresentadoras de antígenos. Sonoda e colaboradores (1992) sugeriram que ATL e HAM/TSP desenvolvem-se

exclusivamente devido aos diferentes haplótipos dos portadores. Outros trabalhos, no entanto, relataram que a susceptibilidade para uma ou outra patologia não pode ser explicada apenas pelos haplótipos HLA, podendo, porém ser sugerida a existência de alelos que aumentariam o risco para o desenvolvimento de uma dessas doenças. Comparando-se portadores assintomáticos com pacientes portadores de HAM/TSP no Japão, os autores concluíram que os indivíduos que apresentaram o alelo HLA-A\*02 (HLA-02) tinham metade do risco de desenvolver a mielopatia (Jeffery KJM, 1999). Sugerem que tal alelo seria particularmente eficiente para controlar a replicação do HTLV-1. Por outro lado, a presença do alelo HLA-DRB1\*0101(HLA-DR1) parece aumentar o risco para TSP/HAM, especialmente na ausência do HLA-02. Portadores assintomáticos que possuíam o alelo HLA\*02 apresentaram metade da carga em relação aos indivíduos com o alelo ausente. No entanto, a frequência dos alelos HLA não diferiu entre pacientes com HAU e portadores assintomáticos, embora a carga proviral tivesse sido apontada como fator de susceptibilidade. (Kaminagayoshi T, 2005). Há relatos de resultados diferentes para população iraniana (judeus Mashhad), formada de portadores assintomáticos e pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1, onde a presença de HLA\*02 ou Cw\*08 não teve nenhum efeito na carga ou no risco para HAM/TSP. Os autores acreditam que subgrupos de *tax* distintos nas populações japonesa e iraniana, bem como a diferente herança genética, possam explicar os resultados divergentes. (Sabouri AH, 2005).

A frequência dos alelos HLA foi estimada em população brasileira (n=71) infectada pelo HTLV-1. O grupo foi estratificado por etnias e pelos status assintomático, portador de HAM/TSP e portador de ATL. Menor frequência de HLA\*02 foi observada em pacientes brancos no grupo ATL e nos pacientes brancos no grupo HAM/TSP. Associação positiva com HLA-A26 foi observada nos pacientes brancos com ATL, resultado semelhante ao da população japonesa. Várias moléculas HLA parecem influenciar o desfecho da infecção pelo vírus e podem variar em diferentes grupos étnicos (Borduchi DM, 2003).

A clara associação do HTLV-1 com patologias de prognóstico reservado, somada à evidência de carga proviral mais alta nas pessoas com HAM/TSP e ATL do que em portadores assintomáticos, desafiam estudiosos do vírus. Dados sobre determinantes que pudessem interferir na resposta imune de infectados que permanecem assintomáticos (proteção?) e de pacientes infectados que desenvolvem a neuropatia ou a leucemia de células T

(susceptibilidade?), ainda são controversos. Esse estudo tem por objetivo avaliar determinantes epidemiológicos (via provável de infecção, variáveis demográficas) e genéticos (perfil HLA classe I) para verificação de possível associação com HAM/TSP. Além disso, como a maioria dos trabalhos de tipagem HLA se refere à população japonesa, é importante verificar o que ocorre com brasileiros infectados pelo HTLV-1, não só pela diferente herança genética como pelo alto grau de miscigenação existente na formação da população brasileira.

## **METODOLOGIA**

### *População:*

Noventa e quatro indivíduos infectados pelo HTLV-1 participaram do estudo: 84 (89,37%) assintomáticos, 9 (9,57%) com HAM/TSP e 1 (1,06%) com ATL. Esses indivíduos faziam parte de um estudo de coorte prevalente, sendo conduzido em Belo Horizonte, iniciado em 1997. Com o objetivo de estudar aspectos genéticos do hospedeiro e limitados à possibilidade técnica de 100 testes, selecionamos indivíduos que pertencessem aos núcleos familiares da coorte, com pelo menos dois indivíduos infectados num mesmo núcleo. Dos assintomáticos, 33 (39,29%) eram candidatos à doação de sangue, que embora tivessem sido considerados aptos à triagem clínica, tiveram o HTLV-1 detectado em teste sorológico de triagem no banco de sangue, sendo o diagnóstico confirmado pelo Western blot e PCR. Os outros 51 assintomáticos, também soropositivos para HTLV-1, eram familiares (mãe, filho ou parceiro sexual há mais de 6 meses) desses doadores, que foram convidados a participar do estudo. Dos 9 pacientes com HAM/TSP, 2 eram ex-doadores, 5 eram seus familiares e 2 foram identificados quando procuraram assistência na Rede Sarah do Aparelho Locomotor (Belo Horizonte) e referenciados para nós, para avaliação da família. Os indivíduos com HAM/TSP preencheram os critérios para envolvimento neurológico usando o critério ASIA (American Spinal Injury Association) (Waters RL, 1991).

O caso de ATL foi diagnosticado conforme critérios clássicos (Levine, 1994). Após concordância em participar do estudo (assinatura do consentimento livre e esclarecido) os sujeitos responderam ao questionário epidemiológico (vide anexo 4.3) e colheram amostra de sangue para tipagem HLA. Nenhum dos 94 participantes relatou ascendência japonesa.

Os sujeitos foram classificados, do ponto de vista clínico, em três grupos:

- a) Assintomático: não preenchem critério diagnóstico para HAM/ TSP ou ATL
- b) Portador de HAM/TSP
- c) Portador de ATL

#### *Tipagem HLA:*

A tipagem HLA foi realizada pelo método PCR-SSP, utilizando o kit HLA-SSP da “One Lambda Inc”, conforme instruções do fabricante e metodologia já publicada (Newton. CR, 1889; Slater RD, 1989). A nomenclatura dos alelos segue a atualização do banco de dados do IMGT, atualizada em janeiro de 2004 (Robinson J, 2000)

#### *Desenho do estudo e análise dos dados:*

Estudos descritivos e de prevalência foram realizados a partir dos dados arquivados e processados no banco de dados da coorte GIPH (Epi Info).

As diferenças foram testadas quanto à significância pelo teste de  $X^2$  ou , quando indicado, pelo teste exato de Fisher, considerando-se significativos resultados cujo valor p foi igual ou inferior a 0,05. Os resultados apresentam média e desvio padrão quando aplicável (teste t).

## **RESULTADOS**

Análise descritiva da população estudada (N=94) está relatada na tabela 1. No grupo assintomático da coorte a amplitude da idade foi de 11 a 76 anos e no grupo HAM/TSP variou de 31 a 72 anos.

Quanto ao perfil dos haplótipos HLA – classe I, os sujeitos foram classificados com base em dados da literatura japonesa (Kitze B et al, 1996; Jeffery KJM et al, 1999, 2000; Yashiki S et al, 2001;) e nacional (Borduchi DM et al, 2003) (Quadro 1)

A frequência absoluta dos alelos está relatada na tabela 2 (geral) e 3 (alelos selecionados). Na figura 1 comparou-se a frequência relativa dos alelos de proteção e risco para HAM/TSP nos dois grupos avaliados. Nenhum dos sujeitos tipados apresentou os alelos B\*5401, B\*4002, B\*4006 ou B\*4801.

A tabela 4 mostra resultados da tipagem HLA encontrados para pacientes com HAM/TSP (n=9) e com ATL (n=1) da coorte GIPH.

O alelo Cw\*07 foi mais freqüente em pacientes com HAM/TSP (66,67%) quando comparados com assintomáticos (28,05%) (p= 0,027). Comparando a presença do alelo de risco para HAM/TSP (Cw\*07) e a forma como pode ser afetado pela presença do alelo de proteção (A\*02), os resultados mostraram que o Cw\*07 aumentou a chance de HAM/TSP nos que não possuíam o alelo de proteção, mas não nos sujeitos que possuíam o A\*02 (Tab. 5).

Alguns heredogramas mostraram resultados interessantes. Na Figura 2 observou-se a transmissão vertical e a presença de alelo de risco para ATL em homozigose (A\*26, A\*26) para criança cujo pai faleceu com leucemia. Três gerações de uma mesma família foram avaliadas para a presença do HTLV-1 a partir de um caso de HAM-TSP (Fig. 3). Quinze outros soropositivos foram encontrados e mais um caso da mielopatia. Alguns membros da família foram tipados para HLA e mostraram alelos de risco para HAM/TSP.

## DISCUSSÃO

A amplitude da idade (11 a 76 anos) entre os assintomáticos refletiu a formação de núcleos familiares, alguns deles com indivíduos de três gerações testados (Fig. 6). Houve predominância do sexo feminino, o que reforça a maior prevalência da infecção em mulheres. No grupo com HAM/TSP a média de idade é ainda mais elevada (48,89 +/- 12,74) e as mulheres foram duas vezes mais acometidas que os homens. A diferença entre as médias nos dois grupos não foi significativa (p>0,05). Na amostra avaliada houve predominância da via vertical como provável via de infecção. O achado não reflete a realidade da coorte em geral (Catalan-Soares, 2004), onde a via transversal foi mais freqüente, mas traduz o nosso objetivo de formação de núcleos familiares para o estudo genético.

### *Distribuição da freqüência de alelos*

Entre os sujeitos assintomáticos (Tabela 2), 47,62% (40/84) possuíam o alelo A\*02, próximo ao encontrado no Japão, na população de candidatos à doação de sangue, da ordem de 49,75% (100/201) (Jeffery KJM, 1999). Ainda na tabela 2, onde comparamos a freqüência relativa dos

alelos encontrados (em função do total de alelos da população), dos seis alelos que se mostraram significativos (A\*02, A\*23, B\*35, B\*51, Cw\*04 e Cw\*12), apenas o A\*02 coincide com dados da população de Kagoshima. Entre os alelos selecionados para comparação com a população japonesa (tabela 3), o alelo A\*26 (risco para ATL) e Cw08 (proteção para HAM/TSP) foram os mais raros ( $8/84 = 9,52\%$ ) na população assintomática. A comparação da frequência relativa dos alelos de risco e proteção nos grupos assintomático e HAM/TSP (em função da classificação dos sujeitos) (fig. 1) mostrou a predominância do alelo de proteção no grupo assintomático e do alelo de risco Cw\*07 no grupo HAM/TSP. Resultados semelhantes foram relatados para a população de Kagoshima (Yashiki S, 2001). Não é frequente o diagnóstico de leucemias de células T do adulto no Brasil, embora casos de HAM/TSP sejam mais facilmente encontrados.

Na coorte Giph, em seu nono ano de acompanhamento, já ocorreram sete casos incidentes de HAM/TSP (2,03%) em candidatos à doação ( $n=345$ ) e cinco casos (incidentes + prevalentes) entre familiares desses doadores; casos incidentes de leucemia representam 0,29% ( $1/345$ ) no subgrupo de ex-doadores. Tal fato pode se dever à pequena atenção dada à pesquisa do vírus nos casos de leucemias de células T (sub-diagnóstico). Contudo, a pequena frequência dos alelos de risco para a doença hematológica (assumindo os mesmos alelos de risco da população japonesa) precisa ser considerada e mais estudos, com amostras maiores, juntamente com esforço para buscar a presença do HTLV-1 nos casos de ATL, serão necessários para esclarecimento.

O alelo de risco para HAM/TSP Cw\*07 foi encontrado em 62,50% dos pacientes com HAM/TSP. Quando analisado juntamente com o alelo A\*02, foi capaz de aumentar o OR dos que não possuíam o alelo de proteção. Tal efeito protetor do A\*02 está de acordo com as pesquisas realizadas em Kagoshima, mas difere de resultados encontrados entre iranianos (judeus Mashhad) de outra região endêmica. Presença diversificada de subgrupos do HTLV-1 em áreas geográficas distintas e constituição genética dos grupos estudados pode explicar diferenças no nível de riscos. (Sabouri AH, 2005). Embora nossos resultados sejam preliminares e o tamanho da população testada seja pequeno, alguns outros alelos que não os citados nos trabalhos japoneses merecem atenção e pesquisas mais aprofundadas, pois podem traduzir diferenças na herança genética e o que é risco / proteção para uma população pode

não ser para outra. Incidência de HAM/TSP de 2% está de acordo com resultados da literatura.

Embora com pequeno número de indivíduos testados, os resultados preliminares mostraram a presença de alelos de risco para HAM/TSP no grupo de pacientes, bem como na família cujo heredograma foi mostrado na figura 3: dois casos de HAM/TSP já foram diagnosticados e outros membros da família, embora sem sinais ou sintomas no momento do estudo, apresentaram alelos de risco. O acompanhamento do grupo permitirá conclusões futuras.

O heredograma apresentado na Fig. 5 nos chamou atenção pelo fato da filha do casal infectado apresentar em homozigose alelos de risco para leucemia (A\*26); o pai era soropositivo e faleceu de leucemia. O pai não foi tipado, mas em função da ausência desses alelos na mãe, provavelmente ele possuía A\*26. A jovem tinha 18 anos por ocasião do estudo e se mostrava assintomática. A Fig. 6 chama atenção para 15 casos de infecção pelo HTLV-1 em três gerações de uma família, identificados a partir do caso índice, com a mielopatia. Dois casos de HAM/TSP já se manifestaram nessa família e de cinco membros da família que foram tipados, quatro têm o alelo Cw\*07 (de risco para HAM/TSP). Transmissão vertical nas três gerações nos alerta para algo que poderia ser evitado caso houvesse diagnóstico anterior, através da não amamentação. A importância do teste para HTLV-1 no pré-natal é bem ilustrada nessa situação. Curioso observar o caso de uma menina infectada na terceira geração, cujos pais são soronegativos. A criança foi amamentada por tia soropositiva, numa atitude relativamente comum em comunidades de cidades do interior do estado. Interessante notar que apenas mulheres na terceira geração estavam infectadas.

