Texto Sistematizado Elaborado de Forma Crítica

JORGE SIMÃO DO ROSÁRIO CASSEB

Vírus Linfotrópico das Células T Humanas (HTLV)

Resumo da Linha de Pesquisa que visa concorrer ao Título de Livre Docente na Universidade de São Paulo/Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, com base no Programa da Disciplina Seminários sobre Vírus Persistentes de Importância em Saúde Pública (IMT-5124)

SÃO PAULO

OUTUBRO DE 2013

1- Introdução

Desde o início da década de 80, a descoberta dos retrovírus humanos permitiu o avanço no diagnóstico e tratamento de afecções como a Aids, mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP) e Leucemia de células T do adulto (ATL). Apesar da maioria dos estudos se direcionarem a área de HIV/Aids, tenho optado por também atuar no estudo do HTLV-1 e HTLV-2 nos últimos 20 anos. Desde modo, apresento um resumo dos principais achados nessa área, que foram resultados de colaborações, participação de alunos de iniciação científica e pós-graduação, como pode ser evidenciado no Memorial.

De fato, as retroviroses são importantes causas de morbidade e mortalidade humana, tornando-se pandemias nas últimas duas décadas. Entre essas retroviroses, o vírus linfotrópico de células T humana do tipo 1 (HTLV-1) e tipo 2 (HTLV-2) pode apresentar um caráter de persistência viral e existir, no hospedeiro, na forma silenciosa, durante várias décadas.

O HTLV-1 apresenta características micro e macro epidemiológico. Calcula-se que mais de 20 milhões de pessoas estejam contaminados no mundo (EDLICH et al., 2000; GESSAIN et al. 2012), e o Brasil apresenta cerca de dois milhões de pessoas infectadas pelo HTLV-1, correspondendo em até 2% de infectados em banco de sangue em algumas regiões do país (PROETTI et al., 2002).

Na história natural nos indivíduos portadores do HTLV-1, o desenvolvimento da doença pode iniciar após, aproximadamente, 30 a 40 anos de infecção, em cerca de 5% dos portadores, levando às doenças crônicas e progressivas, como a paraparesia espástica tropical/mielopatia associada ao HTLV-1 (TSP/HAM) e a leucemia de células T do adulto (ATL) (POIESZ et al., 1980; HINUMA et al., 1981; BLATTNER et al., 1982; YOSHIDA et al., 1984).

Os fatores que contribuem no desenvolvimento das patogêneses envolvem a interação vírus/hospedeiro, especificamente sistema imunológico. Porém, os eventos imunológicos promovidos pelo HTLV-1 não estão bem esclarecidos, acreditam que a resposta celular desencadeada pelas células T CD8⁺ seja crucial para a progressão da doença. Fatores imunes e virais como: produção de citocinas e quimiocinas, citotoxicidade, reações cruzadas, carga viral e fatores genéticos (HLA A2*) são discutidos como iniciadores da patogênese HAM/TSP (OSAME, 2002; OLINDO et al., 2005). Várias hipóteses são sugeridas para explicar qual o papel da resposta imune, da carga viral e da carga genética no processo imunopatológico da HAM/TSP.

Esse documento visa descrever meu envolvimento da Linha de Pesquisa em HTLV nos últimos 20 anos. Entretanto, vale resaltar que essa descrição sumária não traduz o ponto mais importante que é atendimento direto aos pacientes portadores de HTLV-1. Por ser uma infecção silenciosa e uma doença quase desconhecida, sofrem todos os tipos de preconceitos e dificuldades no dia-dia, agravado pela dificuldade sócio-econômica, locomoção e da pouca atuação pelos órgãos Públicos Centrais de Saúde. Entretanto, a presença de uma equipe especializada de infectologistas, neurologistas, dermatologista, assistente social, nutricionistas e psicólogos entre outros, tem permitido minorar o sofrimento, melhorar o conhecimento e divulgação do conhecimento. Nesse particular, uma reunião anual no IIER, que ocorre desde 1998, por exemplo sobre HTLV, leva informação para cerca de 100 pessoas interessadas no assunto. Assim, a dedicação da equipe, em especial do Prof. Augusto Penalva de Oliveira presente desde criação do Ambulatório de HTLV do IIER, mais recentemente da Dra. Jerusa Smid, e do Prof. Alberto Duarte, além da dedicação dos diversos alunos, funcionários do LIM56 da USP e do IIER, colocam essa tarefa como um prazer indescritível e sensação de dever cumprido.

2.1 HISTÓRICO

Em meados dos anos 70, no Japão, foram descritos alguns casos de leucemia de células T humanas (ATL) em indivíduos supostamente infectados por um retrovírus (TAKATSUMI et al., 1976; UCHIYAMA, 1977). Em 1980, o vírus linfotrópico de células T humana do tipo 1 (HTLV-1) foi caracterizado como o primeiro retrovírus identificado em humanos (POIESZ et al., 1980). Hinuma et al, (1981) isolaram o HTLV a partir de linhagem celular contínua de linfócitos T periféricos e das células do linfonodo de um paciente portador do linfoma cutâneo de célula T. Posteriormente, o vírus foi associado a doenças neurológicas como a paraparesia espástica tropical/mielopatia associada ao HTLV (HAM/TSP). Subseqüentemente, testes soro-epidemiológicos e moleculares comprovaram que a ATL apresentava correlação com o HTLV-1 (POIESZ et al., 1980; HINUMA et al., 1981; BLATTNER et al., 1982; YOSHIDA et al., 1984).

O HTLV-1 pertence à família *Retroviridae*, subfamília HTLV/BLV que é caracterizada por possuir duas fitas simples de RNA (COFFIN, 1996; CANN e CHEN, 1996), transcriptase reversa (enzima capaz de transcrever RNA em DNA viral) e inserção no genoma do hospedeiro, constituindo o provírus que pode ficar incorporado ao DNA, muitas vezes, sem a expressão de doenças (TEICH, 1982).

Novos tipos de HTLV (HTLV-3 e HTLV-4) foram isolados recentemente em populações do sul de Camarões que apresentam contato com primatas não humanos (WOLFE et al., 2005; CALATTINI et al., 2005). O HTLV-3 apresenta origem recente a partir do vírus linfotrópico de células T em símios tipo 3 (STLV). O HTLV-4 não foi identificado como equivalente ao STLV, sendo distinto, filogeneticamente, dos HTLVs conhecidos. Não há relatos que os HTLV-3 e 4 podem ser transmitidos entre seres humanos e se são capazes de desencadear doenças em seus portadores (WOLFE et al., 2005).

Os HTLV-1 e 2 compartilham entre si cerca de 65% de homologia em suas sequências de nucleotídeos (SODROSKI, 1992), dependendo da região analisada, o que determina a codificação e a síntese de diversos produtos gênicos semelhantes. A variabilidade genética observada entre essas linhagens tem levado à descrição de subtipos e a construção de árvores filogenéticas que representam relações evolutivas entre eles (CANN e CHEN, 1996). Este fato justifica a alta taxa de reações cruzadas, observadas com soros de pacientes

infectados por um tipo de vírus linfotrópico de células T humanas, quando colocados a reagir com extratos virais de outro tipo viral (SODROSKI, 1992).

O HTLV-1 é classificado em quatro subtipos (A-D). O subtipo A, cosmopolita, é o mais disseminado e encontrado em muitas populações e áreas geográficas e compreende quatro grupos moleculares, o japonês, o transcontinental, o da África do Norte e do Leste (VIDAL et al., 1994; HEMOMIMAS., 2006). Parece que não existe relação entre o subtipo viral e a doença causada pelo vírus, sendo a variabilidade genômica do HTLV-1 é muito mais dependente da sua origem geográfica (CASSEB et al., 2006).

Tabela 1 - Estudos de soroprevalência do HTLV-1/2 no Brasil, 1986-1990.

Grupo estudado	N	HTLV-1/2 (%)	Fonte
Imigrantes japoneses	147	10 (6,8)	Kitagawa <i>et al</i> 1986
De Okinawa	96	10 (10,4)	
De outras partes	51	0 (0)	
Doadores de sangue (RJ)	2.138	9 (0,4)	Lee <i>et al.</i> 1989
Pacientes em risco para retrovirose	548	20 (3,6)	Cortes <i>et al.</i> 1989
Hemofílicos (RJ, SP e MG)	ND	(13)	
Pacientes com doenças malignas (RJ)	215	8 (3,7)	Andrade-Serpa et al. 1989
Índios	137	43 (31,5)	Nakauchi <i>et al.</i> 1990
Pacientes com câncer (Belém, PA)	43	10 (23,3)	
Pacientes com desordens neurológicas	150	46 (30,7)	Spina-França <i>et al.</i> 1990

Fonte: CARNEIRO-PROIETTI *et al.* (2006) (Adaptado de: Loureiro P. Infecção pelo HTLV-1: diagnóstico e determinação da carga proviral em indivíduos assintomáticos e com enfermidades associadas em serviço de referência no Nordeste - Tese de doutorado 2008, 172 p.)

2.2 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DO HTLV

2.2.1 ESTRUTURA DA PARTÍCULA VIRAL

O HTLV apresenta uma construção complexa, consistindo de um envelope, um nucleóide e um nucleocapsídeo e, é constituído de partículas virais esféricas a pleomórficas (vírions), cujo tamanho é de, aproximadamente, 80 a 100 nanômetros de diâmetro (Figura 1). Sua organização genômica é composta por um *core* central eletrodense, que contém duas cópias de ácido ribonucleico (RNA) de fita única com 8,8 e 9 quilobases de tamanho, com enzima transcriptase reversa (RT). O envelope é composto de uma proteína de superfície extracelular e uma proteína transmembrana que atravessa esta estrutura e ancora na proteína de superfície (glicoproteínas). Junto com a membrana do envelope, existe uma matriz protéica. A proteína Gag está adicionada de um ácido graxo. O capsídeo, de simetria icosaédrica, é composto pelas proteínas codificadoras do gene *gag* e constitui o cerne da partícula viral (FRANCHINI, 1995, WYCUFF, 2001) (Figura 2). Pode-se observar que a glicoproteína viral externa (gp 46), projeta-se na superfície viral sob a forma de 72 espículas, que se ancoram nas demais estruturas virais por meio da glicoproteína transmembrânica (gp 21) (SCHUPBACH, 1989).

Caracteristicamente, como todos os retrovírus do tipo C, as partículas virais de HTLV-1 e HTLV-2 podem ser visibilizadas pela ultramicroscopia, sendo liberadas através de fenômenos de brotamento junto à membrana plasmática da célula infectada (Figura 1). Ao contrário da infecção pelo HIV-1, não são detectadas com facilidade partículas virais, livres, de HTLV-1/2 no sangue ou em outros fluídos biológicos de indivíduos infectados, acreditando-se, assim, que as partículas virais sejam, exclusivamente, associadas aos linfócitos infectados.

Figura 1. Estrutura das partículas virais infectando um linfócito T (*Microfotografia de autoria de Olga Pfeilsticker, ICB, UFMG*).

Figura 2 – Estrutura da partícula viral do HTLV. p19 = proteína 19; p24 = proteína 24; gp46 = glicoproteína 46; gp21 = glicoproteína 21 e p55 = proteína 55.

2.2.2 GENOMA DO HTLV

O provírus do HTLV-1 revela que o mesmo é constituído por 9032 nucleotídeos (SEIKI et al., 1983), tendo, nas porções finais, uma região chamada de longa repetição (LTR), cujas sequências são fundamentais na integração do DNA proviral no DNA cromossômico do hospedeiro e também para sua regulação transcricional do genoma do HTLV (Figura 3) (CANN E CHEN, 1996). Possui os genes *gag*, *pol* e *env*, uma sequência próxima à extremidade 3' conhecida como região pX. Esta região pX apresenta os genes reguladores *tax* e *rex*, e estes contêm uma sequência de 1585 nucleotídeos (GREENE et al., 1986).

Figura 3 – Esquematização do genoma do HTLV-1 e HTLV-2.

As estruturas do envelope, do core e da transcriptase reversa do HTLV-1 são codificadas por genes denominados *env*, *gag* e *pol*, respectivamente. A região *gag* compreende

os nucleotídeos 802 a 2019 do genoma viral. Esta região, quando codificada, dá origem à proteína da matriz de 19 kDa (p19), à proteína do capsídeo de 24 kDa (p24) e à proteína do nucleocapsídeo de 15 kDa (p15).

A região LTR se apresenta como duas regiões idênticas localizadas nas extremidades 5' e 3' do genoma proviral e contém seqüências regulatórias que atuam na integração e expressão proviral.

O gene *gag* está localizado entre os nucleotídeos 802 a 2019 do genoma HTLV-1. Esta região é inicialmente traduzida como precursor poliprotéico e a sua clivagem origina as proteínas Gag maduras: a proteína da matriz de 19 kDa (p19), a proteína do capsídeo de 24 kDa (p24) e a proteína do nucleocapsídeo de 15 kDa (p15). Essas proteínas são rearranjadas para formar os componentes principais da estrutura do vírus maduro. A p24 tem alta similaridade, quanto à seqüência de aminoácidos do HTLV-1 e HTLV-2, o que resulta em considerável reatividade cruzada nos testes sorológicos. A p19 possui baixa similaridade na seqüência de aminoácidos, resultando em pouca reatividade cruzada entre os dois vírus (NAN et al., 1988).