Os autores vêm no tamanho reduzido da amostra de HAM/TSP a principal limitação aos resultados encontrados nesse estudo. Mas são resultados preliminares de uma coorte aberta que ainda tem onze anos para acompanhamento desses sujeitos. É nossa intenção tipar todos os participantes do estudo em breve, bem como quantificar a carga proviral através da PCR em tempo real. Atenção especial será dada aos assintomáticos que apresentaram alelos de risco para verificação se a presença deles impacta o desfecho de saúde dos portadores.

O estudo mostrou, até o momento, que existem semelhanças e diferenças entre a população brasileira avaliada e a japonesa, quanto ao papel de alelos do HLA classe I na proteção e risco

para HAM/TSP. Entretanto, o fato de encontrarmos portadores do perfil de risco para HAM/TSP e/ou ATL que permanecem assintomáticos e pacientes que desenvolvem as patologias clássicas associadas ao HTLV-1 sem apresentar os haplótipos de risco, sugere que os genes ligados ao HLA não controlam sozinhos os desfechos dos infectados. Estudos ambientais e genéticos devem trazer mais informações sobre eficácia, fatores de proteção / susceptibilidade à infecção.

A compreensão da importância da resposta imune (condicionada, por sua vez pelo HLA) afetando o prognóstico de infectados nos impulsiona a aprofundar essa linha de pesquisa. O HTLV-1 prossegue como um desafio a estudos mais profundos em busca de respostas que possam esclarecer seu complexo relacionamento com o hospedeiro.

#### **AGRADECIMENTO**

Os autores agradecem a Marina Lobato e Ronaldo Portela pela preparação das amostras para análise e participação parcial na tipagem HLA, respectivamente; e aos Drs. João Gabriel Ribas e Sueli Namen pela avaliação clínico-neurológica dos pacientes.

## REFERÊNCIAS

- Bangham CRM. Genetics and dynamics of the immune response do HTLV-1. *Gann Monogr Câncer Res*; 50: 397-402; 2002.
- Bangham, CRM. The immune control and cell-to-cell spread of HTLV-1. *Journal of General Virology*; 84:3177-3189; 2003.
- Blattner WA, Nomura A, Clark JW, et al. Modes of transmission and evidence for viral latency from studies of Human T-cell Lymphotropic Virus type I in Japanese migrant populations in Hawaii. *Procedures National Academy Sciency USA*; 83: 4895-8; 1986
- Borduchi DM, DeLima MG, Morgun A et al. Human leukocyte antigen and human T-cell lymphotropic virus type 1 associated diseases in Brazil. *British Journal of Hematology*; 123: 954-959; 2003.
- Catalan-Saores BC, Carneiro Proietti AB, Proietti FA et al. Vírus T linfotrópico humano em familiares de candidatos a doação de sangue: disseminação silenciosa. *Rev Panam Salud Publica*; 16:387-394; 2004.
- Chavance M, Frery N, Valette I, Schaffar-Deshayes L, Monplaisir N. Sex Ratio of Human T-Lymphotropic Virus type I infection and blood transfusion. *American Journal Epidemiology*; 131: 395-9; 1990.
- De The, G.; Bonford, R. An HTLV-1 vaccine: why, how, for whom? *AIDS res. Hum. Retroviruses*, 9: 381-386, 1993.
- Gessain A and Gout O, Chonic myelopathy associated with human T-lymphotropic virus type I (HTLV-1) *Annals Internal Medicine*; 117:933-46; 1992.
- Gonçalves DU, Guedes AC, Catalan-Soares BC, Pinheiro SR, Martins ML et al. Dermatological findings in 211 HTLV-1 positive, indeterminate and seronegative blood donors. Ninth International Conference On Human Retrovirology: HTLV; April 5-9, Kagoshima, Japan; 1999.
- Goon PKC, Hanon E, Igakura T et al. High frequencies of Th1 type CD4+ T-cells specific to HTLV-1 Env and Tax proteins in patients with HAM/TSP. *Blood*; 99:3335-3341; 2002.
- Hall WW, Kubo T, Lijichi S, Takahashi H, Zhu SW. Human T cell leukemia/lymphoma virus, type II (HTLV-II): emergence of an important newly recognized pathogen. *Seminars Virology*; 5: 165-78; 1994.
- Igakura T, Stinchcombe JC, Goon PK et al. Spread of HTLV-1 between lymphocytes by virus-induced polarization of the cytoskeleton. *Science*; 299:1713-1716; 2003.
- Jacobson S. Immunopathogenesis of HTLV-1 associated diseases. *J Infect Dis*; 186: S187-S192; 2002.
- Jeffery KJM, Usuku K, Matsumoto W *et al*, HLA alleles determine human T-lymphotropic virus-I (HTLV-1) proviral load and the risak of HTLV-1 associated myelopathy. *Proc Natl Acad Sci USA*; 96:3848-53; 1999.
- Jeffery KJM, Siddiqui AA, Bunce M et al. The influence of HLA Class I alleles and heterozygosity on the outcome of HTLV-I infection. *Journ Immunol*; 165:7278-7284; 2000).

- Kaminagayoshi T, Nakao K, Yashiki S et al. Analysis of HLA class I and class II gene polymorphisms in Japanese patients with human T-cell lymphotropic virus type 1-associated uveitis. *Ocul Immunol Inflamm*; 13:199-204; 2005.
- Kannagi M, Sugamura K, Sato H et al. Establishment of human cytotoxic T cell lines specific of human adult T cell leukemia virus-bearing cell. *J Immunol*; 130: 2942-2946; 1983.
- Kitze B, Usuku K, Yashiki S et al. Intratecal humoral immune response in HAM/TSP in relation to HLA haplotypes analysis. *Acta Neurol Scand*; 94: 287-293; 1996
- Levine PH, Cleghorn F, Manns A et al. Adult T cell leukemia lymphoma a working point-score classification for epidemiologic studies. *Int J Cancer*; 491-493; 1994.
- Mathieux R, Horal P, Mauclere P et al. *J. Clin. Microbiol*; 38:4049-4057; 2000.
- Mochizuki M, Watanabe T, Yamagushi K, Yoshimura K, Nakashima S et al. Uveitis associated with human T-cell lymphotropic virus type I. *American Journal of Ophthalmology*; 114: 123-9; 1992.
- Muyphy EL, Hanchard B, Figueroa JP, Gibbs WN, Lofters WS, Blattner WA. Modeling the risk of adult T-cell leukemia/lymphoma in persons infected with human T-lymphotropic virus type I. *International Journal Cancer*; 43: 250-3; 1989.
- Murphy EL, Glynn S.A, Frideroy Joy, Smith JN, Sacher RA, Nass CC, et al. Increased Incidence of Infectious Diseases During Prospective Follow-up of Human T-lymphotropic Virus Type II and I - Infected Blood Donors. *Archives of Internal Medicine*; 159: 1485-91; 1999.
- Newton CR, Graham A, Heptinstall E et al. Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS). *Nucleic Acid Research*; 17:2503-2516; 1989.
- Nishioka K. HTLV-1 arthropathy and Sjogren Syndrome. *Journal Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology*; 13 (suppl 1):50-6; 1996.
- Osame M, Janssen R, Kubota H, et al. Nationwide survey on Human T-cell leukemia/lymphoma virus type I associated myelopathy in Japan: association with blood transfusion. *Annals Neurology*; 28:50-6; 1990.
- Poiesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, et al. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proceedings National Academy Sciences USA*; 77: 7415-19; 1980.
- Robinson J et al. IMG/HLA database – a sequence database for the human major histocompatibility complex. *Tissue antigen*; 55: 280-287; 2000.
- Sabouri AH, Saito M, Usulu K, Bajestan SN et al. Differences in viral host genetic risk factors for development of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis between Iranian and Japanese HTLV-1 infected individuals. *J Gen Virol*; 86:773-781; 2005.
- Santos SB, Porto AF, Muniz AL et al. Exacerbated inflammatory cellular immune response characteristics of HSM/TSP is observed in a large proportion of HTLV-1 asymptomatic carriers. *BMC Infectious diseases*; 4:7; 2004.  
<http://www.biomedcentral.com/1471-2334/4/7>
- Slater RD e Parham P. Mutually exclusive public epitopes of HLA-A, B, C Molecules. *Human Immunology*; 26: 85-89; 1989.

Slattery JP, Franchini G, Gessain A. Genomic evolution, patterns of global dissemination and interspecies transmission of HTLV and STLV. *Genome Genome es*; 525-540; 1999.

Sonoda S, Yashiki S, Tanaka H et al. Immunogenetic factors involved in the pathogenesis of ATL and HAM/TSP. *Gann Monograph on Cancer Research*, 39:81-93, 1992.

Tokudome S, Tokunaga O, Shimamoto Y, Miyamoto Y, Sumida I, Wishizumi M et al. Incidence of adult T-cell leukemia/lymphoma among human T-lymphotropic virus type I carriers in Saga, Japan. *Cancer Research*; 49: 226-9; 1989.

Waters, R.L., Adkins, R.H., Yakura, J.S.: Definition of complete spinal cord injury. *Paraplegia*; 9:573-581; 1991.

Yashiki S, Fujiyoshi T, Arima N et al. HLA-A\*26, HLA-B\*4002, HLA-B\*4006 and HLA-B\*4801 alleles predispose to Adult T Cell Leukemia: the limited recognition of HTLV type 1 Tax peptide anchor motifs and epitopes to generate anti-HTLV type 1 tax CD8+ cytotoxic T lymphocytes. *Aids Research and Human Retroviruses*; 17:1047-1061; 2001.

**Tabela 1. Análise descritiva da população estudada.**

<i>Variáveis</i>	<i>Assintomáticos</i> ( <i>n</i> = 84)	<i>HAM/TSP*</i> ( <i>n</i> = 9)	ATL ( <i>n</i> = 1)
Razão H/M	0,72 (36 /50)	0,50 (3/6)	NA
Idade (anos)	42,70 ± 14,82	48,89 ± 12,74	43
Via provável de infecção* (n, %)	Vertical: 36 (41,86%) Horizontal: 29 (33,72%) Indeterminada: 18 (20,93%)	Vertical: 3 (33,33%) Horizontal: 1 (11,11%) Indeterminada: 5 (55,56%)	Indeterminada: 1

NA: não se aplica. \*vertical = mãe soropositiva; horizontal = parceiro(a) sexual estável com sorologia positiva e que se enquadre numa das situações seguintes: múltiplas(os) parceiras(os); sexo pago; usuário de drogas injetáveis; transfusão sanguínea antes de 1992; indeterminada = indivíduos que não preencheram critério para via vertical ou horizontal.

**Quadro 1 – alelos da classe I do HLA, classificados como de proteção ou risco, para HÁM/TSP e ATL.**

Proteção para HAM/TSP	Risco para HAM/TSP	Risco para ATL
A*02	A*24	A*26
Cw*0801	B*07	B*4002
	B*5401	B*4006
	Cw*07	B*4801

**Tabela 2. Distribuição da frequência dos alelos HLA classe I entre portadores assintomáticos do HTLV-1 e pacientes com HAM/TSP.**

Alelo HLA	Assintomáticos		HAM/TSP		p	OR (IC 95%)
	N = 84		N = 9			
	52 alelos		26 alelos			
	n	%	n	%		
A*01	7	13,46	1	3,85	0,18	
<b>A*02</b>	<b>40</b>	<b>76,92</b>	<b>3</b>	<b>11,54</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,04 (0,01-0,17)</b>
A*03	8	15,38	1	3,85	0,12	
A*11	16	30,77	3	11,54	0,06	
<b>A*23</b>	<b>12</b>	<b>23,08</b>	<b>1</b>	<b>3,85</b>	<b>0,03</b>	<b>0,13 (0,01-1,00)</b>
A*24	12	23,08	3	11,54	0,22	
A*26	8	15,38	0	NA		
A*29	9	17,31	0	NA		
A*30	5	9,62	1	3,85	0,36	
A*31	5	9,62	1	3,85	0,36	
A*32	1	1,92	0	NA		
A*33	7	13,46	1	3,85	0,18	
A*34	3	5,77	0	NA		
A*36	1	1,92	0	NA		
A*66	3	5,77	0	NA		
A*68	0	-	1	3,85		
A*74	7	13,46	1	3,85	0,18	
B*07	11	21,15	2	7,69	0,11	
B*08	7	13,46	3	11,54	0,56	
B*13	2	3,85	0	NA		
B*14	6	11,54	0	NA		
B*15	19	36,54	0	NA		
B*18	1	1,92	1	3,85	0,56	
B*27	2	3,85	0	NA		
<b>B*35</b>	<b>26</b>	<b>50,00</b>	<b>5</b>	<b>19,23</b>	<b>0,008</b>	<b>0,24 (0,07-0,8)</b>

B*38	4	7,69	0	NA		
B*39	3	5,77	0	NA		
B*40	10	19,23	0	NA		
B*41	1	1,92	1	3,85	0,56	
B*42	2	3,85	0	NA		
B*44	16	30,77	0	NA		
B*47	1	1,92	0	NA		
B*49	5	9,52	0	NA		
B*50	4	7,96	1	3,85	0,46	
<b>B*51</b>	<b>16</b>	<b>30,77</b>	<b>1</b>	<b>3,85</b>	<b>0,006</b>	<b>0,09 (0,00-0,72)</b>
B*52	2	3,85	0	NA		
B*53	1	1,92	1	3,85	0,56	
B*55	2	3,85	0	NA		
B*57	3	5,77	1	3,85	0,59	
B*58	8	15,38	0	NA		
Cw*01	6	11,54	0	NA		
Cw*02	15	28,85	0	NA		
Cw*03	20	38,46	0	NA		
<b>Cw*04</b>	<b>29</b>	<b>55,77</b>	<b>6</b>	<b>23,08</b>	<b>0,006</b>	<b>0,24 (0,07-0,77)</b>
Cw*06	7	13,46	1	3,85	0,18	
Cw*07	23	44,23	6	23,08	0,07	
Cw*08	8	15,38	1	3,85	0,13	
<b>Cw*12</b>	<b>20</b>	<b>38,46</b>	<b>2</b>	<b>7,69</b>	<b>0,004</b>	<b>0,13 (0,02-0,68)</b>
Cw*14	1	1,92	0	NA		
Cw*15	9	17,31	0	NA		
Cw*16	11	21,15	0	NA		
<b>Cw*18</b>	<b>1</b>	<b>1,92</b>	<b>1</b>	<b>3,85</b>	<b>0,56</b>	

Em negrito, alelos que se mostraram significativos ( $p < 0,05$ ). NA = não se aplica (uma das caselas = 0).