O gene *pol*, localizado na posição 3' do gene *gag*, entre os nucleotídeos 2497 a 5187, codifica uma proteína de 296 nucleotídeos, a transcriptase reversa, fundamental para a transcrição do RNA viral em DNA e sua incorporação no genoma da célula hospedeira, além de codificar a RNase, a endonuclease e a protease. A protease é codificada por nucleotídeos localizados na parte 3' da região *gag* e na parte 5' da região *pol*. Assim, a síntese da protease é feita como parte do precursor poliprotéico *gag*, acompanhado por desvio de leitura ribossomal. A protease é responsável pelo processamento dos produtos *gag* e pela sua própria clivagem, para gerar a molécula de protease madura.

A p12 é uma proteína de 12 kDa, codificada pelo gene ORF I (Open Region Frame) do genoma do HTLV-1. Ela pode interagir com as cadeias β e γ do receptor para IL-2 (IL-2R) e é possível que esta ligação altere a sinalização deste receptor, ocasionando alterações na via de sinalização por IL-2R, sem a necessidade da presença desta citocina no meio extracelular. De fato, a contínua ativação da via de sinalização por IL-2R está correlacionada com a independência de IL-2 das células T, transformadas pelo HTLV-1 em cultura "in vitro" (FRANCHINI, 1995; JOHNSON et al., 2001).

A Tax e a Rex são proteínas com funções regulatórias do genoma viral, sendo que ambas são codificadas pela região pX do HTLV-1. O gene *rex*, responsável pela codificação da proteína p27^{rex} (que é reguladora pós-transcricional da síntese de proteínas estruturais do

vírus e de outra proteína), não apresenta definida sua função principal (RIMSKY et al., 1988). A proteína rex, do HTLV-1, poder exercer as funções da proteína rev no HIV-1, até mesmo substituindo-a. Porém, a rev do HIV-1 não consegue substituir a rex no sistema HTLV-1, dados estes que não foram detalhados (GREENNE et al., 1990; JOHNSON et al., 2001).

A Tax é uma fosfoproteína nuclear de 40 kDa com 353 resíduos de aminoácido, localizada entre a região U3 e a LTR (BEIMLING e MOELLING, 1992; PACA-UCCARALERTKUN et al., 1994) e regula, indiretamente, a transcrição do genoma proviral, ao interagir com fatores de transcrição celular e induz sua ligação a sítios específicos na LTR do HTLV-1, ativando sua transcrição. Ao interagir com proteínas regulatórias celulares, a Tax pode induzir, a expressão de genes celulares (FRANCHINI, 1995; FERREIRA et al., 1997). O gene *tax* codifica a proteína p40^{tax}, transativadora da região U3 do segmento LTR do genoma viral e também de genes da célula eucariótica infectada, tais como os que codificam a cadeia α do receptor da IL-2 (CD₂₅), a própria IL-2, a IL-1, a IL-3, a IL-6, a TGF- β , fator de crescimento de granulócitos (GM-CSF), a *c-fos*, a *c-sis*, a *c-myc*, a proteína relacionada ao paratormônio, entre outros (GREENE et al., 1986; BALLARD et al., 1988; GREENE et al., 1989).

A atividade transativadora de genes celulares, da proteína p40^{tax}, dá-se por vias intracelulares que envolvem fatores de transcrição como NF- κ B e SRF (LANOIX et al., 1994; SUZUKI et al., 1993). O único gene, até então descrito como tendo a sua transcrição inibida pela Tax é o gene que codifica a cadeia da polimerase β , uma enzima envolvida no reparo do DNA (FRANCHINI, 1995; FERREIRA et al., 1997; JOHNSON et al., 2001). A Tax favorece a sinapse neurológica de célula a célula, e sua expressão proporciona um sinal intracelular sinérgico com a ICAM-1 causando polarização dos microtúbulos das células T, demonstrando que não está presente apenas no núcleo da célula infectada (NEJMEDDINE et al., 2005).

Recentemente, observaram similaridade nas variações das seqüências dos genes *rex* e *tax*, onde as variações de aminoácidos do gene rex são maiores que do gene tax. Há uma coincidência nas regiões da tax e rex, sendo o segundo códon da Rex corresponde ao terceiro códon da Tax. Isso leva a supor que a proteína Rex pode resistir a maiores mudanças de aminoácidos que a proteína Tax, demonstrando que a proteína Tax apresenta uma estabilidade evolutiva e é mais conservada que a proteína Rex (McGIRR e BUEHURING, 2006).

O gene *env*, localizado na região 5180 a 6647, é responsável pela codificação das glicoproteínas externas do envelope (a precursora gp61/68 e sua derivada gp46) e da proteína transmembrana (gp21) (HALL et al., 1994). O *env* contém uma seqüência de nucleotídeos que é clivada no início do processo de maturação viral. Um domínio amino terminal corresponde a

uma glicoproteína externa gp21, que é clivada na região carboxi-terminal, resultando em uma proteína transmembrana com 21 KDa e outra externa de 46 KDa.

As gp46 e gp21 têm importante papel na entrada do vírus HTLV na célula alvo e também na indução da produção de anticorpos neutralizantes contra este vírus. A LTR do HTLV-1 apresenta 754 nucleotídeos, responsáveis pelos sinais iniciais e terminais da transcrição, assim como pela integração do genoma retroviral ao DNA da célula hospedeira. As seqüências que, imediatamente, flanqueiam o LTR têm importante papel, no início da síntese do DNA proviral, a partir do RNA genômico (HASELTINE et al., 1985).

2.3 CICLO DE REPLICAÇÃO VIRAL

O HTLV-1 entra em contato com as células do sistema imune, preferencialmente, os linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ (eventualmente monócitos). O receptor de membrana celular GLUT1, um transportador de glicose, inicia o ciclo de replicação viral (TAKENOUCHI et al., 2007; OVERBAUGH, 2004; MANEL et al., 2004; MANEL, 2003; POEISZ, 2002). Após, ocorre à fusão da membrana do HTLV-1 com a proteína transmembrânica, e o cerne viral é introduzido no citoplasma da célula infectada. A transcrição do genoma viral de RNA para DNA ocorre pela enzima transcriptase reversa e o genoma viral é inserido no núcleo da célula hospedeira (Figura 4). Este processo marca o início da fase tardia onde são sintetizadas proteínas virais.

Após a ligação com a célula alvo, ocorre a exposição do coere viral, com a transcrição do genoma viral RNA em DNA, pela transcriptase reversa (RT). Quando a transcrição do DNA está completa, o core se rompe, permitindo a entrada do DNA viral no núcleo celular e sua integração ao DNA genômico humano.

O genoma viral integrado passa a ser denominado DNA proviral e foi passivo de replicação quando a célula sofrer mitose. A partir deste momento, começa a síntese do RNA viral pelos mecanismos de reprodução celular, tendo como molde o provírus integrado. Os RNAs transcritos são processados em mRNAs e no genoma viral.

Com este processo, as proteínas virais são sintetizadas e ocorre o início da montagem e brotamento dos vírions, levando parte da membrana celular para a formação de seus envelopes virais, compostos por duas camadas de lipídeos e uma de proteína.

Outro modo de transmissão ocorre pelo contato célula a célula, a partir de outras células infectadas (IGAKURA et al., 2003) (Figura 5). A proteína viral Tax favorece uma reprogramação na célula infectada, promovendo a expressão de proteínas de adesão celular e produção de moduladores imunes na célula infectada para a não infectada. Depois do encontro

da molécula de adesão, as proteínas virais são transportadas por microtubos, e partículas do core viral, infecta a nova célula, passando a ser hospedeira do HTLV-1 (DERSE & HEIDECKER, 2003). Após a integração, a replicação pode ocorrer por mitose, havendo possibilidade de um erro em 10^9 cópias virais (NIEWIESK & BANGHAM, 1996).

Figura 4. Esquematização da replicação do HTLV-1.

Fonte: Nejmeddine M, Bangham C R M. The HTLV-1 virological synapse. Viruses, 2010.

Figura 5a, b. c. Esquematização do modo de replicação do HTLV-1, por célula a célula.

O nível de linfoproliferação (LPA) tem servido para avaliação de risco para HAM TSP e diagnóstico de progressão do estado assintomático para mielopatia. De fato, a LPA serve para discussão e conduta no dia-a-dia quando existe dúvida na progressão da doença pelo HTLV-1. Na figura abaixo claramente demonstra que indivíduos com HAM TSP apresentam cinco vezes mais proliferação espontânea após três dias de cultura de linfócitos comparados aos pacientes assintomáticos.

Nível basal de proliferação das células mononucleares após 3 dias de cultura

2.4 DOENÇA RELACIONADA AO HTLV-1

A HAM/TSP é definida como uma doença que provoca a desmielinização crônica progressiva na medula espinhal, usualmente de início insidioso, que acomete de 1 a 2% dos portadores de HTLV-1. Está associada a um grau variável de disfunções esfinterianas e sensitivas, que afeta mais mulheres do que homens, geralmente na quarta e na quinta década de vida (GESSAIN et al., 1985; OSAME et al., 1986). Estima-se que 10 (exatamente 0,96%) de 1000 pacientes podem desenvolver TSP/HAM, após décadas de infecção e com idade de, aproximadamente, 43 anos de idade (KAPLAN et al., 1990; OSAME et al., 1990; UCHIYAMA, 1997). Essa doença é a mais comum entre os indivíduos em seguimento no Serviço de HTLV do IIER.

Em 1985 foi constatada a presença de anticorpos IgG contra o vírus HTLV-1 no soro de 65% dos pacientes com quadro de mielopatia na Martinica. Esse quadro neurológico foi denominado de paraparesia espástica tropical (TSP), sugerindo, que o HTLV-1 poderia ser o agente causador desta síndrome (GESSAIN et al., 1985). No mesmo ano, estes achados foram confirmados em pacientes na Jamaica e da Colômbia (RODGERS et al., 1985). Em 1986, Osame et al. (1986) relataram doença semelhante no sul do Japão, classificando como mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM) (OSAME et al., 1986). Em seguida, verificou-se tratar da mesma doença (HAM e a TSP), e foi denominada de HAM/TSP (ROMÁN & OSAME, 1988).

Nas regiões tropicais e subtropicais apresenta cerca de 40% a 60% das mielopatia de origem indeterminada (GESSAIN e GOUT, 1992; OSAME et al., 1992). No Japão, o risco de desenvolver HAM/TSP nessas áreas endêmicas para ATL, é de um para cada 1000-2000 portadores do vírus, enquanto que no Caribe e na América do Sul varia de 1 a 5%. As mulheres

são mais acometidas que os homens, numa relação de 2:1. No Japão, cerca de 25% dos casos tinham antecedentes de transfusão sanguínea, onde o risco de HAM/TSP, após receber produtos celulares contaminados com HTLV-1, foi de 30% ao final de três anos (ROSENBLATT et al., 1988).

No Brasil, foram relatados casos suspeitos de HAM/TSP em Fortaleza-CE, sem a pesquisa de anticorpos anti-HTLV-1 (COSTA et al., 1989). Em São Paulo - SP, anticorpos contra HTLV-1 foram identificados em 37,5% dos pacientes atendidos com mielopatias crônicas, de origem obscura (MARTINS-CASTRO et al., 1989). Em Salvador, foi confirmado que 50% dos pacientes que com TSP/HAM apresentavam anticorpos anti-HTLV-1 (GOMES et al., 1999).

A HAM/TSP é caracterizada por paraparesia espástica nos membros inferiores, evoluindo com graus variáveis de disfunção vesical, além de distúrbios de sensações sensitivas (OSAME et al., 1990). Os principais sintomas observados são dificuldades na marcha, fraqueza e espasticidade nos membros inferiores, além de distúrbios esfinterianos (GESSAIN et al., 1985; OSAME et al., 1985).

Do ponto de vista histopatológico (Figura 6), existe o comprometimento da medula espinhal torácica, com espessamento leptomeníngeo e atrofia medular em diferentes graus. Os achados histopatológicos incluem infiltração linfocitária perivascular, desmielinização, degeneração axonal e das células gliais. A intensidade da reação inflamatória está relacionada com a duração da doença, ou seja, com o tempo da doença (GESSAIN et al., 1992; IWASAKI, 1993), e o processo de desmielinização pode ser mediado por mimetismo molecular (LEVIN et al., 2002; KALUME et al., 2004; GARCIA-VALLEJO et al., 2005).

A intensidade da reação inflamatória pode está relacionada com a duração da doença, ou seja, na fase inicial, ocorre um processo meningo-mielítico com proliferação capilar e infiltrado linfomonocitário acometendo, predominantemente, a região torácica da medula espinhal. Progressivamente, ocorre uma degeneração da substância branca, particularmente, do trato córtico-espinhal lateral, com pouco envolvimento da substância cinzenta (IWASAKI et al. 1993).

Segundo Iwasaki et al. (1993) e Yoshioka et al. (1993), os casos mais avançados da patogênese ocorreram em indivíduos com longo tempo de TSP/HAM (longa duração) e observaram que o processo de degeneração acaba predominando sobre a inflamação. Relatos definem que há persistência de atividade inflamatória após longos períodos (CASTRO-COSTA et al., 2002; IWASAKI et al., 2004).

Figura 6. Desmielinização medular pelo vírus HTLV-1: indivíduo saudável (esquerda) e um paciente com TSP/HAM (direita).

As células T e monócitos são encontrados em alta porcentagem nesta região, acredita-se que a migração celular é devido à produção de diversas citocinas e quimiocinas pro-inflamatórias, mas não foi encontrada evidência de malignidade nas células migratórias (MURPHY et al., 1988; PICCARDO et al., 1988; WU et al., 1993; LEVIN e JACOBSON, 1997). Porém, as células inflamatórias podem envolver a parede vascular acarretando vasculite e gliose perivascular (AKIZUKI et al., 2001; ROSENBLUM et al., 1992).

O predomínio de anormalidades na coluna lombar da medula torácica pode ser explicado pelo processo hemodinâmico do fluxo sanguíneo desta região (JOHNSON, 1998). No encéfalo de pessoas com TSP/HAM, observam-se áreas de inflamação perivascular na substância branca central e, menos comum, no cérebro e no tronco encefálico (ELLISON et al., 1998). Aye et al. (2000), sugeriram que as alterações inflamatórias se estendem em todo o sistema nervoso central.

Apesar da TSP/HAM ser uma doença de baixa letalidade, a possibilidade de levar à incapacidade permanente, a torna um sério problema de saúde pública. Outras características neurológicas encontradas na TSP/HAM são: contrações e fraqueza dos membros inferiores,

distúrbios urinários e perturbações sensoriais torácicas (GESSAIN et al., 1985; OSAME et al., 1985).

Nos aspectos clínicos várias estratégias terapêuticas estão sendo utilizadas, como o uso de corticóides, antivirais, INFs etc, porém, sem nenhuma melhora imunológica. O uso de corticóides no tratamento da TSP/HAM tem sido utilizado desde a descoberta da doença. Os corticóides reduzem a celularidade líquórica e diminuir a quantidade de vírus no sistema nervoso central (SNC) (MONTANHEIRO et al., 2005; LEZIN et al., 2005). O INF- α atua na ação antiviral e imunomoduladora da droga, podendo inibir a produção de citocinas inflamatórias (NAKAGAWA et al., 1996; FENG et al., 2003; IZUMO et al., 1996). Os antivirais têm sido aplicados na infecção pelo HTLV, sendo que os inibidores de nucleosídeos da transcriptase reversa foram os primeiros a serem estudados. A zidovudina e lamivudina, mostraram pequenos benefícios na sintomatologia e carga viral (TAYLOR et al., 2006), porém com efeitos colaterais. Todas as estratégias de tratamento, a diversidade dos métodos de avaliação, dos centros de estudos, não permitem uma conclusão precisa sobre o tratamento da TSP/HAM.

Vários fatores influenciam no desenvolvimento da patogênese. Entre eles encontramos os riscos relacionados a carga proviral (MONTANHEIRO et al., 2005; OLINDO et al., 2005; NAGAI et al., 1998), a proteção vinda de certos alelos HLA (DRB1*0101 versus HLA-A*02 e HLA-CW*08) e subgrupos da Tax HTLV-1 (SABOURI et al., 2005). Osame (2002), considera que fatores celulares e hormonais podem estar envolvidos na patogênese da HAM/TSP (OSAME, 2002). Além disso, polimorfismo no gene do receptor de vitamina D pode estar associado com o desenvolvimento da HAM/TSP (SAITO et al., 2005), enquanto que o polimorfismo no promotor da interleucina-10 afeta a carga proviral e o risco de desenvolver a patogênese (SABOURI et al., 2004).

Vine et al. (2002) estudando a população do Sul do Japão, verificaram que 58 sítios de polimorfismo em 39 HLA e identificaram três fatores genéticos que desenvolvem e influenciam o risco da HAM/TSP. O promotor do alelo 863 HLA desenvolvem a HAM/TSP, SDF + alelo 801 A3'UTR e IL-15 alelo 191 C parece ser protetor.

Porém, o risco do desenvolvimento da TSP/HAM está envolvido com três hipóteses imunológicas que levam a desregulação do sistema imunológico, provocando uma constante inflamação: a citotoxicidade direta, auto-imunidade e dano celular circundante (Figura 7) (TAYLOR et al., 1998; OSAME et al., 1999; NAGAI et al., 2000; JACOBSON, 2002; OSAME et al., 2002; LEVIN et al., 2002).

Figura 7 – Hipóteses imunológicas para o desenvolvimento da TSP/HAM. Sendo: A) auto imune – contra antígenos de células gliais; B) citotoxicidade colateral – citocinas sobre as

células gliais; e C) citotoxicidade direta – células gliais infectadas pelo HTLV-1 (TAYLOR et al., 1998).

Na teoria da citotoxicidade direta, as células gliais infectadas pelo HTLV-1 expressariam antígenos virais de superfície e células T citotóxicas CD8⁺ específicas cruzariam a barreira hematoencefálica e destruiriam as células gliais infectadas, através da atividade citotóxica direta ou por liberação de citocinas (IJICHI e OSAME, 1995; IJICHI et al., 1996; LEVIN e JACOBSON, 1997; JOHNSON, 1998; NAKAMURA, 2000; FURUKAWA et al., 2003). Além disso, linfócitos CD4⁺ infectados pelo HTLV-1 parecem resistir apoptose, o que contribui para a cronicidade do processo inflamatório (HAMASAKI et al., 2001). Numa variante da teoria citotóxica, a resposta inflamatória seria dirigida contra células nervosas infectadas pelo HTLV-1, em que existiria uma linhagem neurotrópica do vírus. Entretanto, parece não haver diferenças significantes entre o vírus recuperado de pacientes com ATL e HAM/TSP (GREENBERG et al., 1989, XU et al., 1996, WATANABE, 1997; WATANABE et al., 2004).

A teoria da auto-imunidade, um antígeno do hospedeiro seria confundido com algum antígeno do HTLV-1 acarretando no processo inflamatório auto-imune com lesão neural. Recentemente, foi identificada a proteína neuronal hnRNP-A1 que apresenta reação cruzada com a proteína viral Tax, configurando processo de mimetismo molecular. A teoria imunomediada pode justificar a associação de manifestações auto-imunes sistêmicas nos pacientes com HAM/TSP (RODGERS-JOHNSON et al., 1990; GESSAIN e GOUT, 1992; MELO et al., 1994; FURUYA et al., 1998; LEE et al., 2005; MOSLEY et al., 2005).

A terceira teoria, do dano circundante, envolve linfócitos T CD4⁺ infectados e linfócitos T citotóxicos CD8⁺ específicos anti-Tax que migrariam para o interior do SNC, onde a interação promoveria a produção de citocinas, inflamação e a destruição tecidual (HÖLLSBERG e HAFLER, 1995, NAGAI & OSAME, 2002; OSAME, 2002; ARAÚJO et al., 2005; SILVA, 2006; KUBOTA et al., 2003; GOON et al., 2003; NAGAI e OSAME, 2003; SAKAI et al., 2001; URETA-VIDAL, 2001) (Figura 8).

Figura 8 – Resumo das teorias sobre o surgimento da HAM/TSP.

2.5 RESPOSTA IMUNOLÓGICA NA INFECÇÃO HTLV-1

Algumas citocinas liberadas em resposta à infecção viral pertencem à família de proteínas intimamente relacionadas, denominadas quimiocinas. As quimiocinas são uma família das citocinas, estruturalmente homólogas, que regulam a migração e estimulam o movimento dos leucócitos do sangue para os tecidos. Elas são polipeptídeo de 8 a 12 kD contendo duas alças dissulfeto internas e foram identificados, cerca de 50 quimiocinas diferentes. Existem quatro famílias de quimiocinas que se diferem pelos resíduos de cisteína (CC, CXC, C e Cx3C) (YOSHIE, 2006).

As duas principais famílias são: CC que apresenta resíduos de cisteínas adjacentes e a CXC com seus resíduos separados por um aminoácido (BACON et al., 2002). As quimiocinas envolvidas em reações inflamatórias são produzidas por leucócitos em resposta a estímulos externos, e as quimiocinas que regulam o tráfego celular através dos tecidos são produzidas constitutivamente por várias células nesses tecidos.

Estas são sintetizadas por fagócitos e outros tipos celulares, como linfócitos T CD8^+ e macrófagos. As quimiocinas estão relacionadas tendo por base sua sequência de aminoácidos (70 a 130 aminoácidos), atuando como agentes químicos para as células fagocitárias, recrutando monócitos, neutrófilos e outras células efetoras do sangue periférico para os locais de infecção. Alguns tipos de quimiocinas também funcionam no

desenvolvimento dos linfócitos, na migração e no crescimento de novos vasos sanguíneos (AHMED e BIRON, 1999).

As células que apresentam infecção pelo vírus HTLV-1 conseguem ser imortais e expressar, em seus clones, o receptor de quimiocina CxCR4 (YOSHIE et al., 2002). As quimiocinas MIP-1 α , MIP-1 β (macrófagos inflamatórios que liberam a proteína inibitória) e RANTES são ligantes naturais dos receptores CCR1, CCR3, CCR5. O receptor CCR5 é usado pelo HIV-1 na infecção da célula alvo e, por este motivo, as quimiocinas competem o HIV-1 pelo mesmo sítio de ligação (AHMED e BIRON, 1999). Assim, existem vários vírus que interferem na ação das quimiocinas e as utilizam, como utilizam seus receptores, para suprir suas próprias necessidades (AHMED e BIRON, 1999).

O HIV-1 possui capacidade de induzir a produção, em grandes quantidades, de quimiocinas, como RANTES, MIP-1 α , MIP-1 β e outras, que são ligantes naturais de receptores CC-quimiocinas e CCR-5 (PORTER et al., 1998). Estas proteínas inflamatórias têm capacidade antivirais e são produzidas por monócitos, células T CD8⁺ e, também, por células matadoras naturais – “Natural Killer” (NK), durante a evolução da TSP/HAM (COPELAND et al., 1996; OLIVA et al., 1998; UMEHARA et al., 1996; ROSSI e ZLOTNIK, 2000).

A infecção pelo HTLV-1 tem um caráter latente e induz a ativação de células, as quais respondem por meios de múltiplos mecanismos da resposta imune. Diante disso, vários estudos têm sido desenvolvidos para compreender os fenômenos que levam os indivíduos assintomáticos a desenvolverem alguma patologia e outros permanecem assintomáticos ao longo da vida.

Várias estratégias estão sendo investigadas, para correlacionar os mecanismos imunopatológicos e imunoprotetores, com o desenvolvimento das diferentes formas clínicas da infecção. No entanto, a natureza e os mecanismos pelos quais se manifestam ainda são desconhecidos. Alguns parâmetros como alta carga proviral (NAGAI, 2001), a constante linfoproliferação espontânea *in vitro* (SAKAI et al., 2001), aumento das células T CD8⁺ específicos e altos títulos para HTLV-1, tanto no soro quanto no fluído cerebral (GRETEN et al., 1998) parecem estar associados com a presença da TSP/HAM (AKIZUKI et al., 1987; KITZE et al., 1998) e são utilizados por muitos pesquisadores para a avaliação da evolução clínica dos pacientes infectados. A princípio, acreditava-se que células T CD4⁺ do sangue periférico representavam o alvo primário para a infecção pelo HTLV-1. Atualmente, sabe-se que outras populações celulares também são susceptíveis à infecção pelo HTLV-1.

Neste contexto, estas células proliferam espontaneamente e expressam várias citocinas pró-inflamatórias e moléculas de adesão que poderiam favorecer a migração direcionada dos linfócitos T CD4⁺ infectados, do sangue periférico para o sistema nervoso central (SNC) (GRANT et al., 2002). No SNC, os astrócitos e as células T CD4⁺ representam as células infectadas com produtos virais em seu citoplasma bem como o DNA proviral integrado ao genoma celular analisado por meio de técnicas de hibridização ou PCR *in situ*. A expressão gênica viral dentro do SNC promove a ativação de linfócitos T e migração de monócitos, e resulta na criação de um micro-ambiente favorável à ação citotóxica de células T CD8⁺ específicas para antígenos do HTLV-1 associado às moléculas do complexo principal de histocompatibilidade de classe I (MHC-I).

Assim, a expressão da Tax pode causar uma produção exagerada de TNF- α resultando no aumento na expressão de MHC-I, redução no influxo de glutamato, destruição de oligodendrócitos, desmielinização e conseqüentemente neurotoxicidade. Outros fatores podem estar contribuindo com a desmielinização da HAM/TSP como a expressão viral, a desregulação da expressão de citocinas, a produção de anticorpos específicos anti-HTLV-1 e infiltração de linfócitos T CD8⁺ citotóxicos (CTL) e macrófagos ativados no SNC.