**Tabela 3. Distribuição de frequência de alelos HLA selecionados\* na amostra avaliada, por diagnóstico (N=94).**

Sujeitos	A*02	Cw*08	A*24	B*07	B*5401	Cw*07	A*26	B*4002	B*4006	B*4801
Assinto máticos N=84	40	8	12	11	0	23	8	0	0	0
HAM n=9	3	1	3	2	0	6	0	0	0	0
OR	0,55	1,19	3,00	1,90	-	<b>5,30</b>	-	-	-	-
Valor de p	0,32	0,61	0,15	0,37	-	<b>0,02</b>	-	-	-	-
ATL n=1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0

A\*02 e Cw\*08: proteção para HAM/TSP; A\*24, B\*07, B\*5401e Cw\*07: risco para HAM/TSP; A\*26, B\*4002, B4006 e B4801: risco para ATL. (Jeffery , 1999).

**Tabela 4. Haplótipos HLA-classe I nos indivíduos da coorte com diagnóstico de HAM/TSP e ATL.**

<b>HAM/ TSP (iniciais)</b>	Idade (anos)	Sexo	Via provável de Infecção	Perfil HLA
DLR	45	M	I	<b>A*24, A*24; B*07, B*35; Cw*12, Cw*07</b>
LMLS	51	F	T	A*01, A*33; B*08, B*35; Cw*04, <b>Cw*07</b>
MJS	72	F	I	A*02, A*74; B*15, B*35; Cw*12, Cw*04
MPMG	63	F	I	A*02, A11*; B*18, B*50; Cw*06, <b>Cw*07</b>
IFP	37	M	V	<b>A*24, A*31; B*51, B*08; Cw*04, Cw*07</b>
RFP	31	F	V	<b>A*24, A30*; B*57, B*08; Cw*18, Cw*07</b>
NMRL	50	F	V	A*02, A*02; B*35, B*35; Cw*04, Cw*04
DLR	51	M	I	A*23, A*68; B*53, B*41; Cw*04, Cw*08
NRA	40	M	I	A*03, A*11; <b>B*07, B*35; Cw*04, Cw*07</b>
<b>ATL CMSS</b>	43	F	I	A*02, A*32; B*44, B*13; Cw*06, Cw*06

M = masculino; F= feminino. I = indeterminada; V = vertical; T = transversal.

**Tabela 5. Alelos Cw\*07 e A\*02 em pacientes com HAM/TSP e portadores assintomáticos.**

Sujeitos	HAM/TSP (n=9)		Portadores assintomáticos (n=84)		X2	OR (IC 95%)	p
	Cw*07+	Cw*07-	Cw*07+	Cw*07-			
Total	6	3	23	61	5,85	(1,01-29,66)	0,024
A*02+	1	2	16	32	0,00	(0,00 -15,91)	0,713
A*02-	5	1	7	29	10,29	(1,78-554,75)	0,005

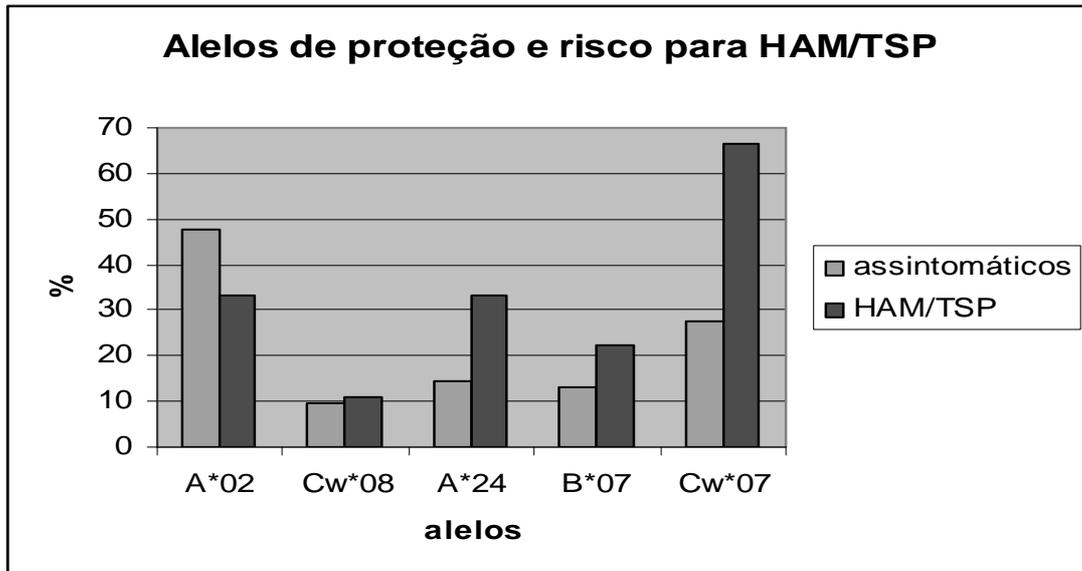


Figura 1. Alelos de proteção (A\*02) e risco (A\*24, B\*07, Cw07) para HAM/TSP. Frequência relativa encontrada no grupo assintomático e no grupo HAM/TSP, da coorte GIPH, Minas Gerais, Brasil.

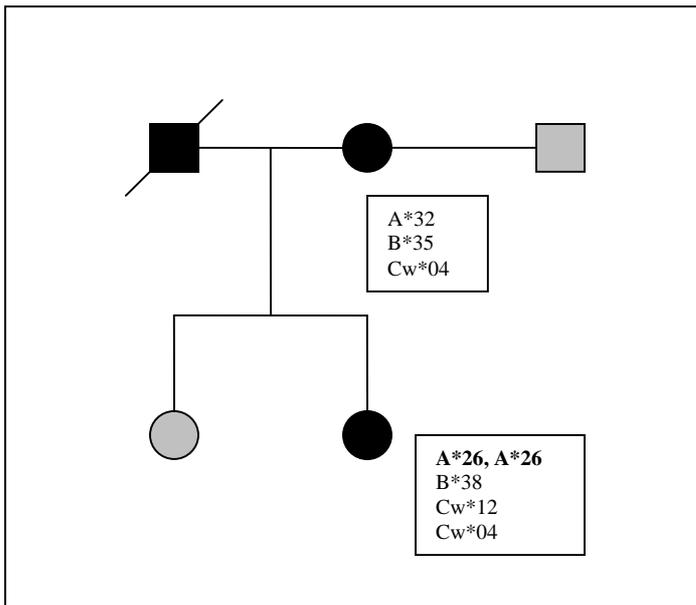


Figura 2. Heredograma com alelo de risco para ATL (A\*26) em jovem cujo pai faleceu com ATL. Círculo = mulher, quadrado = homem, preto = soropositivo para HTLV-1, cinza = soronegativo para HTLV-1, figura cortada = falecido.

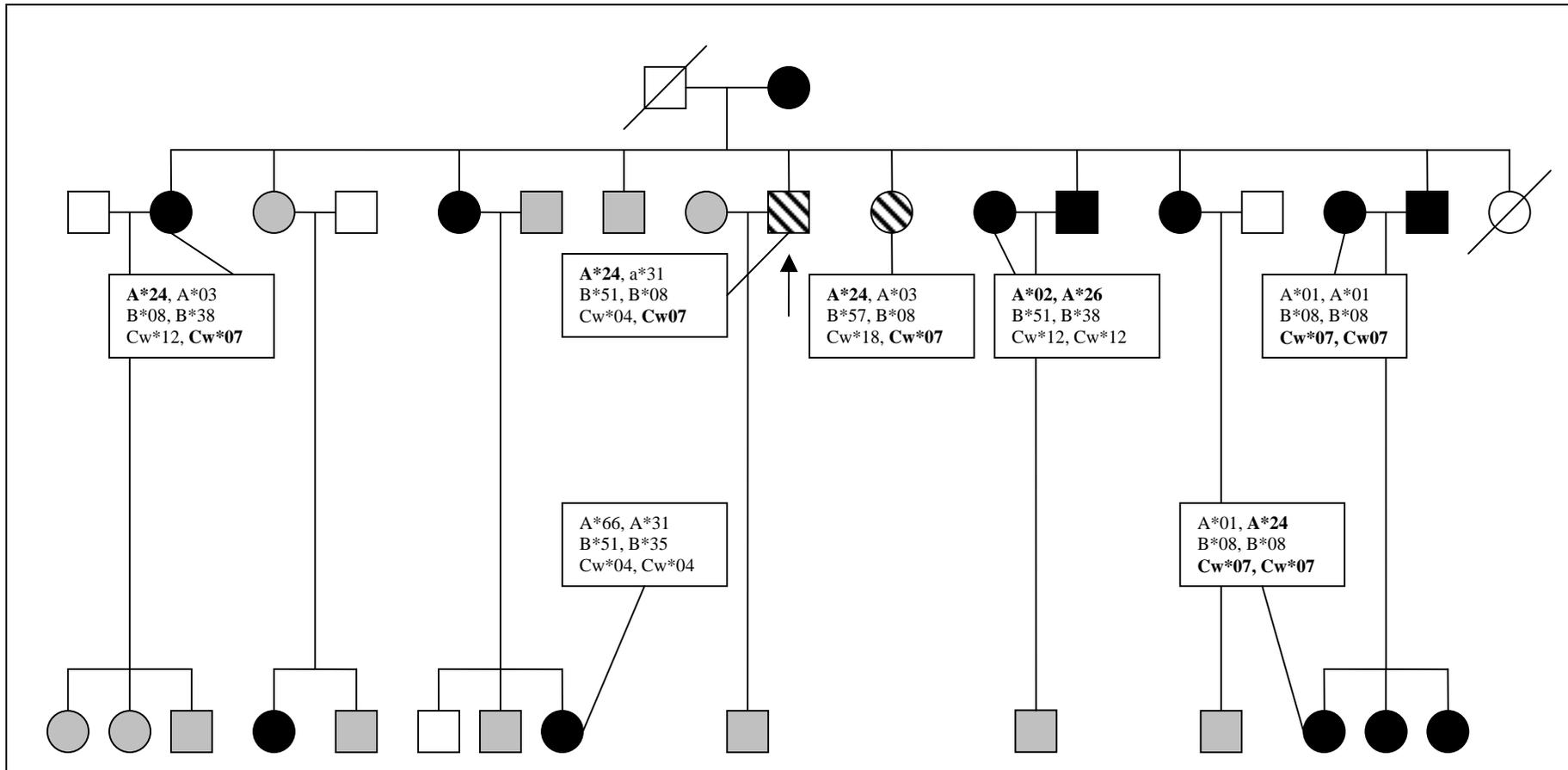


Figura 3. Heredograma mostrando infecção pelo HTLV-1 em 3 gerações, transmissão vertical e transversal; haplótipos HLA e carga viral (CV) de alguns membros. Seta= caso índice, quadrado = homem, círculo = mulher, em preto = sorologia positiva, em listras = HAM/TSP, em branco = não testado, em cinza= negativo, figura cortada = falecido.

## 6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Envolver-se em pesquisa na área de saúde pública é algo gratificante. Os estudos tornam conscientes da magnitude de problemas de saúde, dentro da realidade brasileira, concretos, palpáveis e carentes de solução. Com tranquilidade podemos afirmar que a infecção pelo HTLV-1/II no Brasil é um problema de saúde pública.

Infelizmente consideramos o HTLV-I/II um vírus “órfão”: a escassez de material de divulgação sobre o vírus, que está presente em todo o território nacional, atesta nossa análise; profissionais de saúde que se deparam com um diagnóstico da infecção pelo HTLV tipo 1 ou 2, não tem para onde encaminhar seus pacientes e uma minoria sabe aconselhá-los com propriedade. Tal fato nos deixa preocupados em relação a uma virose mais freqüente que a infecção pelo HIV (estima-se que 1% da população brasileira possa ser portadora do HTLV) e que está associada a patologias graves para as quais não tem tratamento. Isso nos remete diretamente ao ponto de que, se não temos tratamento ou vacina, só nos resta investir intensamente em prevenção da disseminação do patógeno.

As formas de transmissão do vírus são claramente definidas: é por contato sexual com sangue contaminado (o teste de triagem em bancos de sangue brasileiros, desde 1993, reduziu drasticamente o risco de infecção pós transfusional, mas o risco entre usuários de drogas que compartilham seringas e agulhas ainda é um problema real); também se dá por contato sexual; e finalmente de mãe para filho através da amamentação natural. É sabido que crianças que se infectam verticalmente apresentam maior risco de desenvolver as complicações hematológicas associadas ao vírus.