Alguns autores defendem a hipótese de que células T CD8⁺ citotóxica assumem um importante papel no desenvolvimento da TSP/HAM. Essas células, além de exercerem sua função citotóxica nas células infectadas, secretam citocinas essenciais para a manutenção da resposta inflamatória (JACOBSON et al., 1990; KOENING et al., 1993). O aumento da expressão de citocinas, tais como INF- γ e TNF- α , nos compartimentos afetados durante a infecção viral, acompanhado da manutenção do processo inflamatório, pode ser um controlador importante na ativação de linfócitos T CD8⁺ auto-reativos e/ou da perda da tolerância à auto-antígenos (BILLAU et al., 1990; HORWITZ et al., 1997).

Esses possíveis mecanismos auto-imunes poderiam ser desencadeados por meio de uma reação cruzada de antígenos virais derivados da fagocitose de partículas virais, ou células apoptóticas infectadas pelo HTLV-1 ou por infecção direta das células dendríticas com conseqüente processamento e apresentação dos antígenos virais no contexto das moléculas de MHC-I. A ativação celular que ocorre no sangue periférico quanto no líquido foi avaliada por meio de marcadores de ativação celular específicos para linfócitos, monócitos e neutrófilos em pacientes com TSP/HAM e mostrou aumento nas várias populações celulares (IJICHI et al., 1989; JACOBSAN, 1988; UMEHARA et al., 1993). Estudos prévios demonstraram uma correlação entre carga de DNA proviral e a frequência de linfócitos T CD8⁺ efetores e de

memória específicos anti Tax em pacientes com HAM/TSP. Esses dados sugeriram que a resposta mediada por CTLs Tax específicas estaria ligada diretamente aos níveis de carga de DNA proviral (NAGAI et al., 2001).

As células T CD8⁺ apresentam reservatório celular adicional para o HTLV-1 “*in vivo*”. Além disso, através da citometria de fluxo mostrou que os linfócitos T CD8⁺ são células que, predominantemente, se expandem durante a estimulação espontânea *in vitro* (HANON et al., 2000). Estas observações sugerem que a resposta mediada pelas CTLs específicas não seria o único evento responsável pela alta carga proviral, sendo a expansão celular um fator importante na contribuição da carga proviral total presente no sangue periférico e no SNC durante a doença neurológica.

Em um modelo proposto, o evento inicial da progressão da HAM teria a participação de citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1b, IL-6, INF- γ , TNF- α , e IL-15. Essas citocinas produzidas por células T, macrófagos e micróglias ativadas, seriam de grande importância na desmielinização neuronal (GRANT et al., 2002). Assim, apesar da maioria dos trabalhos sugerir que o estabelecimento de um padrão de resposta imune citotóxica esteja associado ao desenvolvimento da HAM/TSP, outros autores sugerem que mecanismos inerentes à imunidade humoral também levar à HAM/TSP (CASSEB et al., 2007; CASTRO-COSTA et al., 2006).

Deste modo, a ativação persistente de elementos da resposta imune, tais como a estimulação de linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺, a expressão de moléculas de adesão e receptores na superfície de linfócitos e monócitos e a produção de fatores solúveis como citocinas e quimiocinas, favorecem a migração direcionada de células infectadas ou não para o sistema nervoso (OSAME, 1999). No tecido nervoso, as células produzem fatores que amplificam a resposta antiviral contra células infectadas presentes no SNC. Algumas células infectadas são imortalizadas, o que aumenta sua permanência no local e amplifica os mecanismos efetores da resposta imune. Esse complexo sistema de interações celulares favorece o estabelecimento de um ambiente inflamatório por uma alta produção de citocinas do tipo 1. A produção de INF- γ pelos linfócitos T CD4⁺, ativa a produção de TNF- α pelos monócitos e macrófagos, tais como micróglias, o que produz um efeito neurotóxico e, conseqüentemente, a desmielinização.

Acredita-se que a integração do genoma HTLV-1 ocorra em 3% a 15% das células mononucleares (CMN) de pacientes com HAM/TSP. Uma elevada relação associada de CD4⁺/CD8⁺, com a presença de ativação nas células de T e com alto nível de expressão do haplótipo DR foram encontradas na maioria desses pacientes. Estes dados concordam com a

ideia de que a carga proviral do HTLV-1 é importante para o aparecimento dos sintomas neurológicos (GESSAIN et al., 1990; NAGAI et al., 1998; MANNS et al., 1999).

A auto-imunidade pode contribuir, diretamente, para a patogênese da TSP/HAM, junto com a carga proviral do vírus. No modelo auto-imune, a infecção pelo HTLV-1 provocaria a ativação de células T auto-reativas, que migrariam para o SNC, com secreção de citocinas, iniciando-se o processo inflamatório, com destruição tecidual (HÖLLSBERG e HAFLER, 1995). O DNA proviral do HTLV-1 foi detectado apenas no núcleo de linfócitos que se infiltraram na medula espinhal e está ausente nos neurônios e células da glia. Isto indica que a desmielinização na TSP/HAM não é resultado da infecção viral de oligodendrócitos ou células neuronais e sim ação do sistema imunológico (HARA, 1994).

Além destas respostas ao HTLV-1, observamos a resposta de citocinas e β -quimiocinas. Estas proteínas inflamatórias revelam capacidade antiviral durante a evolução da HAM/TSP (COPELAND et al., 1996; OLIVA et al., 1998; UMEHARA et al., 1996). Estudos mostraram que pacientes com HAM/TSP apresentaram elevado número de células T CD8⁺ no sangue periférico e que clones destas células secretam INF- γ e TNF- α . Além disso, as células T CD8⁺, específicas para o HTLV-1, são importantes fontes de mediadores solúveis pró-inflamatórios, que podem contribuir significativamente para a patogênese da TSP/HAM (SHIMAMOTO et al., 1996).

Outros estudos sugerem que há aumento de IL-2 nos indivíduos HTLV-1 assintomáticos. Os pacientes HAM/TSP apresentaram aumento em TGF- β , TNF- α e INF- γ . Por outro lado, nos pacientes com ATL, estas citocinas encontravam-se em níveis baixos (MURPHY et al., 1989; TENDLER et al., 1991; UMEHARA et al., 1998; HENRY, 1995).

Além de possuir características líticas, as CTL, ou outras células mononucleares, são fontes importantes de mediadores pós-inflamatórios solúveis, que podem contribuir, significativamente, para a patogênese da HAM/TSP (HOFFMAN et al., 1992). O HTLV-1 aumenta a secreção de IL-6 em cultura de células da microglia, em humanos, mas não apresentaram estímulo para a liberação de IL-1 em monócitos ou células da microglia. Assim, TNF- α e IL-6 têm sido implicados no processo inflamatório de desmielinização e gliose, sendo proposto, que células da microglia humana e monócitos infectados e ativados pelo HTLV-1 poderiam ter um papel na patogênese da HAM/TSP (NAGAI et al., 1995).

A ativação dos CTL e das células infectadas pelo HTLV-1 proporcionam uma migração para o SNC e infectam células neurais. Algumas células CD8⁺ citolíticas podem

reconhecer antígenos virais nas células do SNC infectadas pelo HTLV-1, causando uma desmielinização. Entretanto, não há como ter uma ação específica contra as células do SNC. A presença de INF- γ , na infecção pelo HTLV-1, seu reconhecimento pelas células T CD8⁺, e as citocinas secretadas pela microglia, como o TNF- α e IL-6, são tóxicas para a membrana de mielina (JEFFERY et al., 1999; DAENKE et al., 1996).

Resumidamente, a interação do HTLV-1 com as células hospedeiras, resulta em ativação celular, gerando um processo inflamatório crônico na medula espinhal que após vários anos, leva a lesão e destruição da membrana de mielina. Após o início da agressão da membrana, aparece o primeiro sintoma da desmielinização provocada pela TSP/HAM. Acredita-se que um dos mecanismos pelo qual o HTLV-1 desenvolve a mielopatia seja, a alta produção de citocinas e diversos fatores envolvidos, como β -quimiocinas e aumento da expressão de moléculas de adesão, decorrentes da ativação celular. Com a migração de células inflamatórias para o SNC, começa a liberação, em alta quantidade de INF- γ , atuando nas células responsáveis pela produção do TNF- α . Desta forma, o TNF- α pode ser altamente tóxico para as células infectadas pelo HTLV-1 e para a membrana de mielina, levando a sua destruição. Lee et al. (2002), sugeriram que o INF- γ regula a produção de IL-10, IL-12 e IL-18 nos pacientes com doenças infecciosas.

Com a análise da expressão de citocinas inflamatórias, verifica-se aumento da população celular Th1 nos indivíduos HTLV-1 assintomáticos e com TSP/HAM. Assim, as moléculas de sinalização celular envolvendo a produção de citocinas são importantes na infecção pelo HTLV-1 diferenciando as células T “naives” em células T auxiliares efectoras (NISHIURA et al., 2004).

Os mecanismos auto-imunes podem existir como ocorrência de uma auto-ativação das células T com os antígenos do SNC, ou pela infecção das células T, resultando na auto-reativação destas células no SNC, onde encontram seus antígenos, com conseqüente resposta imune específica e desmielinização. A existência de uma herança genética, como a presença de alguns haplótipos HLA, pode ter alguma implicação na suscetibilidade do hospedeiro (USUKU et al., 1988; GODOY et al., 1994; UCHIYAMA, 1997; MANNS et al., 1998; JEFFERY et al., 1999).

Apesar de existirem, até o presente momento, muitas informações relacionadas aos mecanismos fisiopatológicos envolvidos no desenvolvimento da HAM/TSP, os fatores envolvidos ainda permanecem obscuros. Outra possibilidade seria a desregulação do sistema imune causado pela presença do HTLV-1.

2.6 MARCADORES DE RISCO NA INFECÇÃO HTLV-1

Em muitas infecções virais, a carga viral pode indicar a taxa de replicação, infectividade e indicar a possibilidade de causar danos ao hospedeiro, nos diversos períodos da infecção. Isto tem sido demonstrado, com a carga plasmática do HIV-1, onde está correlacionada com a progressão para a Aids e a resposta ao tratamento retrovirais (MELLORS et al., 1997). Com base na importância da carga proviral em algumas viroses, estudos estão sendo realizados sobre a importância da carga proviral na infecção pelo HTLV-1 e sua progressão para HAM/TSP (MONTANHEIRO et al., 2005; NAGAI et al., 1998). Porém a maior dificuldade ocorre pelo longo período de incubação do vírus e pela baixa incidência do desenvolvimento da doença (< 5%) (KAPLAN et al., 1990). A ausência ou baixa formação de partículas virais no plasma torna-se difícil detectar a viremia plasmática. Deste modo, a carga proviral do HTLV-1 é detectada na célula mononuclear do sangue periférico (CMN). Normalmente, a carga proviral é baixa nos indivíduos assintomáticos do que nos pacientes com doenças relacionadas ao HTLV-1. Porém existem sobreposições de valores entre os grupos assintomáticos e sintomáticos. A carga proviral do HTLV-1 é importante (Figura 9), porém nosso grupo acredita que a linfoproliferação pode ser um marcador mais adequado, principalmente na diferenciação do diagnóstico diferencial da progressão da HAM/TSP.

3- LINHA DE PESQUISA : Vírus Linfotrópico das Células T Humanas (HTLV)

Após meu retorno dos EUA, em 1997, voltei a trabalhar no Instituto de Infectologia Emílio Ribas (IIER). Juntamente com Dr. Augusto P Oliveira, criamos um ambulatório para atendimento exclusivo para pessoas vivendo com HTLV. Esse serviço foi ampliado e no momento conta com diversos profissionais, alunos e voluntários. Essa coorte tem sido a base para diversos trabalhos e teses de pós-graduação nos últimos anos, que envolve uma equipe transdisciplinar, com atendimento no mesmo ambiente e horário.

Nós utilizamos teste imunoenzimático (IIER) na triagem para HTLV e WB (IIER) e PCR (IMTSP-USP) para confirmação dos casos. Até o momento, já identificamos mais de 503 pacientes com HTLV-1 e 130 com HTLV-2. Muitos destes indivíduos também estão infectados com outros patógenos, como HCV e HIV, por exemplo.

3-1- DESCRIÇÃO DOS ESTUDOS EM ORDEM CRONOLÓGICA, INICIADA EM 1990

Meu primeiro envolvimento na área de HTLV foi avaliar a prevalência desse retrovírus em algumas populações humanas sob risco. Assim, foi estudado em populações indígenas, pacientes oncológicos, indivíduos usuários de drogas intravenosas (UDIs) e infectados pelo HIV.

Até a publicação do artigo “Prevalence of human T cell leukemia virus-I (HTLV-I) antibody among populations living in the Amazon region of Brazil” por Nakauchi et al., em 1990, avaliando a prevalência do HTLV em algumas populações humanas sob risco, muito poucos estudos haviam sido conduzidos no Brasil sobre a prevalência desse retrovírus, quer envolvendo populações urbanas quer em populações isoladas (Tabela 1).

Neste primeiro estudo, quarenta (31,4%) das 137 amostras de soro obtidas de duas comunidades indígenas que vivem na região amazônica foram encontrados para ser positivos para HTLV-1. Oitenta e dois soros foram coletados de Mekranoiti índios, gerando 39% de positividade, enquanto 11 (20,0%) ou de 55 amostras de soro Tiriyo tinham anticorpos contra o HTLV-1. Resultados positivos ocorreram em 10 (23,2%) dos 43 soros de pacientes residentes na zona de Belém, que estavam sofrendo de câncer que afetam os diferentes órgãos. Cinco (16,7%) das 30 amostras positivas foram Elisa também mostrou-se positivo por qualquer análise de Western Blot (WB) ou microscopia eletrônica indireta (NAKAUCHI et al. 1990). Num

outro estudo, em população com câncer, 390 amostras de soros de pessoas com câncer de vários tipos foram testados pela técnica de aglutinação de partículas de gelatina, Elisa e WB. De 134 soros de pacientes com câncer de colo uterino, quatro foram positivas. Desses, três eram de pacientes não-transfundidos. O DNA foi extraído de duas amostras soropositivas e foram analisados por PCR-SSCP para seqüências do HTLV-1. Um deles foi positivo para todos os genes HTLV-1 testados, enquanto o outro foi positivo para LTR (KANSAKI et al. 1997). Desde modo, foi evidenciado a presença desses vírus (HTLV-1 e HTLV-2), de 17 a 20% (NAKAUCHI et al. 1990; KANSAKI et al. 1997), demonstrando ampla circulação no Norte do Brasil.

Andrada-Serpa havia encontrado apenas 0,84% de positividade para anticorpos anti-HTLV entre 119 membros de uma comunidade isolada na Amazônia, mas seu estudo envolveu uma comunidade de origem africana ao invés indígenas, enquanto entre 215 pacientes com câncer encontrou prevalência de 3, 72%. O estudo de Nakaiuchi et al., que encontrou soropositividade de 39% para HTLV-1 no soro de 82 índios Mekranot e 20% em 55 amostras de soro de índios Tiriyo no Pará deve, portanto, deve ser incluído entre os estudos pioneiros no Brasil descrevendo a presença de anticorpos para HTLV em tribos indígenas. Neste estudo, cinco (16,7%) das 30 amostras positivas pelo método Elisa também foram positivas por qualquer das análises confirmatórias, através de Western blot (WB) ou microscopia eletrônica indireta.

A primeira descrição da infecção por HTLV-1 no Brasil data de 1986, quando Kitagawa et al. relataram, em comunidades de imigrantes japoneses procedentes de Okinawa, em Campo Grande (MS), taxas de 13% de positividade nos indivíduos nascidos no Japão e de 8% nos descendentes destes que nasceram no Brasil. Em seguida, o acima mencionado estudo de Andrade-Serpa et al. abordando pacientes hematológicos e o de Lee et al. abordando doadores de sangue, ambos no Rio de Janeiro, assim como este de Nakaiuchi et al. também em pacientes oncológicos, em Belém do Pará, reafirmaram a presença e ampla circulação do vírus em populações urbanas brasileiras.

Entre 43 pacientes com neoplasia afetando diferentes órgãos, Nakaiuchi et al. encontraram 23,2% de amostras positivas para anticorpos para HTLV-1 e 16,7% de positividade para testes confirmatórios entre 30 amostras (incluindo pacientes com câncer e indígenas) assim testadas, (Tabela 2). Lee et al., por sua vez, haviam relatado a ocorrência do HTLV-1 em 0,45% de 1.218 doadores de sangue no Rio de Janeiro, enquanto Cortes et al. haviam encontrado 13% de infecção entre homens hemofílicos com HIV no Rio de Janeiro e em 3,6% de pacientes em risco elevado para adquirir retrovírus (HIV-1, HIV-2, HTLV-1).

À época destes estudos, o teste de triagem para HTLV-1/2 ainda não era obrigatório nos bancos de sangue no país, tornando os pacientes de áreas endêmicas que precisavam receber transfusão, particularmente pacientes oncológicos com necessidade de múltiplas hemotransfusões, um grupo particularmente vulnerável à exposição ao risco de contrair a infecção. Somente em 1993 a portaria N° 1387 do Ministério da Saúde tornou obrigatório o teste nos bancos de sangue, não tendo sido relatados casos adquiridos por transfusão nos últimos anos no Brasil. Até então, apenas mais três estudos haviam sido realizados no país avaliando a prevalência da infecção pelo HTLV-1/2: Spina-França et al. (1990) relatando 30,7% de prevalência em pacientes com desordens neurológicas, em São Paulo; Meireles et al. (1992) descrevendo 20,9% de prevalência em pacientes com mielopatia não traumática e não tumoral em Salvador e Maloney et al. referindo prevalência de 17,5% em índios de 13 tribos do Amazonas, Pará e Mato Grosso.

Aqueles estudos pioneiros, portanto, serviram de importante subsídio para ulteriores estudos e para o cenário que resultou na decisão política de implantação do teste na triagem nacional em bancos de sangue. Estudos sobre as prevalências do HTLV em doadores de sangue estudadas no Brasil de 1989 a 1996 documentaram ser a região Nordeste do País a mais prevalente para a infecção (CARNEIRO-PROIETTI; CATTALAN-SOARES, PROIETTI, 2002). Estudos mais recentes demonstraram as taxas de soroprevalência de doação de sangue no Brasil expressas em infectado/1.000 e identificaram as maiores taxas de detecção do anticorpo para o HTLV-1/2 no Maranhão, na Bahia e no Pará.

Em 1992, Nakauchi et al. publicaram os resultados finais do estudo com os indígenas utilizando os testes confirmatórios com positividade de 3,63% (02/55), 12,19% (10/82) e 13,88% (10/72) para HTLV-1 entre os índios Tiriyó, Mckranoit e Xicrin, respectivamente.

Estudos subsequentes demonstraram que, além da presença do HTLV-1, havia uma ampla distribuição do HTLV-2 entre tribos da região Amazônica do Brasil (Tabela 2).

Tabela 2 – Prevalência de anticorpos para HTLV em populações indígenas na região Amazônica do Brasil

Prevalence of antibodies to HTLV in Indian populations in the Amazon Region of Brazil				
Pop.	Grupo linguístico	N. testados	HTLV-1	HTLV-2
Galibí	Karíb	148	1	3 (2.0)
Wayampí	Tupí-Guaraní	71		1 (1.4)
Wayána-Apalaí	Karíb	50		1 (2.0)
Tiriyó	Karíb	26		4 (15.4)
Arára Laranjal	Karíb	44		5 (11.4)
Parakanã	Tupí	52		1 (1.92)
Mundurukú	Tupí	161		13 (8.1)
Yanomámi	Yanomámi	102	3	4 (3.9)
Cinta-Larga	Tupí	50		1 (2.0)
Karitiána	Arikém	50		2 (4.0)
Yamamadí	Arawá	36		2 (5.6)
Kararaô	Jê	23		6 (26.1)
Aukre	Jê	12	1	4 (33.3)
Kubenkokre	Jê	107		40 (37.4)
Pukany	Jê	30		6 (20.0)
Kikretum	Jê	17		7 (41.2)
Kokraimôro	Jê	18		4 (22.2)

A pesquisa de infecção pelo HTLV em populações indígenas permanece ainda como tema instigante, pois várias áreas do Nordeste, por exemplo, ainda apresentam algumas tribos

nunca investigadas para HTLV e extensas áreas urbanas também não têm ainda sua prevalência para infecção pelo HTLV esclarecida. No Brasil existem 345 mil índios que vivem em aldeias, distribuídos entre 215 sociedades indígenas, havendo uma estimativa de 100 a 190 mil vivem fora de terras indígenas, inclusive em áreas urbanas. Não há ainda dados sobre a influência do fator racial associado à transmissão do HTLV-2 em áreas urbanas onde o uso de drogas injetáveis não desempenha papel epidemiológico relevante e exista nas quais existiria a possibilidade de transmissão da retrovirose.

Sabe-se menos sobre a distribuição do HTLV-2 do que do HTLV-1. Mesmo para este último, ainda há vastas regiões do mundo que não foram investigadas, poucos estudos de base populacional realizados e os testes utilizados para a sorologia não apresentam a especificidade desejada (Gessain et al. 2012), com uma dificuldade ainda maior para a confirmação do diagnóstico ao se considerar a infecção pelo HTLV-2

A partir de 1986 passou-se a observar que a coinfecção HTLV-1/2 e HIV era detectada frequentemente entre usuários de drogas injetáveis. Subsequentemente, a disponibilidade de ensaios sorológicos que distinguiam com certa segurança HTLV-1 e HTLV-2 permitiu demonstrar, em estudos realizados em doadores de sangue dos Estados Unidos, que a maioria das infecções por HTLV em usuários de drogas eram causadas por infecções por HTLV-2, estando presente também de forma significativa entre usuários de drogas intravenosas de países da América do Sul, Europa e no Vietnã.

Vários estudos foram conduzidos destacando a importância da coinfecção HIV e HTLV-1 ou HTLV-2, resultante de modos de transmissão comuns a ambas, e comparando pacientes com Aids e aqueles apenas com infecção assintomática pelo HIV (Tabela), os quais motivaram a realização da investigação sobre a prevalência da infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2 entre indivíduos assintomáticos infectados pelo HIV em São Paulo (Casseb et al. 1997).

Desse modo, um total de 226 amostras de indivíduos assintomáticos com infecção pelo HIV foram testadas para anticorpos para HTLV-1/2, sendo que 39 (15%) eram usuários de drogas intravenosas, 169 (63%) eram homo/bissexuais masculinos e 58 referiam parceria heterossexual. O estudo detectou infecção pelo HTLV em 1,5% dos 226 portadores assintomáticos de infecção pelo HIV e 14% dos 28 casos de Aids analisados e, com base nos dados epidemiológicos, confirmou o uso de drogas injetáveis como sendo o principal fator de risco para adquirir a coinfecção HIV/HTLV.

Estes resultados ampliaram e confirmaram dados previamente relatados pelo mesmo grupo em relação à alta prevalência de coinfeção pelo HTLV em pacientes com HIV/AIDS e levaram os autores a sugerir o teste de triagem para HTLV na avaliação inicial de indivíduos com o diagnóstico de infecção pelo HIV.

O artigo publicado tornou-se uma referência em vários outros estudos sobre o tema, como a análise da tendência da epidemia de Aids no município de São Paulo de 1985 a 1987, focalizando principalmente os usuários de drogas infetáveis, considerando o grande impacto da epidemia nesse grupo populacional (Bastos et al. 2001).

Subsequentemente, Segurado et al. faz citação ao mesmo artigo, em suas considerações sobre a importância da endemicidade da infecção pelo HTLV na população brasileira, ao realizar estudo objetivando caracterizar subtipos genotípicos de isolados virais de indivíduos infectados pelo HTLV-1 em São Paulo (Segurado et al., 2002).

Jacob et al., por sua vez, justifica a realização de estudo sobre a performance de testes sorológicos no diagnóstico de infecção pelo HTLV em população de alto risco de São Paulo tendo como ponto de partida resultados de prévios estudos que evidenciaram dificuldades dos testes sorológicos, principalmente para diagnosticar a infecção em pacientes do Brasil com coinfeção HIV/AIDS, independentemente do algoritmo do teste utilizado, entre os quais se inclui o artigo de Casseb et al. (Casseb et al., 1997).

Morimoto et al. conduziu estudo sobre as dificuldades no diagnóstico da infecção por HTLV-2 em pacientes com HIV/AIDS do Brasil, através de análise comparativa de ensaios sorológicos e moleculares e detecção de subtipo HTLV-2b, considerando que estudos conduzidos no Brasil apontaram deficiências de kits diagnósticos disponíveis comercialmente em detectar o HTLV-2, principalmente em pacientes com HIV/AIDS (CASSEB Et al.;MARIMOTO et al., 2007).

Jacob et al (2008), também a partir de resultados de Casseb et al. (2007), testou soro de 2.312 pacientes para HTLV-1/2 provenientes de Centro de Referência em Aids (1.393) e ambulatório de HTLV (919), com o objetivo de confirmar e ampliar prévios achados relacionados ao diagnóstico de infecção pelo HTLV-1/2, considerando que a proporção de resultados diagnósticos indeterminados na população de alto risco em São Paulo tem sido problemática.

O conhecimento da prevalência de indivíduos na população brasileira infectados pelo HIV-1 que são coinfectados pelo HTLV-1 é também de grande importância para o

dimensionamento do problema, pois a coinfeção indica um risco aumentado para o desenvolvimento de HAM/TSP, e para destacando-se a repercussão dos resultados de novas pesquisas também sobre aspectos imunológicos envolvendo pacientes coinfectados, como o realizado por Olah et al. (2007), para o qual o prévio estudo (CASSEB et al. 2007) citado no artigo, contribuiu na avaliação da importância do tema; Olah et al. avaliaram a resposta linfoproliferativa in vitro a mitógenos diferentes e um antígeno candidina, observando diferenças nas respostas de indivíduos com HAM/TSP e nos coinfectados.

Os resultados de Casseb et al. (2007) contribuem para a discussão sobre diferenças encontradas em estudos pesquisando infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2 em populações não brasileiras, como entre 2.732 doadores de sangue de Arequipa-Peru (QUISPE et al. 2009), auxiliando a esclarecer alguns aspectos epidemiológicos e de formas de transmissão relacionados.