Porque o descaso com o HTLV? Seria pelo fato de que a maioria dos infectados (90 a 95%) permanece assintomática? Acontece que os 5 a 10% que adoecem são condenados à perda da qualidade de vida com a mielopatia associada ao HTLV (30% evoluem para a necessidade de cadeira de rodas e total perda de controle dos esfíncteres) ou à perda da própria vida com a leucemia de células T do adulto, em sua forma aguda; assim sendo, nossa “acomodação” não tem justificativa.

Seria conseqüente ao fato da infecção atingir prioritariamente grupos sem poder de pressão, já que é mais prevalente em negros, mulheres e indivíduos de baixo nível sócio-

econômico e cultural? Aqui a acomodação se torna omissão. Os resultados de estudos robustos podem e devem impactar políticas de saúde que gerem medidas que possam beneficiar a população.

Por isso, o compromisso com os resultados alcançados nessa pesquisa vai além das formalidades para obtenção de créditos e grau. Porque é o compromisso com indivíduos que não tem outra voz senão a dos pesquisadores, que, se movidos inicialmente por uma questão científica, produziram resultados inquietantes que precisam ser publicados a ponto de incomodar os que têm poder de decisão.

Assim terminamos oficialmente o doutorado, mas não um caminho de pesquisas sobre o HTLV. Afinal, conhecimento gera responsabilidades. Por exemplo, imaginamos o momento – e cremos que ele esteja próximo – quando o teste de HTLV estiver disponibilizado em todo serviço pré-natal, garantindo aconselhamento às mães soropositivas e alimentação aos bebês que serão amamentados. Enquanto isso, no que depender de nós e das instituições às quais estamos ligados, colaboramos para a conscientização de que temos um desafio chamado HTLV.

**APÊNDICE  
PROJETO DE PESQUISA**

**ESTUDO DE NÚCLEOS FAMILIARES INFECTADOS PELO HTLV:  
ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E LABORATORIAIS COMO PREDITORES  
DA EVOLUÇÃO CLÍNICA**

Pré-projeto apresentado ao programa de pós-graduação em Saúde Pública da  
Universidade Federal de Minas Gerais  
como requisito à seleção para doutorado em Saúde Pública

**Área de concentração: epidemiologia**

Orientador: Fernando Augusto Proietti

Co-orientadora: Anna Bárbara C. Proietti

Belo Horizonte  
**Faculdade de Medicina da UFMG**  
2002

## CONTEÚDO

### I. INTRODUÇÃO

#### a) Revisão da literatura

1. Epidemiologia
2. O vírus
3. A carga proviral do HTLV-I
4. Estudos de clonalidade do HTLV-I
5. A resposta imune ao HTLV-I
6. Estudo dos antígenos leucocitários humanos

#### b) Núcleos familiares e *clusters* do HTLV-I

### II. OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS

### III. PROPOSTA METODOLÓGICA

1. População de estudo
2. Desenho do estudo e análise dos dados
3. Fontes e destino do material da pesquisa
4. Classificação dos sujeitos de pesquisa
5. Fluxograma
6. Consentimento livre e esclarecido
7. Questionários
8. Exames laboratoriais
9. Riscos/benefícios

### IV. VIABILIDADE : FORMA DE EXECUÇÃO, RECURSOS E CRONOGRAMA

### V. PRINCIPAIS REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## I. INTRODUÇÃO

Os vírus linfotrópicos humanos tipo I e II (HTLV-I/II) estão entre os primeiros retrovírus humanos isolados no início da década de 80<sup>1</sup>. O tipo I (HTLV-I) está claramente associado à leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL) em 2 a 4 % dos infectados<sup>2</sup>; a uma doença neurológica degenerativa, a paraparesia espástica tropical / mielopatia associada ao HTLV-I (TSP/HAM) em proporção semelhante<sup>3,4</sup>; a fenômenos imunológicos como uveíte e artrite<sup>5,6</sup> e a lesões dermatológicas<sup>7</sup>. Nas regiões consideradas endêmicas – sudoeste do Japão, Caribe e África – as prevalências para anticorpos anti-HTLV-I variam de 3% a 15%, são maiores em idade mais avançada e no sexo feminino<sup>8,9,10</sup>. Embora compartilhando 65% do genoma com o tipo I, o HTLV-II é bem menos prevalente, predominando em grupos indígenas nativos nas Américas e entre usuários de drogas injetáveis nos Estados Unidos e Europa<sup>11</sup>. Não existe associação clara de patologias e HTLV-II; recentemente ele tem sido associado a uma alteração neurológica semelhante ao TSP/HAM e parece causar aumento de susceptibilidade a infecções bacterianas<sup>12</sup>. A transmissão do vírus (ambos os tipos) se faz de forma vertical, principalmente através da amamentação natural<sup>13</sup>; via sexual, do homem para mulher (mais eficaz), da mulher para o homem e através de contato homossexual entre homens<sup>14</sup>; através de contaminação com sangue infectado, seja através de transfusão ou do compartilhar de seringas e agulhas<sup>15,16</sup>.

Na tentativa de melhor compreender aspectos epidemiológicos do vírus e principalmente seu comportamento em núcleos familiares – forma de transmissão, fatores de risco, capacidade de desencadear patologias a ele relacionadas e evidência de agregação de patologias (cluster) – pretendemos estudar grupos de pessoas relacionadas aos doadores de sangue com sorologia alterada para o HTLV-I/II (assintomáticos), bem como pessoas relacionadas a sujeitos infectados pelo mesmo vírus e que já desenvolveram patologias associadas ao patógeno.

Um estudo de coorte prevalente prospectivo aberto está sendo conduzido na Fundação Hemominas acompanhando portadores do HTLV-I/II e teve seu início em março de 1997; os sujeitos envolvidos nesse acompanhamento, juntamente com seus familiares, estariam sendo avaliado transversalmente quanto aos aspectos agora propostos nesse projeto. Detalhes do estudo de coorte - conduzido pelo Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em HTLV (GIPH) - se encontram no Anexo I, onde também relatamos resultados preliminares já encontrados.

Acreditamos que uma investigação epidemiológica envolvendo esses grupos formados em torno de um caso-índice, enriquecida de avaliação laboratorial e clínica, poderá contribuir para melhor compreensão do comportamento de cluster do HTLV-I/II, e talvez, identificação de preditores da evolução clínica.

a) Revisão da literatura

Epidemiologia:

O HTLV-I está distribuído em diversas regiões do mundo. Globalmente, estima-se que o número de pessoas infectadas com o HTLV-I esteja entre 10 a 20 milhões<sup>15</sup>. Como regiões endêmicas para o tipo I podemos citar: ilhas do sul do Japão, com até 18% da população adulta soropositiva; ilhas do Caribe, com 3,9% de taxa de prevalência em Trinidad-Tobago; Barbados (4,3%) e Jamaica (5,0 a 6,0%); regiões africanas (área do sub-Saara), Melanésia, região sudeste dos Estados Unidos, e regiões da América Central e do Sul com prevalências variáveis, dependendo do grupo avaliado.

Poucos são os estudos para averiguação das taxas de prevalência do HTLV no Brasil, sendo que a maioria dos dados vem sendo obtidos a partir de pesquisas desenvolvidas junto aos doadores de sangue através dos Hemocentros. O teste de triagem para HTLV-I/II tornou-se obrigatório em bancos de sangue do Brasil a partir de novembro de 1993.

Estudos realizados com doadores de sangue de diversas capitais brasileiras mostraram que Salvador caracteriza-se como a região de maior endemicidade para o HTLV-I, com uma soroprevalência registrada em torno de 1,35%, seguido por Recife e Rio de Janeiro com 0,33%, Belo Horizonte com 0,32%, São Paulo com 0,15%, e Manaus e Florianópolis com 0,08%, obtendo-se uma soropositividade geral média de 0,46%, sendo este valor bastante superior aos 0,025% observados nos Estados Unidos<sup>16</sup>.

O HTLV-II é mais prevalente em populações indígenas das Américas, com taxas relativamente elevadas para os Seminoles na Flórida, Navajos e Pueblos no Novo México, Guaymis no Panamá, índios Wayuus e Tunebos na Colômbia, Tobas e Matacos na Argentina, e Pume na Venezuela. Nações indígenas brasileiras, tais como os Cayapós, Yanomami e Krahos, apresentam uma soroprevalência variando entre 3,6 a 38%, dependendo da nação

estudada <sup>17, 18</sup>. Também existe alta prevalência do HTLV-II entre pigmeus da República de Camarões e Zaire, na África. O tipo II também é o mais prevalente entre usuários de drogas intravenosas nos Estados Unidos e países da Europa.

Após aproximadamente 20 anos da descoberta do HTLV-I/II, um padrão epidemiológico já se evidencia: comportamento de cluster, ou seja, tendência a agrupamento em diferentes áreas geográficas do mundo; variação da prevalência de acordo com a região geográfica; aumento das taxas de prevalência com a idade e soroprevalência maior no sexo feminino <sup>19, 20</sup>.

#### Diagnóstico da infecção pelo HTLV-I/II:

O diagnóstico da infecção pelo vírus linfotrópico humano requer tanto a habilidade de detectá-lo como a capacidade de diferenciar os dois tipos. A estratégia para identificação tem evoluído de acordo com a disponibilidade de novas técnicas sorológicas e moleculares. O diagnóstico sorológico de rotina, como na triagem de doadores em um banco de sangue, é feito por testes imunoenzimáticos. É fundamental a confirmação por outros testes e mesmo assim os resultados, principalmente se duvidosos ou indeterminados, precisam ser interpretados com cautela <sup>21, 22</sup>. As reações de ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) é o mais largamente usado em nosso meio e utiliza como antígeno o lisado viral e proteínas virais obtidas por tecnologia recombinante ou por síntese de peptídeos <sup>23</sup>. O exame confirmatório é feito pelo teste de Western blot (WB). O critério de interpretação de bandas do WB, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), considera uma sorologia positiva se a amostra mostrar reatividade para uma proteína da região gag (core ou matriz) e uma proteína antigênica do envelope viral (precursora ou processada). A reação em cadeia da polimerase (PCR) é o procedimento “padrão-ouro”, pois detecta seqüências virais diretamente, ao invés da reação de anticorpos à infecção. Mas pode ser oneroso, trabalhoso e produzir resultado falso-positivo conseqüente a contaminação acidental com DNA de amostra HTLV I/II positiva, previamente amplificado <sup>24</sup>. Após a infecção pelo HTLV-I, a soroconversão pode ocorrer depois de vários anos, e alguns indivíduos desenvolvem concentrações relativamente baixas de anticorpos que são difíceis de detectar por testes convencionais. Padrões indeterminados ao WB têm sido descritos por todo o mundo, mas seu real significado não está esclarecido. Talvez traduza a presença de vírus defectivo, ou de outro vírus com homologia parcial ao HTLV <sup>25</sup>; uma baixa carga proviral deve ser

considerada como possível explicação para resultado indeterminado. A determinação da verdadeira prevalência do HTLV-I/II pode requerer uma combinação de análise sorológica e biomolecular<sup>26</sup>.

### O vírus

O HTLV pertence à família retroviridae e possui uma estrutura morfológica similar a de outros retrovírus. Sua partícula viral apresenta um envelope - em que proteínas ancoradas (a proteína transmembrana e a proteína de superfície) se projetam para fora - uma matriz e um capsídeo, que forma o core da partícula viral. No interior do core estão presentes o genoma de RNA fita simples, além das proteínas virais essenciais para a sua replicação, como a transcriptase reversa, a integrase e a protease. O ciclo de replicação do HTLV também é típico dos retrovírus: entrada da partícula viral na célula através da sua interação com o receptor na superfície celular (ainda desconhecido para o HTLV); transcrição do seu RNA para DNA ainda no core viral no citoplasma da célula hospedeira; integração do DNA proviral ao acaso no genoma da célula; transcrição e tradução das proteínas virais e finalmente, montagem e brotamento da partícula viral. Com o processamento proteolítico das proteínas do capsídeo, a partícula viral está madura e pronta para infectar novas células<sup>27</sup>.

O HTLV infecta principalmente células T CD 4+ ou CD 8+ (linfócitos e eventualmente monócitos). Uma vez na forma de provírus, o DNA viral fica estável e pode ser passado de uma célula a outra pela divisão celular. O HTLV faz sua reprodução muito mais através da replicação de seu genoma junto com o da célula hospedeira quando esta se divide, que pelo uso da transcrição reversa. Isto dá ao HTLV uma característica de ser um vírus bem estável, com baixas taxas de mutação.

### A carga proviral do HTLV-I

Vários estudos têm mostrado que os níveis de DNA proviral (carga proviral) do HTLV-I no sangue periférico está significativamente aumentado nos pacientes com HAM/TSP<sup>28-34</sup>. A análise através de PCR quantitativa da carga proviral de 202 pacientes com HAM/TSP e 243 portadores assintomáticos do HTLV-I mostrou que o DNA proviral por 100 células periféricas mononucleares do sangue (PBMCs) variou de 2 a 20 cópias nos pacientes com

HAM/TSP, comparado a 0,04 a 8 cópias nos portadores assintomáticos <sup>33</sup>. Outro estudo mostrou que os pacientes com HAM/TSP tinham 3,1 a 8,5% de linfócitos do sangue periférico positivos para o HTLV-I, enquanto que os portadores assintomáticos tinham 0,8 a 3,8% de linfócitos positivos para o vírus <sup>32</sup>. A partir dos resultados obtidos com os vários estudos, aceita-se geralmente que a carga proviral no sangue periférico é, em média, 10 a 100 vezes mais elevado nos pacientes com HAM/TSP, em comparação aos portadores assintomáticos <sup>34</sup>. Nagai e colaboradores, num estudo caso-controle conduzido em Kagoshima (Japão), avaliou 202 pacientes com HAM/TSP e mais de 200 portadores assintomáticos do HTLV-I, dentre os quais se incluíam familiares dos pacientes. Sua equipe mediu a carga proviral destes 3 grupos. A média do número de cópias provirais em 10.000 PBMCs foi de 544 (5,44%) nos pacientes com HAM/TSP, 321 (3,21%) nos 43 portadores assintomáticos geneticamente relacionados aos pacientes com HAM/TSP e 34 (0,34%) nos portadores assintomáticos sem relação familiar com os pacientes. A prevalência de HAM/TSP aumenta exponencialmente com o log (carga proviral), uma vez que a carga proviral exceda 1% dos PBMCs. O aumento da carga proviral nos assintomáticos que são familiares dos pacientes com HAM/TSP sugere a existência de fatores genéticos contribuindo para a replicação do HTLV-I in vivo <sup>33</sup>.