Diniz et al. (2009), estudando o impacto do HTLV-1 na qualidade de vida e parâmetro uroginecológico de mulheres com incontinência urinária, situa a importância de seu tema abordando inicialmente aspectos epidemiológicos da retrovirose, citando Casseb et al. (1997) para dados referentes ao Brasil.

Deste modo, o artigo passou a ser citado em estudos realizados envolvendo pacientes com a coinfeção pelo HTLV/HIV em áreas urbanas, como o de Oliveria et al. (2012) no Piauí, analisando a epidemiologia molecular e fatores de risco para transmissão do HTLV em pacientes infectados com HIV-1, ou dissertações de mestrado (SILVA 2006) abordando a epidemiologia molecular do HTLV-1/2 no estado do Amapá (SANTOS, 2004) abordando “Aids em revista(s): produção científica no Brasil, 1982-2002”.

Atualmente, a realização de pesquisa rotineira de infecção pelo HTLV em indivíduos com HIV passou a ser indicada no Consenso Brasileiro como parte das Recomendações para Tratamento Antirretroviral.

Um estudo considerado pioneiro foi realizado para verificar a prevalência de HTLV em 471 pacientes infectados pelo HIV-1, incluindo 216 usuários de drogas endovenosas (UDIs), 229 homossexuais/bissexuais masculinos, e 26 com outros fatores de risco. As amostras de soro foram selecionadas a partir da sororeatividade para HTLV por ELISA, e analisadas por WB. Em 22 casos, amostras de células estavam disponíveis para a reação em cadeia da polimerase (PCR), que confirmou os resultados obtidos resultados concordantes nos testes sorológicos discriminatórios. As taxas de prevalência da infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2 foi de 15,3% e

11,1% em UDIs, e 0,9% e 0,4% em homo/bissexuais masculinos, respectivamente (CATERINO-DE-ARAUJO et al. 1994; CASSEB J, Dissertação de Mestrado, 2005). Portanto, a co-infecção com HIV e HTLV foi de 26%-40% na década 90, 13% em indivíduos infectados pelo HIV (CATERINO-DE-ARAUJO et al. 1994; CASSEB et al. 1997).

Apesar desses resultados, foi percebido que os testes sorológicos ainda apresentavam resultados inconclusivos em população de risco. Assim, como precaução, todos os indivíduos em seguimento em nosso Serviço de HTLV no IIER são submetidos a PCR usando *primers* genéricos para confirmação e posteriormente esses produtos a enzimas de restrição para discriminação HTLV-1 do HTLV-2.

Um estudo realizado durante meu treinamento em Berkeley, Califórnia, permitiu estabelecer uma prevalência de HTLV entre UDI de 30%. Nesse mesmo estudo, observamos a dificuldade do diagnóstico sorológico quando pela presença de soros com resultados indeterminados no teste de ELISA e da necessidade do uso da imunofluorescência indireta, visto que os resultados seriam diferentes se somente o teste de ELISA fosse utilizado (CASSEB et al. 1997). Deste modo, ficou clara a necessidade do desenvolvimento de novos testes de triagem, principalmente para melhorar a sensibilidade dos testes de Elisa utilizados em nosso meio.

Bartholomew et al, 1987	Homens HIV positivos que faziam sexo com homens	40	Progressão para AIDS 2-3 mais rápida entre os coinfectados com HTLV-1
Hattori et al, 1989	Hemofílicos com AIDS ou infecção assintomática pelo HIV-1	49	Infecção frequente pelo HTLV-1 em pacientes com AIDS mas não entre os com infecção assintomática pelo HIV-1
Cortes et al., 1989	Vários subgrupos	704	Coinfecção HIV/HTLV variando de 1 a 11% no Rio de Janeiro
Zanetti et al, 1992	IDU com HIV	110	Coinfecção pelo HTLV-1 em 8,2% dos IDU com AIDS e 4% naqueles HIV assintomáticos
Caterino-de-Araujo et al, 1994	HIV positivos de São Paulo assintomáticos	226	Coinfecção pelo HTLV em 1,5% dos casos
Moreira Jr et al., 1993	Indivíduos com HIV em Salvador	88	Coinfecção pelo HTLV-1/2 em 22,7% dos pacientes com AIDS
Schechter et al.,1994	Pacientes com HIV no Rio de Janeiro	99	AIDS em 15% dos coinfectados comparados com 3% nos monoinfectados pelo HIV

Tabela 3- Principais estudos sobre coinfecção HIV/HTLV que haviam sido publicados

Vários estudos foram realizados nessa área e mais recentemente foi identificada uma região do envelope viral do HTLV-2 que poderá ser utilizada na elaboração de testes sorológicos mais sensíveis para (OLAH et al. 2010). Nesse estudo, embora o HTLV-2 é considerado de baixa patogenicidade, o diagnóstico sorológico é importante para o aconselhamento e acompanhamento. Os testes confirmatórios mais utilizados são WB e PCR, foi comentado anteriormente. No entanto, em populações de alto risco, cerca de 50% dos WB indeterminados foram HTLV-2 pela PCR. A baixa sensibilidade pode ser devida ao uso de proteínas recombinantes de variedades que não circulam em nosso país. Outra possibilidade pode ser um alto nível de imunossupressão, o que poderia levar à baixa produção de vírus, resultando em baixa estimulação de anticorpos. Nós encontramos uma mutação, prolina para serina na região envelope na posição 184, apresentaram pelo menos 1/3 das amostras, independente do perfil de WB indeterminado. Em conclusão, não encontramos correlação de estado imunológico, carga proviral, ou a diversidade do envelope do HTLV-2 na região K55 para justificar os resultados WB indeterminados (OLAH et al. 2010). Nós acreditamos que o kit WB disponível no mercado é provavelmente mais preciso para detectar anticorpos anti-HTLV-1, e alguma melhoria para a detecção dos anticorpos anti-HTLV-2 deve ser feito no futuro. Esse teste poderá ser útil para detecção de anticorpos anti-HTLV-2 especialmente em uma população de maior risco, como aquelas infectadas pelo HIV, HCV ou entre UDIs. Um auxílio Fapesp foi obtido para a padronização de um *kit* de Elisa para detecção de anticorpos anti-HTLV-2 usando peptídeos sintéticos em protocolo semelhante a padronização realizada na Tese de Doutorado (CASSEB et al. 1999).

Um ponto importante dentro dessa área de trabalho se refere à interação entre as infecções virais. Algumas cartas e artigos foram publicadas para estimular e procurar entender o papel da associação entre HTLV e infecções virais, como HIV e vírus da hepatite C (HCV). Uma hipótese seria que a HTLV-1 teria uma melhor capacidade adaptativa que o HIV-1, o que poderia explicar a mais baixa patogenicidade do primeiro, principalmente pelo seu maior tempo de presença entre no hospedeiro, regulação de genes que interferem no ciclo celular e a preservação da célula hospedeira (CASSEB J, 1998a, 1998b). Também foi observado que uma ativação recíproca entre o HTLV-1 e o HIV, o que poderia ocasionar o aparecimento de doenças associadas ao HTLV-1 em maior proporção nos co-infectados (CASSEB et al.1998c).

Outro aspecto da co-infecção, seria que associação do HTLV-1 com HCV, poderia modificar a história natural da doença hepática (CASSEB J, 2000; CARDOSO et al. 2009). Boschi-

Pinto et al. levantou essa possibilidade que o HTLV-1 poderia levar a uma evolução mais grave da doença no fígado pelo HCV em indivíduos infectados no Japão. Neste estudo, os portadores do HCV, que também foram infectados pelo HTLV-1 tinham um risco 2,4 vezes maior de doença hepática, em comparação com indivíduos infectados pelo HCV sem HTLV-1. A explicação dos autores para estes resultados foi que o HTLV-1 pode interferir com a capacidade dos linfócitos T citotóxicos para responder aos hepatócitos infectados pelo HCV. Nesse contexto, uma carta foi encaminhada ao Editor da Journal of Infectious Diseases (JID) para propor um ponto de vista.

Ao contrário dos efeitos imunossupressores do HIV-1, HTLV-1 possui uma capacidade única e inata (ou adquirida) para preservar a imunidade celular, como a interleucina (IL) -2 e indução de IL-2 receptor. Além disso, HTLV-1 tem uma maior capacidade de induzir a proliferação de células T e para a produção de interferon (IFN)-gama, que atua como um fator importante antiviral. Portanto, enquanto o mecanismo de doença hepática em indivíduos HIV-1+ que são co-infectados com HCV pode estar relacionado à ausência de uma resposta imune celular eficaz, HTLV-1 leva a uma resposta imune mais exuberante, com alta produção de citocinas durante a co-infecção pelo HCV. Do mesmo modo, os antígenos HCV também induzir maior quantidade de citocinas pró-inflamatórias da IL-2 e IFN-gama *in vitro*. Portanto, é possível que o maior risco para a doença hepática em indivíduos co-infectados com HCV e HTLV-1 não pode ser devido a um mecanismo de imunossupressão, como Boschi-Pinto et al. sugeriram, mas sim a maior produção por via autócrina ou parácrina de algumas citocinas pró-inflamatórias, como IL-2, IFN-gama e IL-15. Além disso, foi demonstrado que as células T infectadas pelo HTLV-1 causam maior produção de IL-6, que é idêntico ao fator de crescimento hepatócito inibitório (HGI). Estes resultados indicam que os níveis de IL-6 são maiores no soro de pacientes adultos com leucemia de células T. Na verdade, esses fatores podem dificultar a regeneração hepática em indivíduos infectados pelo HTLV-1, determinando um maior dano hepático (CASSEB J, 2001).

Por este motivo, realizamos um estudo retrospectivo em nossa coorte que buscou avaliar a influência da infecção pelo HTLV-1 em parâmetros laboratoriais de pacientes com infecção crônica pelo HCV. Foram selecionados pacientes com infecção crônica pelo HCV e atendidos no Ambulatório de Hepatologia, do IIER, entre julho e novembro de 2007. Os pacientes co-infectados com o HTLV-1 foram selecionados a partir de um banco de dados composto por pacientes provenientes do Ambulatório de HTLV, também do IIER. Foram excluídos pacientes que já haviam sido tratados para hepatite C, ou que apresentavam infecção por HBV ou HIV. Doze pacientes co-infectados com o HTLV-1 foram comparados a

vinde e três pacientes somente com infecção crônica pelo HCV, no que diz respeito a dados demográficos, epidemiológicos, histológicos e testes bioquímicos de função hepática. Não houve diferença significativa em relação à idade, sexo, consumo de álcool, tabagismo, tempo de diagnóstico de hepatite C e genótipo do HCV. O uso de drogas endovenosas foi o fator de risco mais comum entre os indivíduos co-infectados com o HTLV-1, sugerindo que possivelmente tal prática possa estar relacionada com a co-infecção com o HCV. Os indivíduos co-infectados com o HTLV-1 apresentaram contagem de linfócitos T CD8⁺ mais elevada do que os pacientes infectados somente pelo HCV, e valores medianos significativamente mais baixos de AST e ALT ($p=0,0437$ e $0,0159$, respectivamente). Além disso, uma porcentagem significativamente menor de pacientes co-infectados com o HTLV-1 possuía valores de enzimas hepáticas AST, ALT e GGT dentro da normalidade ($p= 0,005$, $0,008$ e $0,04$, respectivamente). Apesar de não haver uma diferença estatisticamente significativa, observou-se também uma ocorrência menor de cirrose hepática entre os indivíduos co-infectados com o HTLV-1. Esses achados sugerem que a infecção pelo HTLV-1 diminuiria a lesão hepática imunomediada, podendo influenciar na história natural da infecção crônica pelo HCV (CARDOSO et al. 2009). Entretanto, um número maior e outros fatores deve ser analisado para determinar o papel da co-infecção HCV/HTLV-1 na doença hepática.

Vários estudos para avaliar quais fatores poderiam estar implicados na patogênese da infecção pelo HTLV-1 e o desenvolvimento da HAM/TSP tem sido realizados pelo nosso grupo. Uma possibilidade que foi excluída seria que a presença de um subtipo de Tax (CASSEB et al. 2001). De fato, o HTLV-1 tem um efeito transativação da expressão do gene viral e celular. As variações genéticas no gene *Tax* têm sido correlacionadas com as diferenças nos resultados clínicos. Com base na sua diversidade, duas sub-cepas intimamente relacionadas, chamada A e B têm sido descritas. A sub-cepas A foi encontrado com maior frequência entre pacientes com HAM/TSP do que entre assintomáticos saudáveis infectados pelo HTLV-1 no Japão. Neste estudo, nós determinamos a distribuição de sub-cepas do gene *Tax* em indivíduos HTLV-1+ de nossa coorte. Usando enzima de restrição site ACCII, foi detectado apenas uma subtipo de *Tax* entre 48 pacientes com HAM/TSP e 28 também entre saudáveis com HTLV-1. Os genes sequenciados da região *tax* de nove pacientes HAM/TSP e cinco assintomáticos portadores de HTLV-1 apresentaram um padrão similar de mutação, o que caracteriza *Tax* A. Nossos resultados indicaram que os subtipos de *Tax* do HTLV-1 não têm influência significativa sobre a progressão da doença HAM/TSP. Além disso, a introdução, monofilético de HTLV-1 no Brasil, provavelmente ocorreu durante o comércio de escravos Africano há muitos anos (CASSEB et al. 2001).

A HAM/TSP é considerada uma doença imune mediada, envolvendo células T citotóxicas (CTL) em respostas a uma série de proteínas virais e, nomeadamente, a regulação de proteínas Tax. T CD8⁺ produzem beta-quimiocinas, que são importantes na resposta anti-viral. Assim, analisamos as quimiocinas CC (RANTES, MIP-1 β e MIP-1 α) de produção em indivíduos infectados pelo retrovírus. Um total de 191 indivíduos foi estudado, subdivididos em 52 controles sadios, 72 portadores assintomáticos de HTLV-1 e 67 pacientes com HAM/TSP. Células mononucleares do sangue periférico (CMN) foram mantidas na presença ou ausência de PHA, e sobrenadantes foram analisadas utilizando EIA. A concentração de MIP-1 β não foi significativamente diferente entre os grupos, mas RANTES e MIP-1 α concentrações apresentaram diferenças significativas quando os três grupos foram comparados. Em pacientes portadores de HAM/TSP, o aumento da produção de quimiocinas pode levar a um recrutamento de fatores pró-inflamatórios, contribuindo para o dano da membrana de mielina (MONTANHEIRO et al. 2007). Num outro estudo, avaliando a mesma população infectada pelo HTLV-1, algumas citocinas que poderiam estar envolvidas na patogênese deste transtorno foram quantificadas. Foi determinada a produção de IL-2, IL-4, IL-10, IL-12 p70, IFN-gama e TNF-alfa entre os indivíduos HTLV-1+. CMN obtidas de indivíduos sadios (n=32), HTLV-1 assintomáticos portadores (n = 68) e pacientes com HAM/TSP (n = 44) foram cultivados na ausência e na presença de fitohemaglutina (PHA), e os sobrenadantes foram medidos para a produção de citocinas. Nível de IL-2 foi maior nos portadores assintomáticos, e IFN-gama foi aumentada em dois grupos de pacientes (HTLV-1 assintomáticos e portadores de forma mais significativa entre HAM/TSP pacientes). IL-4, IL-10, TNF-alfa e IL-12 p70 níveis não aumentaram significativamente nos dois grupos de pacientes. A principal conclusão deste estudo é que o IFN-gama foi uma citocina importante para a patogênese da HAM/TSP. Portanto, a modulação imunológica de IFN-gama pode ser crucial para o tratamento de pacientes com HAM/TSP (MONTANHEIRO et al. 2009). Desde modo, notamos que indivíduos com HAM/TSP apresentavam maior capacidade de produção de citocinas, principalmente IFN-gama e também quimiocinas pelas células mononucleares (MONTANHEIRO et al. 2009; MONTANHEIRO et al. 2007).

Na busca de marcadores de valor prognóstico para o desenvolvimento da HAM/TSP, a carga viral do HTLV-1 tem sido descrito como uma possibilidade. Assim, para avaliar a carga de DNA proviral entre os portadores assintomáticos com HTLV-1 e pacientes com HAM/TSP, um tempo real usando PCR sondas TaqMan para o gene *pol* foi realizada em dois milhões de CMN. O gene da albumina foi o controle interno do genoma e células MT2 foram utilizadas como controle positivo. Os resultados são relatados como cópias/10, 000 CMN, e o limite de

detecção foi de 10 cópias de HTLV-1. Um total de 89 pacientes (44 HAM/TSP e 45 saudáveis portadores do HTLV-1) acompanhados no Instituto de Infectologia "Emilio Ribas" e na Divisão de Clínica Neurológica do Hospital das Clínicas foram estudados. Os portadores assintomáticos com HTLV-1 tinham um número médio de 271 cópias (variando de 5-4756), enquanto os casos de HAM/TSP apresentou uma mediana de 679 cópias (5-5360 cópias) em 10.000 CMN. Assim, os pacientes HAM/TSP apresentaram um número significativamente maior carga de DNA proviral de HTLV-1 que os portadores são. Conforme observado em outras infecções persistentes, quantificação da carga proviral de DNA pode ser uma ferramenta importante para monitoramento de indivíduos infectados pelo HTLV-1. No entanto, somente um longo prazo de acompanhamento será necessário para validar este teste na prática clínica. Portanto, esses pacientes apresentavam maior quantidade de carga proviral nas células CMN que indivíduos assintomáticos para HTLV-1 (MONTANHEIRO et al. 2005). Esse foi o primeiro artigo nacional descrevendo a padronização da utilização de PCR em tempo real para quantificação da carga proviral do HTLV-1 e vem sendo utilizada para seguimento longitudinal dos pacientes do ambulatório. Mais recentemente, que entre 150 pacientes foram testados por PCR em tempo real, onde cinco (4%) dos portadores assintomáticos e 7 (26%) daqueles com HAM/TSP apresentaram carga viral plasmática detectável. Portanto, 12 indivíduos (8%) apresentaram positividade para o RNA viral, indicando que este pode ser um estágio de replicação do vírus, especialmente nos casos de HAM/TSP. Nas 40 amostras submetidas ao PCR qualitativa, sete foram excluídas da análise. Das 33 restantes, seis (18%) apresentaram positividade no plasma. Em conclusão, foi possível identificar vírions livres de HTLV-1 no plasma, tanto em pessoas assintomáticas quanto em HAM/TSP. A detecção de partículas virais do HTLV-1 no plasma abre novas possibilidades de discussão sobre as estratégias de replicação do vírus e das vias de transmissão, sugerindo maiores investigações para elucidar o assunto (CABRAL et al., 2011).

Outro ponto desta linha de pesquisa foi à possibilidade da co-infecção HTLV/HIV-1 nos pacientes em acompanhamento na coorte do Ambulatório de HTLV do IIER e na coorte de HIV no Ambulatório de Imunodeficiências Secundárias do HCFMUSP (ADEE3002, CASSEB et al. 1997a). Indivíduos infectados pelo HIV-1 geralmente apresentam infecções por múltiplos patógenos, dentre eles, HTLV-1 e HTLV-2. Estes foram descritos com frequência variável em pacientes com aids e nos portadores assintomáticos do HIV-1, tanto na Europa como no Japão. Este trabalho foi conduzido com o objetivo de determinar a prevalência de infecção HTLV-1 e 2 em portadores assintomáticos do HIV-1 em nossa coorte no HCFMUSP. Foi detectada infecção HTLV em 1,5 por cento dos 266 portadores assintomáticos do HIV-1 e 14 por cento dos 28 casos de aids analisados. Com base em dados epidemiológicos foi confirmado como sendo o

principal fator de risco para adquirir a coinfeção HIV/HTLV, o uso de injetáveis (CASSEB et al. 1997a).

Esses indivíduos co-infectados podem estar em risco aumentado para o desenvolvimento de HAM/TSP. Desde julho de 1997, nosso grupo tem seguido uma coorte para estudar a interação do HTLV com HIV e / ou HCV, bem como HTLV-1 assintomáticos ou aqueles que já apresentavam HAM/TSP. Entre 1997 a 2006, 296 indivíduos HTLV-1 foram identificados a partir de um total de 538 pacientes que foram encaminhados à nossa clínica no Instituto de Infectologia "Emílio Ribas". Todos os indivíduos foram avaliados por dois neurologistas, cegos para o status de HTLV. Um total de 38 HIV-1/HTLV-1 co-infectados foram identificados neste grupo: Vinte e seis já haviam sido diagnosticados com aids e 12 permaneceram assintomáticos. Seis dos 38 indivíduos co-infectados (18%) foram diagnosticados como tendo HAM/TSP e também tinham aids e para 5 deles, a HAM/TSP foi a primeira doença a se manifestar. Um caso adicional incidente foi diagnosticado depois de dois anos de seguimento, porém sem modificações na carga viral de HIV-1. Em contraste, os co-infectados com o grupo com quadro similar a HAM/TSP apresentaram maior proviral carga de HTLV-1 (505 +/- 380 vs 97 +/-149 cópias/10000 de CMN, $P=0,012$) do que assintomáticos co-indivíduos infectados, respectivamente. A incidência de mielopatia HIV-1/HTLV-1 entre indivíduos co-infectados é provavelmente maior do que entre os pacientes infectados somente com HTLV-1, e relacionada com uma maior carga proviral do HTLV-1. Assim, concluímos que a triagem sorológica para HTLV-1/2 deve ser feita para todos os pacientes infectados pelo HIV-1 que vivem em áreas onde a infecção pelo HTLV-1 é endêmica (CASSEB et al. 2008).

Alguns estudos anteriores mostraram que havia possibilidade da co-infecção HTLV-1 elevar a contagem de células T CD4⁺ no sangue periférico. A possibilidade que a co-infecção pelo HTLV-1 em indivíduos infectados pelo HIV-1 poderia falsamente elevar o número de linfócitos T CD4⁺ no momento do evento definidor de aids, inferindo que essa contagem poderia ser um marcador laboratorial incompleto nos pacientes com a co-infectados. Assim, resolvemos estudar a possibilidade da co-infecção elevar a contagem dos linfócitos T CD4⁺ sem que haja proteção imunológica. 150 pacientes infectados pelo HTLV-1, encaminhados à nossa clínica de HTLV foram estudados. Vinte e sete deles estavam co-infectados pelo HIV-1 e HTLV-1, usando dois ELISAs e confirmados e tipados pelo WB ou PCR. A primeira contagem de células T disponível antes da terapia anti-retroviral foi mostrada para comparar com os pacientes infectados pelo HIV no momento do evento definidor de aids de acordo com Classificação do Centro de controle de Doenças, 1988.

Um total de 27 HIV-1/HTLV-1 co-infectados foram identificados na coorte, 15 já apresentavam aids e 12 permaneceram sem evento de aids. A mediana de células T CD4 foi de 189 (98-688) células/mm³ e 89 (53-196) células/mm³ nos co-infectados que tinham evento definidor de Aids e naqueles com a infecção somente pelo HIV, respectivamente ($p = 0,036$). Oito dos 27 co-infectados (30%) foram diagnosticados tendo HAM/TSP símile, e três deles mostraram elevada contagem de células T CD4 e apresentaram infecções oportunistas no momento do evento definidor de aids. Nossos resultados indicam que a contagem de células T CD4⁺ entre os indivíduos com HIV-1/HTLV-1 foi somente discrepante em 12% desses pacientes e podem ser relacionados à progressão da infecção HTLV-1, e todos mostraram um quadro de HAM/TSP símile como a primeira manifestação de doença. Entretanto, essa taxa de ataque foi 20 vezes mais alta que a observada em pacientes somente infectados pelo HTLV-1 em área endêmica (CASSEB et al. 2007). Desde modo, nossos dados indicaram que esse fenômeno existe, porém somente em 30% dos pacientes com HTLV-1/HIV-1, principalmente naqueles que desenvolveram doença relacionada ao HTLV-1, (HAM/TSP símile) (CASSEB et al. 2007).

Outro estudo avaliou a resposta linfoproliferativa (LP) *in vitro* em resposta a mitógenos diferentes e um antígeno candidina (CMA) em pacientes co-infectados HIV-1/HTLV-1, para identificar se esta co-infecção pode modificar a resposta espontânea linfoproliferativa. CMN de 72 controles saudáveis e soronegativos, 75 portadores assintomáticos de HTLV-1, 42 casos de HAM/TSP, 33 indivíduos exclusivamente infectados pelo HIV-1, e 24 pacientes HIV-1/HTLV-1 foram estudados para a presença e ausência de mitógenos (PHA, OKT3 e PWM) e CMA. O grupo HAM/TSP teve a maior taxa de multiplicação de 3 e 6 dias após a cultura. Os casos de HAM/TSP apresentaram diminuição da resposta a PHA, em relação ao HTLV-1 assintomáticos, e principalmente, os casos co-infectados com HIV-1/HTLV-1 apresentaram uma resposta semelhante em indivíduos HTLV-1+ após três dias de cultura. O grupo infectado pelo HIV-1 tinha diminuído em resposta *in vitro*. Nesse particular foi observado que a resposta linfoproliferativa *in vitro* foi diminuída pela ação do HIV-1 que pela ação linfoproliferativa do HTLV-1 (OLAH et al. 2007).

Também avaliamos se a infecção pelo HTLV-2 poderia também apresentar quadro de HAM/TSP. Usando um algoritmo de análise que emprega ELISA, WB e PCR, verificou-se que 201 (53%) foram positivos para HTLV-1 e 50 (13%) estavam infectadas com o HTLV-2. Trinta e sete (74%) dos reatores HTLV-2 foram co-infectados com HIV-1. Dos 13 (26%) indivíduos unicamente com HTLV-2, infecção do trato urinário foi diagnosticada em três (23%), um caso de vasculite cutânea (8%) e dois casos de dor lombar e disfunção erétil (15%), mas nenhum caso de mielopatia foi observado. Dos 37 co-infectados com HIV-1, quatro casos (10%)

apresentaram com HAM/TSP símile. Dois casos mostraram paraparesia como sintoma inicial, dois casos se apresentaram primeiramente com distúrbios vesical e erétil, neuropatias periféricas foram observadas em cinco pacientes (13%) e sete (19%) pacientes apresentavam algum sinal ou sintoma neurológico, a maioria deles com dor lombar (cinco casos). Os resultados obtidos sugerem que as manifestações neurológicas podem ser mais freqüentes em indivíduos HTLV-2/HIV-1 do que aqueles infectados pelo HTLV-2 apenas (POSADA-VERGARA et al. 2006).