Além de ser um determinante importante para a patogênese da HAM/TSP, uma carga proviral elevada também parece ter importância no desenvolvimento da uveíte <sup>35, 36</sup>. Análise de doadores de sangue soropositivos para HTLV têm demonstrado uma enorme variação quanto ao número de provírus nos PBMCs <sup>37</sup> e sua quantificação deve ser usada para acompanhamento clínico desses portadores.

A eficiência da transmissão do HTLV, seja ela horizontal ou vertical, está diretamente associada à carga proviral. Kaplan e colaboradores (1996) mostraram que a transmissão sexual do HTLV-I do homem para a mulher está fortemente associada à carga proviral <sup>38</sup>. O risco da transmissão também está associado com a duração do relacionamento, sugerindo que a exposição repetida aumenta a probabilidade da transmissão viral. A transmissão do HTLV-I da mãe para o filho, através do aleitamento materno, também tem como fator de risco a elevada carga proviral da mãe, assim como altos títulos de anticorpos anti-HTLV-I e é influenciada pelo tempo de amamentação <sup>39</sup>.

Segundo Bangham, outras questões relacionadas à carga viral merecem investigação, como por exemplo, o que determina o aumento da carga viral em alguns infectados; ou ainda, como uma carga elevada desencadeia HAM/TSP? A resposta imune desempenharia papel importante? <sup>40</sup>

### Estudos de clonalidade do HTLV-I

Desde que o HTLV-I integra seu DNA pró-viral ao acaso no DNA cromossomal do hospedeiro, os sítios de integração irão diferir entre as células infectadas. Como o HTLV-I se expande principalmente pela própria expansão das células infectadas <sup>41</sup>, o padrão de integração proviral do HTLV-I encontrado num indivíduo indicará se a proliferação das células infectadas está ocorrendo:

- a) a partir de várias células infectadas diferentes, caracterizando uma expansão de diversos clones celulares, em que muitos sítios de integração proviral são encontrados (integração policlonal);
- b) a partir de poucas células infectadas, caracterizando uma expansão de poucos clones celulares (dois a três), com a presença de poucos sítios de integração proviral (integração oligoclonal);
- c) a partir de uma única célula infectada, caracterizando uma expansão monoclonal em que é encontrado apenas um sítio de integração proviral nas células infectadas (integração monoclonal).

Este último caso, a expansão monoclonal, é característica na ATLL, e sua confirmação é essencial para tal diagnóstico <sup>42</sup>.

Inicialmente se pensou que a proliferação clonal de células infectadas com HTLV-I era característica única das células leucêmicas na ATLL; contudo, estudos têm mostrado a presença de clones de células infectadas com o HTLV-I, em proliferação persistente, em portadores assintomáticos e pacientes com HAM/TSP. Portanto, a expansão clonal de células infectadas com HTLV-I parece ser comum entre todos os portadores, sejam eles assintomáticos ou sintomáticos. Um grande problema seria a predominância por longo tempo de um ou poucos clones de células infectadas no indivíduo através da seleção clonal, o que

favoreceria o acúmulo de mutações nos clones selecionados e poderia constituir num alto risco para o desenvolvimento de malignidade<sup>43-46</sup>.

Os padrões de integração do DNA pró-viral do HTLV-I nas células leucêmicas também têm mostrado implicações clínicas. Tem sido observados padrões de integração incomuns, como múltiplos provírus ou provírus defectivo, que levam a características clínicas diferentes daquelas dos pacientes com ATLL que tem um padrão de integração característico (com apenas um provírus completo nas células leucêmicas). Assim, os diferentes padrões de integração do HTLV-I podem contribuir para explicar o curso heterogêneo da doença<sup>47,48</sup>.

#### Estudo dos antígenos leucocitários humanos (HLA)

Uma das questões que sempre desafiou os pesquisadores é exatamente por que apenas alguns indivíduos dentre os infectados desenvolverão doenças relacionadas ao HTLV-I, enquanto a grande maioria permanecerá por toda vida como portadores assintomáticos do vírus; e ainda, por que é necessário um longo período de incubação para que alterações clínicas se manifestem. Recentes estudos de imunologia e virologia molecular mostram a importância da resposta imune do hospedeiro na redução do risco das patologias associadas ao HTLV-I.

Dentro desta linha, pesquisas têm descrito características do hospedeiro que poderiam indicar susceptibilidade ou proteção para ATLL ou HAM/TSP, e esta relação tem sido feita com alguns alelos HLA. A magnitude das respostas imunes in vivo é regulada pelos genes de resposta imune associados com o complexo principal de histocompatibilidade do hospedeiro. Este complexo é constituído pelos alelos HLA cujas moléculas funcionam na sinalização entre linfócitos e células apresentadoras de antígenos. Sonoda e colaboradores (1992)<sup>49</sup> sugeriram que ATLL e HAM/TSP são causados exclusivamente por causa dos diferentes haplótipos dos portadores. Outros trabalhos, no entanto, relataram que a susceptibilidade para uma ou outra patologia não pode ser explicada apenas pelos haplótipos HLA, podendo se sugerir a existência de alelos que aumentariam o risco para o desenvolvimento de uma dessas doenças. Comparando portadores assintomáticos e pacientes com TSP/HAM no Japão, os autores concluíram que os indivíduos que apresentaram o alelo HLA-A\*02 (HLA-02) tinham metade do risco de desenvolver a mielopatia. Sugerem que tal alelo seria particularmente eficiente para controlar a replicação do HTLV-I. Por outro lado, a presença do alelo HLA-

DRB1\*0101(HLA-DR1) parece aumentar o risco para TSP/HAM, especialmente na ausência do HLA-02<sup>50</sup>.

b) Núcleos familiares e clusters do HTLV-I

Em virtude das formas de transmissão do HTLV-I/II, não é raro encontrarmos mais de um caso de infecção numa mesma família.

A transmissão vertical tem sido bem demonstrada através de estudos epidemiológicos, podendo ocorrer via transplacentária, intra parto, mas principalmente através da amamentação natural. Do Japão, em trabalho publicado em 1989, vem a advertência de que reações sorológicas em crianças filhas de portadoras do HTLV-I podem estar subestimando a real taxa de prevalência. Segundo Saito e colaboradores é inadequado avaliar infecção vertical medindo anticorpos nessas crianças: em 22 delas com sorologia negativa, foi encontrado o genoma do provirus através da reação em cadeia da polimerase (PCR)<sup>51</sup>.

Estudando o HTLV no campo da obstetrícia, Matsumoto e colaboradores (Japão) detectaram a taxa de prevalência diferenciada do vírus em gestantes: em Iwate foi de 5,3% e em Chiba foi de 0,6%. Cento e oito familiares de 15 gestantes soropositivas foram avaliados sorologicamente e 45 desses também foram positivos (41,7%). Os dados confirmam a tendência para agregação familiar do HTLV<sup>52</sup>.

Autores já relataram cluster familiar de HAM/TSP no Zaire, sugerindo a presença de cofatores compartilhados pelos membros da família. Nesse estudo encontraram dados sugerindo a transmissão vertical e uma susceptibilidade aumentada ao HAM/TSP devida a fatores familiares, provavelmente genéticos. Também especulam sobre a possibilidade de cofatores ambientais ou mutações com aumento na neurovirulência para explicar a agregação familiar de casos da mielopatia associada ao HTLV-I. Os autores alertam para os altos títulos de anticorpos anti-HTLV no soro dos pacientes com a desordem neurológica, quando comparado com os portadores assintomáticos. Acreditam que além de fatores imunogenéticos outros cofatores podem estar envolvidos para explicar os achados. Também observaram tendência para agregação étnica na população estudada<sup>53</sup>. Ao avaliarem a família de um

paciente com TSP/HAM no Brasil, Cavalcanti e colaboradores demonstraram a presença do vírus em quatro gerações. Encontraram cluster de manifestações neurológicas, quando detectaram quatro casos de TSP e três casos de distúrbios neurológicos subclínicos em 8 familiares infectados pelo HTLV-I. Transmissão sexual, vertical e após transfusão de sangue foram documentadas. O tempo da amamentação foi associado significativamente à eficiência da transmissão vertical <sup>54</sup>.

Estudo conduzido em Benin (África Ocidental) avaliou sorologicamente 179 familiares de 33 sujeitos soropositivos para HTLV-I. Cento e trinta e seis desses familiares eram crianças e os resultados encontrados confirmam transmissão vertical: 24/136 (17,7%) se pai e mãe são positivos; 36/136 (26,5%) se só a mãe é soropositiva; e nenhuma sorologia alterada em crianças que só o pai é soropositivo <sup>55</sup>.

Num estudo caso-controle em familiares de pessoas infectadas (n=32) e não infectadas (n=32), na mesma região africana, Houinato e colaboradores encontraram a taxa de soroprevalência de 27,5% entre os familiares dos infectados (40/138) e a taxa de 1,4% (2/142) no grupo controle; esse achado confirma cluster intrafamiliar da infecção pelo HTLV-I <sup>56</sup>.

Cartier e colaboradores, encontraram no Chile 8 pacientes com paraparesia espástica tropical pertencentes a quatro famílias. O vírus foi confirmado por teste de Elisa, imunofluorescência e por PCR. Em todas as famílias houve transmissão vertical do HTLV, da primeira para a segunda geração <sup>57</sup>.

Ainda no Zaire foi conduzida outra investigação para avaliação da transmissão intrafamiliar e da variabilidade genética do HTLV-I. Oitenta e quatro familiares de 11 portadores de TSP/HAM e de 5 portadores assintomáticos do vírus foram avaliados. Em trinta familiares - entre os quais 15 crianças testadas depois dos 2 anos de idade - os testes sorológicos (Elisa e Western blot) foram positivos. A reação em cadeia da polimerase confirmou os resultados. Os autores, após ampliação e sequenciamento dos terminais longos (long terminal repeat - LTR) observaram que sequências idênticas foram encontradas numa mesma família, exceto uma mulher que apresentou duas variantes: a cepa da família e uma mutação. O vírus, em contraste com outras retrovíroses, se mostrou geneticamente muito estável. O modo de transmissão mais importante nessa população foi o vertical <sup>58</sup>.

A ocorrência familiar de leucemia de células T (ATLL) no Japão é alta e sua ocorrência familiar é apontada no trabalho de Yamaguchi e colaboradores, onde os autores chamam a atenção para o fato de que embora a ATLL seja vista em outros países, sua incidência é mais alta no Japão, e que a ocorrência familiar da patologia é frequentemente observada <sup>59</sup>.

Na Jamaica foi documentado caso de ATLL em irmãos de 16 e 24 anos. Pesquisa de anticorpos anti-HTLV-I em 19 familiares dos pacientes revelou taxa de soroprevalência de 17%, bem superior a taxa de soroprevalência do país, estimada em 5%. <sup>60</sup>

A mesma leucemia de células T foi observada no Reino Unido, em dois irmãos de origem caribenha, cuja mãe era soropositiva para o HTLV-I. O relato confirma a transmissão vertical do vírus e concorda com os achados de ocorrência familiar de ATLL, previamente citados <sup>61</sup>.

No Gabão (África ocidental) um grupo de 34 crianças filhas de mães soropositivas foi acompanhado por quatro anos para avaliação do risco e modo de transmissão vertical. Anti-HTLV-I/II e DNA proviral só foram detectados após os 18 meses. A taxa de soroconversão foi de 17,5% e nenhuma criança soroconverteu após os 3 anos. Os autores não encontraram DNA proviral no sangue do cordão ou no líquido amniótico <sup>62</sup>.

A transmissão sexual de ambos os tipos do HTLV foi documentada entre doadores voluntários de sangue nos Estados Unidos. Os fatores de risco apontados são a carga proviral e o tempo de relacionamento. O estudo também confirma a maior eficácia da transmissão homem – mulher <sup>38</sup>.

O padrão de transmissão familiar foi estudado num grupo de pacientes com ATLL e HAM/TSP em Taiwan, área onde a taxa de soroprevalência geral é de 0,48%. Quinze casos-índice (13 com ATLL e 2 com HAM/TSP) e 98 familiares foram avaliados. Vinte três e meio por cento (23/98) dos familiares eram soropositivos para HTLV-I. A transmissão vertical foi constatada em 7 das 13 famílias avaliadas (53,9%). De 75 crianças testadas, 15 foram soropositivas (20,0%), assim como 87,5% das esposas avaliadas (7/8). Dos 3 maridos testados, nenhum mostrou alteração sorológica. O estudo vem mostrar a importância da transmissão vertical e sexual (homem para mulher) na população estudada <sup>63</sup>.

Características demográficas e familiares da infecção pelo HTLV-I foram avaliadas numa população endêmica, de origem africana, na Guiana Francesa. A alta taxa de prevalência encontrada (6,7%) confirma achados anteriores. Mais de 80% dessa população foi examinada. Foi observada uma agregação étnica, já que a infecção estava presente em apenas três grupos: noir-marron, crioulos e miscigenados com noir-marron. Em ambos os sexos a taxa de prevalência aumentou com a idade, chegando a níveis de 40% para mulheres com mais de 50 anos. As elevadas taxas encontradas refletem, segundo os autores, os elevados índices de transmissão materno-infantil e sexual nessa população <sup>64</sup>.

Reverendo a transmissão vertical do HTLV-I/II, Bittencourt A L aponta que embora o leite materno seja a via mais importante, o fato de crianças que não receberam alimento por essa via serem soropositivas para o vírus, numa frequência que varia de 3,3% a 12,8%, nos leva a considerar vias alternativas. No Japão a taxa de transmissão vertical é relatada entre 15% a 25% em diferentes estudos. No Brasil, segundo a autora, não existem dados que avaliem essa forma de transmissão; na literatura existem poucos relatos demonstrando a transmissão vertical do HTLV-II <sup>65</sup>.

Fujino e colaboradores admitem que a principal rota de transmissão vertical é através da amamentação natural. Outras formas de transmissão vertical que não essa, como a intra-uterina, parece ser rara; embora o DNA proviral seja detectado em amostras de sangue do cordão, o provirus pode estar defectivo. A placenta pode estar infectada pelo HTLV-I, mas a infecção parece não atingir o feto, talvez por apoptose das vilosidades placentárias induzidas pela infecção viral. Também são detectados anticorpos anti-HTLV-I e DNA proviral na saliva de portadores, mas até o momento, nenhum estudo mostrou claramente a evidência de transmissão por essa via <sup>66</sup>.

Pesquisa realizada no Brasil observa a ocorrência de clusters familiares não só para HAM/TSP, mas também para ATLL, fato esse que, segundo os autores, sugere que fatores genéticos podem influenciar a evolução da infecção. Pombo de Oliveira e colaboradores estudaram 82 pacientes com ATLL e seus familiares para investigar a rota de transmissão intra familiar. Através de testes sorológicos (Elisa e WB) foram identificadas as seguintes taxas de prevalência para o HTLV-I entre os familiares: 70% (26/37) das mães testadas; 65% (24/37) das esposas; 36% (8/22) dos maridos; 30% (34/112) dos irmãos; 12% (10/82) dos filhos. Entre as 11 mães soronegativas, dois foram positivas para HTLV-I ao PCR. Entre as

nove mães que persistiram negativas, procuraram-se outros fatores de risco nos seus filhos com ATLL; os resultados identificaram: em seis casos o paciente havia sido amamentado por ama de leite; quatro desses pacientes admitiram comportamento sexual de risco; um paciente recebeu múltiplas transfusões de sangue na infância. A tendência a agregação de patologias relacionadas ao HTLV-I, já relatada em outros países, se confirmou nesse estudo: Em 9 famílias se observou cluster de ATL, HAM/TSP e/ou uveíte; em 6 famílias haviam tanto casos de ATLL como de HAM/TSP no mesmo núcleo familiar; em três famílias haviam dois irmãos com ATLL, embora os pais já houvessem falecido e seus status sorológico não pudessem ser avaliados. Esse estudo vem portanto confirmar a importante transmissão intra familiar do HTLV-I, apontando uma taxa geral de soroprevalência na família de 36%; as vias sexual e vertical foram confirmadas e um fator de risco extra foi apontado: a amamentação por ama de leite. Apesar de população geneticamente diversa, fatores genéticos podem afetar a evolução do HTLV-I no Brasil <sup>67</sup>.

## II. OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS: RELEVÂNCIA

Sabemos que o HTLV pode causar diferentes patologias em 3 a 5% de seus portadores, e que seus sinais e sintomas podem demorar anos ou mesmo décadas para se manifestarem, caracterizando um longo período de incubação <sup>68</sup>. Além disso, os mecanismos pelos quais se desencadeiam as doenças associadas ao HTLV-I ainda não estão bem esclarecidos. Desde a descoberta do vírus e a descrição das patologias associadas à infecção, as pesquisas têm sido focadas na procura de determinantes virais que possam levar à evolução para uma ou mais doenças, e que portanto, serviriam como marcadores de risco nos portadores.

Diante dos trabalhos já publicados, pode-se dizer que a quantificação da carga pró-viral é importante para estudos da história natural da infecção pelo HTLV-I no indivíduo e melhor compreensão da sua patogênese. Esta quantificação será particularmente útil como um marcador de prognóstico em portadores, e, nos pacientes já sintomáticos, para monitorar a eficiência do tratamento da(s) doença(s).

Assim como a carga pró-viral, o modo de expansão clonal do HTLV-I no indivíduo infectado pode ser uma característica relevante de evolução para ATLL. A identificação de marcadores biológicos, seja a partir de produtos virais ou do hospedeiro (HLA), que possam ser usados

para avaliar a suscetibilidade à doença, prognóstico ou resposta terapêutica tem sido objeto de muitas pesquisas.

Os trabalhos supra citados e os resultados preliminares já encontrados na coorte GIPH, apontam para a importância de se esclarecer aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais em relação ao grupo que vem sendo acompanhado no estudo prospectivo.

Entendemos que a avaliação da carga pró-viral, da integração clonal e da tipagem HLA aplicada aos núcleos familiares se reveste de particular interesse pelos seguintes aspectos: a) número expressivo de núcleos familiares (55); b) possibilidade de comparação entre núcleos formados por indivíduos portadores assintomáticos e núcleos contendo portadores que desenvolveram patologias associadas ao HTLV-I; c) busca de associação entre patologias e carga viral; d) avaliação da presença de alelos HLA interferindo na suscetibilidade para desenvolver TSP/HAM e/ou leucemia de células T do adulto, dentro dos diferentes núcleos ou de um mesmo núcleo; e) avaliação dos casos de soroconversão ocorridos dentro de núcleos, quanto à presença de alelos de susceptibilidade; f) possibilidade de detecção de cofatores que possam contribuir para a compreensão do comportamento de cluster do HTLV-I e patologias a ele associadas.

Assim, consideramos como objetivos específicos desse estudo:

- e) Avaliar características sócio-econômico-culturais nos núcleos familiares e verificar sua associação com sinais e sintomas nos infectados.
- f) Determinar e quantificar fatores associados à transmissão horizontal e vertical intrafamiliar.
- g) Determinar e quantificar fatores associados a soroconversão entre indivíduos com sorologia indeterminada, inseridos num núcleo familiar.
- h) Analisar e quantificar a carga pró-viral do HTLV-I e sua clonalidade no sangue periférico dos portadores sintomáticos e assintomáticos, e verificar sua associação com achados clínicos.
- i) Pesquisar alelos do antígeno leucocitário humano (HLA) e verificar sua associação com suscetibilidade para desenvolver HAM/TSP e/ou leucemia de células T.

### III. PROPOSTA METODOLÓGICA

#### III.1 - População do estudo:

### Crêterios de inclusão:

Ex-doadores de sangue da rede Hemominas, residentes na região metropolitana de Belo Horizonte, com sorologia positiva ou indeterminada para o HTLV-I/II serão os casos- ndice de Núcleos Familiares / Doador (NFD). Assim,   imprescindível que sejam detectados outros familiares ou parceiros sexuais estáveis (relacionamento exclusivo, com mais de seis meses de dura o) com altera o sorológica para ao HTLV-I/II, para forma o de um núcleo. Ainda um grupo controle de doadores soronegativos, selecionados por amostragem aleatória sistemática, que doaram no mesmo período de tempo, em bancos de sangue da mesma rede, deverá ser usado para compara o de resultados. Esses sujeitos já fazem parte da coorte GIPH; o fluxograma e os resultados preliminares desse estudo de acompanhamento, após cinco anos do início, estão no Anexo I. Um grupo de portadores sintomáticos, com HAM/TSP, em acompanhamento no Hospital Sarah Kubtscheck, e seus familiares, constituirão Núcleos Familiares / Paciente (NFP).

### Defini o de núcleo familiar:

Chamamos de “núcleo familiar” o conjunto de pelo menos dois indivíduos ligados por parentesco (1  ou 2  grau) ou relacionamento sexual estável e com sorologia alterada para o HTLV. Não se justifica a forma o de grupos familiares dos controles negativos; dada a baixa prevalência do vírus na popula o geral o custo com a forma o desses grupos, para garantir resultados significativos, inviabilizaria o projeto.

### Tamanho da amostra e características dos sujeitos:

Pretende-se avaliar um total de 600 indivíduos, distribuídos nos diferentes núcleos familiares; novos núcleos poderão se formar no decorrer do estudo.

A popula o a ser avaliada contará com pessoas de ambos os sexos, de idades diferentes, incluindo crianças, retratando a composi o dos núcleos familiares. O estado de saúde de alguns participantes pode estar debilitado pelas patologias associadas ao HTLV-I/II. Os questionários, avalia o clínico-neurológica e coleta de espécimen (sangue) serão realizados em ambiente que garanta o conforto e a privacidade do sujeito. Nenhum questionário será realizado e nenhuma amostra será colhida sem a prévia assinatura do consentimento livre e

esclarecido por parte do indivíduo participante voluntário ou de seu responsável legal (anexo III).

#### Critérios de exclusão:

Pessoas que não residam na grande BH não estarão participando desse estudo, por razões operacionais. Pessoas com sorologia alterada, mas que não tenham sido encaminhadas pelo serviço Social do Doador de sangue – e, portanto, sido submetidas à triagem clínica pré-doação – não serão arroladas como caso-índice de núcleo familiar de doadores (NFD). Pessoas com co-infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) não serão arrolados como sujeitos nessa investigação.

#### III. 2 - Desenho do estudo e análise dos dados:

Estudos seccionais serão realizados nesse trabalho e entendemos serem apropriados para a investigação a que nos propomos, pois lidamos com uma virose crônica, com longo período de incubação. Pretendemos desenvolver estudo de morbidade do HTLV-I/II, avaliando e comparando prevalências dos eventos e exposições na população a ser estudada.

#### Eventos:

Alterações hematológicas e alterações neurológicas associadas ao HTLV-I/II, a nível sub-clínico e clínico.

#### Exposições:

- Variáveis tempo-dependentes: carga pró-viral e modo de integração clonal
- Variável tempo-independente: tipagem HLA

Estudos descritivos nos permitirão obter informação da ocorrência de eventos relacionados com a infecção pelo HTLV-I de acordo com características biológicas (idade, sexo, raça), econômicas (classe social, ocupação) e demográficas (condições de vida).

Pretendemos realizar comparação entre taxas de prevalência de distúrbios neurológicos e hematológicos nos núcleos familiares, em relação à presença de alelos HLA específicos, à carga pró-viral e ao modo de integração clonal. Comparações deverão ser feitas também intra-núcleos, se um mesmo núcleo apresentar sujeitos com distúrbios neurológicos e/ou hematológicos e sujeitos assintomáticos. Para análise dessas três variáveis não é necessário que sujeitos de um núcleo habitem o mesmo espaço físico. Se associações estatisticamente significantes (chi-quadrado) forem encontradas a razão de chances (OR) nos permitirá avaliar sua força. Análise de regressão linear nos permitirá avaliar carga proviral e sua relação com o desenvolvimento de patologias.

O controle para possíveis fatores de confusão (sexo, idade) será feito através de ajustamento no processo de análise.

A infecção pelo vírus linfotrópico humano é de caráter crônico e a maioria dos infectados deve permanecer assintomática por toda vida. Esses indivíduos procuram cuidados médicos em estágios mais avançados da doença, em função da instalação e progressão lenta das patologias relacionadas ao HTLV-I. Estudo com doadores de sangue que se percebem sadios, aptos à triagem clínica, e cuja presença do vírus só foi detectada por testes sorológicos, é baseado em amostras da população geral e não apenas em pessoas procurando cuidados médicos; esse fato nos permite aplicar os resultados de forma mais genérica à população geral do que se trabalhássemos com doentes, caracterizando uma vantagem de estudos de prevalência em relação aos estudos caso-controle. Por se tratar de estudo com tempo (36 meses) e recursos limitados, o desenho seccional será particularmente útil para avaliar combinação de características demográficas, clínicas e laboratoriais e sua associação com patologias, dentro da perspectiva de núcleos familiares.

As limitações dos estudos seccionais também estarão presentes no nosso estudo: geralmente é difícil separar causa e efeito pois as medidas de exposição e evento são feitas ao mesmo tempo, o que gera incertezas sobre a seqüência temporal. Uma série de casos prevalentes terá uma proporção mais elevada de casos com doença de longa duração que uma série de casos incidentes; assim, a associação doença-exposição observada num estudo seccional não representará a associação de exposição com incidência. Como a prevalência é afetada pela duração média da doença, casos de evolução ou recuperação rápida não seriam captados; mas tal comportamento seria realmente atípico para uma virose que se desenvolve cronicamente.

Fatores de risco associados aos casos prevalentes podem ser diferentes dos casos incidentes. Mesmo que associações sejam encontradas, devido à limitação em estabelecer relação temporal entre exposição e evento, vamos necessitar de outros tipos de estudo (caso-controle, coorte) para estabelecer inferência causal.

### III.3 Fontes e destino do material da pesquisa (espécimens, material e dados):

As variáveis para estudo descritivo da população serão obtidas através de questionário epidemiológico estruturado e questionário de avaliação de condições sócio-econômicas e culturais. A medida da exposição (HLA, carga pró-viral) será feita através de testes laboratoriais. A medida do evento (distúrbios neurológicos, distúrbios hematológicos) será feita através de exame clínico e testes laboratoriais).

É de responsabilidade da pesquisadora e do Serviço de Pesquisa da Fundação Hemominas a guarda do material da pesquisa e seu uso para os fins estritamente determinados no protocolo. Os resultados divulgados não permitirão a identificação individual, e os sujeitos participantes do estudo poderão retirar seu consentimento em qualquer fase do mesmo, sem prejuízo para a parte assistencial.

### III. 4 - Classificação dos sujeitos:

Os sujeitos serão classificados do ponto de vista clínico em três critérios:

- a) Assintomático: sem sinais ou sintomas nas áreas neurológica e hematológica.
- b) Oligossintomático: com manifestações (sinais e/ou sintomas) subclínicas nas áreas neurológica e hematológica.
- c) Sintomáticos: com manifestações clínicas (sinais e/ou sintomas) nas áreas neurológica e hematológica.

Do ponto de vista laboratorial a classificação dos sujeitos será baseada em:

- a) Resultado sorológico:

Classificação	Elisa	Western blot	PCR
Soronegativo	Negativo	Negativo	Negativo

Soroindeterminado	Positivo	Indeterminado	Negativo ou Positivo
Soropositivo	Positivo	Positivo	Negativo ou Positivo

- b) Presença de alterações laboratoriais
- c) Presença de alelos HLA (tipagem)
- d) Nível de carga pró-viral
- e) Modo de integração clonal

### III. 5 - Fluxograma e procedimentos para coleta de dados:

O serviço social do doador encaminhará os indivíduos que apresentarem sorologia indeterminada ou positiva para o HTLV-I/II ao Serviço de Pesquisa da Fundação Hemominas. Após aconselhamento e esclarecimentos, essas pessoas serão convidadas a participar do estudo, ressaltando-se o princípio da autonomia. As que desejarem fazer parte do estudo seguirão o protocolo: questionário epidemiológico, questionário de condições sócio-econômicas e culturais, exame clínico-neurológico, coleta de sangue para os exames especificados abaixo. Conforme já citado, os ex-doadores são estimulados a convidar seus parceiros sexuais estáveis, mães e filhos para avaliação laboratorial. Todo o procedimento será realizado por profissionais treinados, em ambiente que garanta a privacidade e o conforto dos participantes. Serão excluídos aqueles sujeitos que não desejarem ou não puderem estar participando do estudo. Por razões operacionais os sujeitos deverão residir na região metropolitana de Belo Horizonte.

### III.6 - Consentimento livre e esclarecido:

O termo do consentimento livre e esclarecido, sempre em duas vias (uma para o pesquisador e outra para o sujeito), reafirma o compromisso ético dos pesquisadores para com os voluntários participantes. Será obtido pela pesquisadora responsável no contato inicial.

### III.7 - Questionários:

Questionário epidemiológico: A entrevista estruturada fornece informações sobre possíveis exposições ou re-exposições a fatores de risco (parenteral, sexual, aleitamento) e avalia o

surgimento de sinais ou sintomas que possam estar relacionados às doenças associadas ao HTLV-I/II..

Avaliação sócio-econômica-cultural: através de questionário estruturado (vide anexo VII) estaremos melhor caracterizando a população quanto aos aspectos sócio-econômicos e culturais.

### III.8 - Exames laboratoriais:

Os seguintes exames serão realizados: Elisa, Western Blot e PCR qualitativo (para confirmação diagnóstica e diferenciação entre tipo I e II); PCR quantitativo (carga viral), expansão clonal e tipagem HLA.

### III.9 - Riscos/benefícios:

Os riscos existentes nesse trabalho serão os decorrentes da punção venosa para testes sorológicos, PCR, HLA, carga viral e clonalidade. Questionários epidemiológicos e de qualidade de vida deverão ser previamente submetidos à aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hemominas. Os benefícios poderão ser significativos para a população do estudo, na medida em que se consiga identificar preditores da evolução clínica; uma melhor compreensão da história natural da infecção pelo HTLV-I/II será bastante útil para a população geral.

## IV. VIABILIDADE: FORMA DE EXECUÇÃO, RECURSOS E CRONOGRAMA.

O trabalho proposto neste estudo será realizado com a parceria de 3 instituições. 1) Na Fundação Hemominas os doadores com sorologia alterada para o HTLV-I/II serão convidados a participar do estudo através do Serviço de Pesquisa. Também nessa Instituição serão realizados: exames sorológicos, PCR, carga pró-viral e clonalidade; questionário epidemiológico; questionário sócio-econômico e avaliação clinica-laboratorial. 2) No Instituto de Pesquisas René Rachou será realizada a etapa relativa à pesquisa de alelos HLA. 3) No Hospital Sarah Kubitschek serão avaliados e acompanhados os pacientes com

mielopatia relacionada ao HTLV-I. Os dados serão centralizados nos bancos de dados da Fundação Hemominas.

As três Instituições supracitadas tem completa infra-estrutura quanto aos recursos físicos, materiais e humanos para realizarem as etapas previstas neste estudo. Em projeto já aprovado pela Fapemig (anexo IV) fica garantido o aporte financeiro para realização do estudo ora proposto, que se apresenta inserido num estudo maior já em andamento (grupo GIPH).

### CRONOGRAMA

As atividades estão planejadas para seguiram o seguinte cronograma:

ATIVIDADE	MES
Organização do projeto	1 a 2
Treinamento da equipe responsável	1 a 4
Aquisição do material de consumo e permanente	1 a 3
Adesão de novos participantes	1 a 24
Visitas de acompanhamento	1 a 20
Caracterização do padrão de bandas do Western blot e PCR qualitativo	1 a 24
Determinação da carga pró-viral do HTLV-I/II e clonalidade	1 a 24
Tipagem HLA	1 a 24
Preparação do banco de dados	1 a 26
Análise dos dados	27 a 33
Elaboração da tese	30 a 35
Defesa da tese	36

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Poiesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, et al. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proceedings National Academy Sciences USA*; 77: 7415-19; 1980.
2. Murphy EL, Hanchard B, Figueroa JP, Gibbs WN, Lofters WS, Blattner WA. Modeling the risk of adult T-cell leukemia/lymphoma in persons infected with human T-lymphotropic virus type I. *International Journal Cancer*; 43: 250-3; 1989.
3. Osame M, Janssen R, Kubota H, et al. Nationwide survey on Human T-cell leukemia/lymphoma virus type I associated myelopathy in Japan: association with blood transfusion. *Annals Neurology*; 28:50-6; 1990.
4. Gessain A and Gout O, Chronic myelopathy associated with human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) *Annals Internal Medicine*; 117:933-46; 1992
5. Mochizuki M, Watanabe T, Yamagushi K, Yoshimura K, Nakashima S et al. Uveitis associated with human T-cell lymphotropic virus type I. *American Journal of Ophthalmology*; 114: 123-9; 1992
6. Nishioka K. HTLV-I arthropathy and Sjogren Syndrome. *Journal Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology*; 13 (suppl 1):50-6; 1996
7. Gonçalves DU, Guedes AC, Catalan-Soares BC, Pinheiro SR, Martins ML et al. Dermatological findings in 211 HTLV-I positive, indeterminate and seronegative blood donors. Ninth International Conference On Human Retrovirology: HTLV; April 5-9, Kagoshima, Japan; 1999
8. Blattner WA, Nomura A, Clark JW, et al. Modes of transmission and evidence for viral latency from studies of Human T-cell Lymphotropic Virus type I in Japanese migrant populations in Hawaii. *Proceedings National Academy Science USA*; 83: 4895-8; 1986
9. Chavance M, Frery N, Valette I, Schaffar-Deshayes L, Monplaisir N. Sex Ratio of Human T-Lymphotropic Virus type I infection and blood transfusion. *American Journal Epidemiology*; 131: 395-9; 1990.
10. Tokudome S, Tokunaga O, Shimamoto Y, Miyamoto Y, Sumida I, Wishizumi M et al. Incidence of adult T-cell leukemia/lymphoma among human T-lymphotropic virus type I carriers in Saga, Japan. *Cancer Research*; 49: 226-9; 1989.
11. Hall WW, Kubo T, Lijichi S, Takahashi H, Zhu SW. Human T cell leukemia/lymphoma virus, type II (HTLV-II): emergence of an important newly recognized pathogen. *Seminars Virology*; 5: 165-78; 1994.
12. Murphy EL, Glynn S.A, Frideroy Joy, Smith JN, Sacher RA, Nass CC, et al. Increased Incidence of Infectious Diseases During Prospective Follow-up of Human T-lymphotropic Virus Type II and I - Infected Blood Donors. *Archives of Internal Medicine*; 159: 1485-91; 1999.
13. Hirata M, Hayashi J, Noguchi A, Nakashima K, Kajiyama W, Sawada T et al. The effects

of breastfeeding and presence of antibody to p40tax protein of Human T-cell Lymphotropic Virus type-I on Mother to Child Transmission International. *Journal of Epidemiology*; 21: 989-94; 1992.

14. Kajiyama W, Kashiwagi S, Ikematsu H et al. Interfamilial transmission of adult T-cell leukemia virus. *Journal Infectious Disease*; 154: 851-7; 1986.

15. De The, G.; Bonford, R. An HTLV-I vaccine: why, how, for whom? *AIDS res. Hum. Retroviruses*, 9: 381-386, 1993.

16. Proietti, F. A. Epidemiologia do HTLV I/II no Brasil e no mundo. In Proietti ABFC ed. *HTLV-I e HTLV-II, Cadernos Hemominas*, vol. 5.:49-62. 1996.

17. Maloney, E. M.; Biggar, R. J.; Neel, J. V. et al. Endemic human T cell lymphotropic virus type II infection among isolated Brazilian amerindians. *J. Infec. Diseases*, 166: 100-107, 1992.

18. Gabbai, A. A.; Bordin, J. O.; Vieira-Filho, J. B. P. et al. Selectivity of human T-lymphotropic virus type-I (HTLV-1) and HTLV-2 infection among different populations in Brasil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 49: 664-671, 1993.

19. Manns A, Blattner WA. The epidemiology of the Human T-cell lymphotropic virus type I and type II: etiologic role in human disease. *Transfusion*; 31: 67-75; 1991.

20. Clark J, Saxinger C, Gibbs N, Lofters W, Lagranade L, Blattner WA et al. Seroepidemiological studies of Human T-cell Leukaemia/lymphoma virus type I and II in Jamaica. *International Journal Cancer*; 36: 37-41. 1985.

21. Pardi D, Switzer WM, Hadlock KG, Kaplan JE, Lal RB, Folks TM. Complete nucleotide sequence of an Ameridian human T-cell lymphotropic virus type II (HTLV-II) isolate. Identification of a Human T-cell Leukaemia/lymphoma virus Type II subtype b from a Guayami Indian. *Journal Virology*; 67:4659-64; 1993.

22. Goubau P. Aspectos controversos da infecção pelo HTLV. Conferência no V Simpósio Internacional sobre HTLV no Brasil; 27-30 maio; Fortaleza, Ceará, Brasil; 1998.

23. Lairmore MD, Quinn TC. Evaluation of enzyme immunoassays for antibody to human lymphotropic viruses type I/II. *Lancet*; 337:30; 1991.

24. Hjelle B, Cyrus S, Swenson S and Mills R. Serological distinction between human T-lymphotropic virus (HTLV) type I and HTLV type II. *Transfusion*; 31: 731-6; 1991.

25. Carvalho SMF, Pombo-de-Oliveira MS, Thuler LCS, Leite NP, Santos AO, Nogueira RMP, et al. Cross-reactivity between Human T-cell Leukaemia/lymphoma Virus indeterminate Western Blot and Dengue Virus in individuals from Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology*; 20: 4 April (PO94); 1999.

26. Pancake BA, Zuker FD, Marmor M, Legler PM. Determination of the true prevalence of infection with the human T-cell lymphotropic viruses (HTLV-I/II) may require a combination

of biomolecular and serological analyses. *Procedures Associated American Physicians*; 108: 444-8; 1996.

27. Coffin J. M. *Retroviridae: the viruses and their replication*. In: Fields, B. N.; Knipe, D. M.; Howley, P. M. et al (Ed.). *Fields Virology*. 3<sup>rd</sup> edition. Philadelphia: Raven Publishers,. V 2: 1767-1847; 1996.

28. Yoshida M, Osame M, Kawai H et al. Increased replication of HTLV-I in HTLV-I associated myelopathy. *Ann Neurol*, 26:331-335; 1987.

29. Gessain A., Saal F., Gout O., et al. High human T cell lymphotropic virus type I proviral DNA load with polyclonal integration in peripheral blood mononuclear cells from French West Indian patients with tropical spastic paraparesis. In. *J. Cancer*, 43: 327-333, 1989.

30. Nishimura M., Adachi A., Akiguchi I., et al. High ratio of HTLV-I-infected cells in HTLV-I associated myelopathy (HAM). *Acta neurol Scand*, 81: 209-214, 1990.

31. Kira J., Koyanagi Y., Yamada T., et al. Increased HTLV-I proviral DNA in HTLV-I-associated myelopathy: a quantitative polymerase chain reaction study. *Ann Neurol*, 29: 194-201, 1991.

32. Hashimoto K., Higuchi I., Osame M. & Izumo S. Quantitative in situ PCR assay of HTLV-I infected cells in peripheral blood lymphocytes of patients with ATL, HAM/TSP and asymptomatic carriers. *J Neurol Sci*, 159: 67-72, 1998.

33. Nagai M., Usuku K., Matsumoto W., Kodama M. A. D., Takenouchi N., Moritoyo T., et al. Analysis of HTLV-I proviral load in 202 HAM/TSP patients and 243 asymptomatic HTLV-I carriers: high proviral load strongly predisposes to HAM/TSP. *J. Neurovirol.*, 4: 586-593, 1998.

34. Osame M, Usuku K, Izumo S et al. Human T-cell leukaemia/lymphoma virus type I associated myelopathy, a new clinical entity (letter) *Lancet*; 1:1031-2; 1986.

35. Ono, A. et al. Increased number of circulating HTLV-1 infected cells in peripheral blood mononuclear cells of HTLV-1 uveitis patients: a quantitative polymerase chain reaction study. *Br. J. Ophthalmol.*, 79: 270-276, 1995.

36. Ono, A. et al. Provirus load in patients with human T-cell leukemia virus type 1 uveitis correlates with preceding Grave's disease and disease activities. *Jpn. J. Cancer Res.*, 89: 608-614, 1998.

37. Matsumura, M.; Kushida, S.; Ami, Y. et al. A simple and reliable method for detection and quantification of the human T-cell leukemia virus type-I provirus in peripheral blood mononuclear cells of seropositive blood donors. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 22: 335-341, 1992.

38. Kaplan J. E., Khabbaz R. F., Murphy L. E. et al. Male-to-female transmission of human T-cell lymphotropic virus types I and II: association with viral load. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 12: 193-201, 1996.

39. Ureta-Vidal A, Angelin-Duclos C., Tortevoeye P., Murphy E., Lepère J-F., Buigues R-P., Jolly N et al. Mother-to-child transmission of HTLV-I: implication of high antiviral antibody titer and high proviral load in carrier mothers. Resumos da Nineth International Conference on Human Retrovirology, Kagoshima, Japão, 1999.
40. Bangham, CRM. HTLV-I infection. *J Clin Pathol*; 53:581-6, 2000.
41. Wattel, E.; Vartanian, J. P.; Pannetier, C. et al. Clonal expansion of human T-cell leukemia virus type I- infected cells in asymptomatic carriers without malignancy. *J. Virol.*, 69: 2863-2868, 1995.
42. Takemoto, S.; Matsuoka, M.; Yamaguchi, K. et al. A novel diagnostic method of adult T-cell leukemia: monoclonal integration of human T-cell lymphotropic virus type I provirus DNA detected by inverse polymerase chain reaction. *Blood*, 84: 3080-3085, 1994.
43. Cravois, M.; Leclercq, I.; Gout, O et al. Persistent oligoclonal expansion of human T-cell leukemia virus type 1-infected circulating cells in patients with Tropical sapatc paraparesis/HTLV-1 associated myelopathy. *Oncogene*, 17: 77-82, 1998.
44. Etoh, K.; Tamiya, S.; Yamaguchi, K. et al. Persistent clonal proliferation of human T-lymphotropic virus type I-infected cells in vivo. *Cancer Res.*, 57: 4862-4867, 1997.
45. Semmes, O. J. , Burton, M. & Epperly, C. D. HTLV-I Tax and loss of genetic integrity. In Semmes, O. J. & Hammarskjöld, M-L. (Ed.) *Molecular Pathogenesis of HTLV-I*. ABI Professional Publications, Arlington, USA. p. 49-55. , 1999.
46. Cravois, M.; Gessain, A; Wain-Hobson, S. et al. Proliferation of HTLV-1 infected circulating cells in vivo in all asymptomatic carriers and patients with TSP/HAM. *Oncogene*, 12: 2419-2423, 1996.
47. Shimamoto, Y.; Kobayashi, M. & Miyamoto, Y. Clinical implication of the integration patterns of human T-cell lymphotropic virus type I proviral DNA in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leuk. Lymphoma*, 20: 207-215, 1996.
48. Shimamoto, Y.; Miyahara, M.; Yamada, H. et al. Adult T-cell leukemia/lymphoma with multiple integrations of human T-cell lymphotropic virus type I proviral DNA: differing clinical features are linked to varied proviral integration. *Br. J. Haematol.*, 92: 632-638, 1996.
49. Sonoda S, Yashiki S, Tanaka H et al. Immunogenetic factors involved in the patogenesis of ATLL and HAM/TSP. *Gann Monograph on Cancer Research*, 39:81-93, 1992.
50. Jeffery KJM, Usuku K, Matsumoto W et al, HLA alleles determine human T-lymphotropic virus-I (HTLV-I) proviral load and the risak of HTLV-I associated myelopathy. *Proc Natl Acad Sci USA*; 96:3848-53; 1999.
51. Saito S, Ando Y, Fukuri K et al. Detection or HTLV-I genome in seronegative infants born to seropositive mothers by polymnerase chain reaction. *Jpn J Cancer Res* 80:808-12; 1989.

52. Matsumoto R, Inaba N, Shimizu H et al. A study of adult T-cell leukemia virus (ATLV) infection in the field of obstetrics: its epidemiology, vertical transmission and familial clustering. *Asia Oceania J Obstet Gynaecol*, 17:57-65; 1991.
53. Kayembe K, Goubau P, Desmyter J et al. A cluster of HTLV-I associated tropical spastic paraparesis in Equateur (Zaire): ethnic and familial distribution. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 53:4-10; 1990.
54. Cavalcanti M, Ferreira O Jr., Puccioni M et al. HTLV-I associated neurologic manifestations in four generations of a Brazilian family. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndrome*, 6 (2); 1993.
55. Houinato D, Verdier M, Josse R et al. Intra familial transmission of human T-cell lymphotropic virus-I (HTLV-I) in a cohort of HTLV-I positive patients. *Bull Soc Pathol Exot* 88:79-80; 1995
56. Houinato D, Verdier M, Preux PM et al. Intrafamilial clustering and 4-year-follow-up of asymptomatic human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I) infection in Benin (West Africa). *Int J Epidemiol* 27:146-52; 1998.
57. Cartier L, Ramirez E and Galeno H. Familial form of tropical spastic paraparesis. Report of 4 families. *Rev Med Chil*, 126:419-26; 1998.
58. Liu HF, Vandamme AM, Kazadi K et al. Familial Transmission and minimal sequence variability of Human T-Lymphotropic virus Type I (HTLV-I) in Zaire. *Aids research and human retroviruses*. 10: 1135-42; 1994.
59. Yamaguchi K, Takatsuki K. Adult T cell leukaemia-lymphoma. *Baillieres Clin Haematol* 6:899-915; 1993.
60. Wilks RJ, LaGrenade L, Hanchard B et al. Sibling adult T-cell leukemia/lymphoma virus type I infection in a Jamaican family. *Cancer*, 72: 2700-4; 1993.
61. Matutes E, Spittle MF, Smith NP et al. The first report of familial adult T-cell leukaemia lymphoma in the United Kingdom. *Br J Haematol*, 89:615-9; 1995.
62. Nyambi PN, Ville Y, Louwagie et al. Mother to child transmission of Human T-cell Lymphotropic virus Types I and II (HTLV-I/II) in Gabon: A prospective follow-up of 4 Years. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology* 12:187-192, 1996.
63. Hu CY, Lin MT, Yang YC et al. Familial transmission of human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) in patients with adult T cell leukemia/lymphoma or HTLV-I myelopathy. *J Formos Med Assoc*, 97:101-5;1998.
64. Plancoulaine S, Buigues RP, Murphy EL et al. Demographic and familial characteristics of HTLV-I infection among an isolated, highly endemic population of African origin in French Guiana. *Int J Cancer*, 76:331-6; 1998.
65. Bittencourt AL. Vertical transmission of HTLV-I/II: a review. *Rev Med Trop São Paulo*; 40:245-51; 1998

66. Fujino T and Nagata Y. HTLV-I transmission from mother to child. *J Reprod Immunol* 47:197-206; 2000.
67. Pombo de Oliveira MS, Carvalho SM, Borducchi D et al. Adult T-cell Leukemia/Lymphoma and Cluster of HTLV-I Associated Diseases in Brazilian Settings. *Leukemia and Lymphoma*, 42:135-144, 2001.
68. Uchiyama, T. human T cell leukemia virus type I (HTLV-I) and human diseases. *Ann. Rev. Immunol.*, 15: 15-37, 1997.

**ANEXOS**

- **Folha de aprovação do projeto pelo departamento**
- **Folha de aprovação pelos Comitês de Ética em Pesquisa (COEP e Hemominas)**
  - **Certificado de Qualificação**



Departamento de Medicina Preventiva e Social  
Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte, 02 de Setembro de 2004

Ao  
Prof. Fernando Augusto Proietti

Prezado Professor

Informo-lhe que Câmara Departamental reunida no dia 31/08/2004 aprovou o Projeto de Pesquisa da aluna do Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública, Bernadette Côrrea Catalan Soares, "**Núcleos familiares infectados pelo HTLV-I/II: determinantes epidemiológicos e laboratoriais como preditores da evolução clínica**" orientado por V. S<sup>a</sup>.

Profa Elza Machado de Melo

Chefe do

Departamento de Medicina Preventiva e Social

MINISTÉRIO DA SAÚDE  
 Conselho Nacional de Saúde  
 Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP  
 Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hemominas

PARECER CONSUBSTÂNCIADO

1. Título do Projeto de Pesquisa: "Estudo de núcleos familiares infectados pelo HTLV-III: aspectos epidemiológicos e laboratoriais como preditores da evolução clínica"		
2.		
<b>SUJEITOS DA PESQUISA</b>		
2. Número de sujeitos No Centro: 600 Total: 600	3. Grupos Especiais: Menor de 18 anos <input checked="" type="checkbox"/> Portador de deficiência mental <input type="checkbox"/> Embrão/feto <input type="checkbox"/> Relação de dependência (militares, presidiários...) <input type="checkbox"/> Outros <input checked="" type="checkbox"/> Não se aplica <input type="checkbox"/>	
<b>PESQUISADOR RESPONSÁVEL</b>		
4. Nome: Bernadette Corrêa Catalan Soares		
5. Instituição a que pertence: Fundação Hemominas – Hemocentro de Belo Horizonte		
<b>INSTITUIÇÃO (OES) ONDE SERÁ REALIZADO</b>		
6. Nome: Fundação Hemominas		
7. Unidade/Órgão: Hemocentro de Belo Horizonte		
8. Participação Estrangeira: Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>		
9. Projeto Multicêntrico: Sim <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Nacional <input type="checkbox"/> Internacional <input type="checkbox"/>		
<b>PATROCINADOR NÃO SE APLICA <input checked="" type="checkbox"/></b>		
10. Nome:		
<b>COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP</b>		
11. Data de Entrada: 14/08/2002	12. Registro no CEP: <b>003</b>	13. Data de análise: 14/08/2002
14. Objetivos:		
<p>Avaliar características sócio-econômicas-culturais nos núcleos familiares e verificar sua associação com sinais e sintomas nos infectados.</p> <p>Determinar e quantificar fatores associados à transmissão intrafamiliar.</p> <p>Analisar e quantificar a carga pró-viral do HTLV-i e sua clonalidade no sangue periférico dos portadores sintomáticos e assintomáticos, e verificar sua associação com achados clínicos.</p> <p>Pesquisar alelos do antígeno leucocitário humano (HLA) e verificar sua associação com susceptibilidade para desenvolver HAM/TSP e/ou leucemia de células T.</p>		
15. Sumário do Projeto:		
<p>Pretende-se avaliar um total de 600 indivíduos de diferentes núcleos familiares. A população a ser estudada contará com pessoas de ambos os sexos, de idades diferentes, incluindo crianças, retratando a composição dos núcleos familiares. O estado de saúde de alguns participantes pode estar debilitado pelas patologias associadas ao HTLV III. Serão aplicados questionários estruturados (epidemiológico e de avaliação sócio-econômica-cultural), será feita avaliação clínico-neurológica e coleta de espécime (sangue). Três instituições estarão envolvidas neste estudo: Fundação Hemominas – onde serão convidados os doadores com sorologia alterada para HTLV-III e serão realizados exames sorológicos, PCR, carga pró-viral e clonalidade, questionário epidemiológico, questionário sócio-econômico e avaliação clínica-laboratorial. Instituto de Pesquisas René Rachou onde será realizada a etapa relativa à pesquisa de alelos HLA e Hospital Sarah Kubitschek aonde serão avaliados e acompanhados os pacientes com mielopatia relativa ao HTLV-I.</p> <p>Os sujeitos envolvidos nesse acompanhamento, juntamente com seus familiares fazem parte do estudo de coorte prevalente prospectivo aberto que está sendo conduzido na Fundação Hemominas acompanhando portadores do HTLV-III denominado GIPH.</p>		

<p>16. Comentário dos Relatores:</p> <p>O projeto encontra-se de acordo com as diretrizes da Resolução CNS 196/96 e está em condições de ser aprovado por este Comitê para execução.</p>	<p>17. Parecer:</p> <p><b>Aprovado</b></p> <p>Data: 3 de fevereiro de 2003</p>
<p>18. Encaminho a CONEP:</p> <p>Os dados acima para registro <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>O projeto para apreciação <input type="checkbox"/></p> <p>Data:</p>	<p>19. Coordenador</p> <p></p> <p>Assinatura</p>

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

Parecer nº. ETIC 377/04

Interessado: Prof. Dr. Fernando Augusto Proeitti  
Departamento de Medicina Preventiva e Social  
Faculdade de Medicina/UFMG

### DECISÃO

Prezado Pesquisador;

A plenária do COEP em reunião de 25/04/05, considerou satisfatória sua resposta à diligência relativa ao projeto de pesquisa intitulado << **Estudo de Núcleos Familiares Infectados pelo HTLV Aspectos Epidemiológicos e Laboratoriais como Preditores da Evolução Clínica** >> decidindo aprová-lo.

Entretanto, a plenária recomenda que as questões Q.4.D, Q.4.E, Q.4.G e Q.4.H do questionário epidemiológico versão de 03 de junho de 1999, sejam reformuladas, pois na sua forma atual podem configurar forma de estímulo (ou de acatamento) à prostituição.

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