A HAM/TSP é uma doença progressiva e incapacitante, como existem poucas opções terapêuticas, foi realizado um estudo retrospectivo com o uso de corticosteróides nos pacientes em seguimento no Ambulatório de HTLV do IIER. A utilização de corticóides para tratar HAM/TSP, tem resultados controversos. Nós relatamos o uso de corticosteróides para o tratamento de HAM/TSP em uma coorte aberta. A eficácia clínica de longo prazo dose de alta da corticoterapia foi avaliada em trinta e nove pacientes HAM/TSP. Deficiência e disfunção motora foram avaliadas com base na *Disability Status Scale* (DSS), Escala Motora de Osame (OMDS), e a Escala de Incapacidade (ISS), antes e após o tratamento. O tratamento incluiu o uso intravenoso de metilprednisolona, 1 g / dia por três dias, a cada 3-4 meses. O ponto final primário foi à mudança nos escores das escalas neurológicas da linha de base até a quinta visita após a terapia. Após um seguimento médio de 2,2 anos e uma média de quatro pulsos por paciente, observou-se uma significativa melhora neurológica, atingindo 24,5% de acordo com o escore de ISS. Observou-se melhora neurológica com o uso de corticosteróides, com fisioterapia e antispásticos como tratamento adjuvante. No entanto, outros ensaios clínicos randomizados devem ser feito para avaliar o uso de corticosteróides e outras terapias potencialmente úteis imune-baseadas para tratamento HAM/TSP. Assim, o desempenho dos pacientes em diversas escalas neurológicas e foi notada pelo uso intermitente de três dias de solumedrol endovenoso uma melhora de 25% nesses parâmetros (CRODA et al. 2008).

Croda et

Apesar dos 24 anos que se passou desde o primeiro caso HAM/TSP descrito na Martinica, poucos tratamentos com sucesso estão disponíveis para tratar os pacientes com HAM/TSP. A maioria dos tratamentos tem sido dirigida a reduzir a inflamação nos tecidos afetados. Mesmo os corticosteróides que são a terapia mais utilizada para HAM/TSP, poucos ensaios clínicos com essa medicação têm sido publicados. Em nossa experiência, apenas 25% dos pacientes apresentaram melhora neurológica com o uso de corticosteróides, com fisioterapia e medicamentos anti-espásticos como tratamento adjuvante (CRODA et al. 2008). Assim, ensaios clínicos randomizados multicêntricos para avaliar o uso de corticosteróides e outras terapias potencialmente úteis imune-baseada para tratamento anti-HAM/TSP são urgentemente necessárias. Finalmente, o reconhecimento de HAM/TSP como uma doença negligenciada daria mais atenção a essa condição, talvez aumentando o número de investigadores nesta área, o que poderia levar ao desenvolvimento de melhores opções de tratamento para os pacientes e também evitar a confusão entre HTLV-1 e HIV-1 (mesmo a nível profissional), sem acrescentar o estigma sobre essas pessoas. Nesse contexto, tanto o HTLV-1 quanto a entidade clínica HAM/TSP podem ser considerados negligenciados (CASSEB et al. 2009).

Uma observação importante foi realizada na análise retrospectiva da evolução dos casos de HAM/TSP em nosso serviço. Apesar de ser uma doença caracteriza-se por crônica, lentamente progressiva, paraparesia espástica com alterações da bexiga, ausente ou perda sensorial leve nos membros inferiores e dor lombar, na ausência de compressão da medula espinhal, bem como por soropositividade para anticorpos anti-HTLV-1. Nos últimos anos, nosso grupo pesquisa observou 360 pacientes infectados pelo HTLV-1, 61 dos quais receberam um diagnóstico de HAM/TSP. Durante o período de acompanhamento, dois pacientes adicionais (entre 299 saudáveis portadores assintomáticos), desenvolveram HAM/TSP. Ambos os pacientes tinham 30 anos de idade, e seus pais também receberam diagnóstico de HAM/TSP. Globalmente, a média idade de desenvolvimento de HAM/TSP foi de 47 anos, e a idade média de início dos sintomas foi de 40 anos. Nenhum dos assintomáticos portadores com idade inferior a 50 anos desenvolveu sintomas durante o período de seguimento. Apesar de três homens receberam o diagnóstico quando tinham 60 anos de idade, os sintomas iniciais principalmente ocorreram em indivíduos idade de 40 anos. Em contraste com a leucemia de células T, a incidência da HAM/TSP diminui com idade. Assim, a progressão de HAM/TSP é semelhante ao de esclerose múltipla, por ambas as condições, poucos casos foram relatados em pessoas com idade acima dos 60 anos. A possível explicação para isso a HAM/TSP pode ser uma doença imunomediada, e hiperatividade das células CD8 em pacientes mais idosos diminuiria o risco de desenvolvimento da doença. Esta observação pode ter implicações para o aconselhamento e práticas médicas em áreas onde a infecção pelo HTLV-1 é endêmica.

A presença de uma dermatologista na equipe tem permitido avaliar 176 pacientes infectados pelo HTLV-1 por 30 meses. Após realização do exame dermatológico, três foram diagnosticados como dermatite infectiva associada ao HTLV-1 do adulto (DIH) e um elevado número de afecções dermatológicas possivelmente associadas ao HTLV-1 (OKAJIMA et al. 2013).

DOENÇAS DERMATOLÓGICAS EM INFECTADOS PELO HTLV-1

Achados dermatológicos	HAM/TSP	Controles negativos HTLV-1	Portadores assintomáticos HTLV-1	Controles negativos HTLV-1	HAM/TSP	Portadores assintomáticos HTLV-1
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
	n=60 (Lenzi et al 2003)	n=38 (Lenzi et al 2003)	n=128 (Gonçalves et al 2003)	n=108 (Gonçalves et al 2003)	n=73 (Okajima et al)	n=120 (Okajima et al)
Xerose	49 (81.6)	14 (36.8)	1 (0.8)	0	26 (35.6)	51 (42.5)
Ictiose adquirida	0	0	9 (7.0)	0	18 (24.6)	0
Dermatofitose	21 (35.0)	11 (29.0)	44 (34.4)	16 (14.8)	29 (39.7)	26 (21.6)
Dermatite seborreica	20 (33.3)	13 (34.2)	8 (6.3)	2 (1.9)	35 (47.9)	18 (15.0)
Dermatite infectiva	0	0	0	0	3 (4.1)	0
Candidíase	9 (15.0)	1 (2.6)	0	0	0	0
Eritema palmar	9 (15.0)	0	0	0	0	0
Eczema crônico	8 (13.3)	4 (10.5)	0	0	0	0
Farmacodermia	4 (6.7)	0	0	0	0	0
Outras DD	25 (42.0)	12 (31.6)	17 (13.3)	4 (3.8)	17 (23.2)	28 (23.2)
Exame normal	9 (15)	5 (13.2)	65 (50.7)	95 (87.9)	9 (12.3)	37 (30.8)

4- Perspectivas

A presença de uma equipe multidisciplinar e a colaboração com outros campos do saber tem permitido uma diversidade de novos estudos que ampliam a área de atuação na formação de pessoal e produção do conhecimento extra-biomédico. Um estudo realizado pelo grupo de Odontologia da USP identificou que pessoas com HTLV-1 apresentam maior possibilidade de afecções odontológicas (MARTINS et al. 2010), assim como menor fluxo salivar nos indivíduos infectados pelo HTLV-1 (ASSIS & ORTEGA, 2013). Também foi observada nessa coorte uma menor qualidade de vida, assim como o nível de depressão parece mais frequente (GASCÓN MRP, Dissertação de Mestrado, 2010). Questões reprodutivas entre mulheres vivendo com HTLV-1 foram levantadas e detalhadas numa Tese de Doutorado na Faculdade de Saúde Pública da USP como indivíduos da nossa coorte (ZIHLMANN et al., 2012).

Novos estudos com o uso do ácido valpróico para tratamento de pacientes com HAM/TSP e o desenvolvimento de um teste sorológico para o HTLV-2 estão em andamento. Porém, novos desafios continuam, como a criação de uma Associação dos Portadores do HTLV-1; descoberta de novos marcadores de evolução de doença e uma melhor divulgação do conhecimento sobre o HTLV entre outros profissionais da saúde e estudantes de medicina.

5- Conclusões

- 1- O HTLV-1 apresenta baixa morbidade, mas os casos que apresentam sintomas são altamente incapacitantes e às vezes fatais (ATL e sepsis);
- 2- Apesar do grande avanço no diagnóstico de várias infecções por vírus persistente, como HCV e HIV, a infecção pelo HTLV-2 ainda persiste como um desafio para o diagnóstico;
- 3- A doença incapacitante ocasionada pelo HTLV-1, conhecida como HAM/TSP, ainda não apresenta um tratamento adequado e eficaz. Os corticosteroides podem ser uma opção para os pacientes com o no início dos sintomas;
- 4- Apesar do grande avanço na área de epidemiologia e adoção de sorologia anti-HTLV-1/2 em banco de sangue no Brasil em 2003, novos desafios ainda se impõem com a triagem durante o período pré-natal.

5- Artigos resultantes desta Linha de Pesquisa

- Okajima R, Casseb J, Sanches JA. Co-presentation of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis and adult-onset infective dermatitis associated with HTLV-1 infection. *Int J Dermatol*. 2013; 52(1):63-8. doi: 10.1111/j.1365-4632.2012.05606.x.
- Micheli Mainardi Pillat MM, Bauer MB, Oliveira ACP, Ulrich H, Casseb J. HTLV-1-associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis (HAM/TSP): still an obscure disease. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry*, Jan 31, (4): 2012.
- Zihlmann KF, de Alvarenga AT, Casseb J. Living invisible: HTLV-1-infected persons and the lack of care in public health. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012 Jun;6(6):e1705. Epub 2012 Jun 12.
- von Glehn F, Jarius S, Penalva de Oliveira AC, Brandão CO, Farias AS, Damasceno A, Casseb J, Moraes AS, Longhini AL, Wandinger KP, Damasceno BP, Wildemann B, Santos LM. Aquaporin-4 antibodies are not related to HTLV-1-associated myelopathy. *PLoS One*. 2012;7(7):e39372. Epub 2012 Jul 10.
- Martins FM, Casseb J, Penalva-de-Oliveira AC, de Paiva MF, Watanuki F, Ortega KL. Oral manifestations of human T-cell lymphotropic virus infection in adult patients from Brazil. *Oral Dis*. 16:167-71, 2010.

- Olah I, Fukumori LMI, Smid J, Penalva-De-Oliveira AC, Duarte AJS, Casseb J. Neither molecular diversity of the envelope, immunosuppression status, nor proviral load causes indeterminate HTLV Western-blot profiles in samples from human T-cell lymphotropic virus type 2 (HTLV-2)-infected individuals. *Journal of Medical Virology*. 9999:1 - 6, 2010.
- Casseb J. Is human T-cell lymphotropic type 1 (HTLV-1)-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis (HAM/TSP) Syndrome a neglected disease? *Tropical Neglected Diseases* 3(11):e487, 2009.
- Cardoso, D, De Sousa FV, Fonseca LA, Duarte AJS, Casseb J. Influence of Human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) infection on laboratorial parameters of patients with chronic hepatitis C virus. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 51:1- 5, 2009.
- Moragno L, Casseb J, Fukumori LMI, Duarte AJS, Sotto M, Festa-Neto C, Sanches JA. HTLV-1 infective dermatitis emerging in adulthood. *International Journal of Dermatology*. 48:723-730, 2009.
- Montanheiro P, Fukumori LMI, Olah I, Penalva-De-Oliveira AC, Smid J, Duarte AJS, Casseb J. The elevated interferon gamma production is an important immunological marker in the HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) pathogenesis. *Scandinavian Journal of Immunology*. 70:403-407, 2009.
- Montanheiro P, Olah I, Fukumori LMI, Smid J, Oliveira ACP, Kanzaki LIB, Marcondes LAF, Duarte AJS, Casseb J. Low DNA HTLV-2 proviral load among women in São Paulo City. *Virus Research*, 135:22-5, 2008.
- Croda MG, Oliveira ACP, Vergara MPP, Bonasser F, Smid J, Duarte AJS, Casseb J. Corticosteroid therapy in TSP/HAM patients: the results from a 10 years open cohort. *Journal Neurological Sciences*, 269:133-7, 2008.
- Casseb J, de Oliveira AC, Vergara MP, Montanheiro P, Bonasser F, Meilman Ferreira C, Smid J, Duarte AJ. Presence of tropical spastic paraparesis/human T-cell lymphotropic virus type 1-associated myelopathy (TSP/HAM)-like among HIV-1-infected patients. *Journal Medical Virology*. 80:392-8, 2008.
- Casseb J, Posada-Vergara MP, Montanheiro P, Duarte AJS, Oliveira ACP. T CD4+ cells count among patients co-infected with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and Human T-cell Leukemia Virus Type 1 (HTLV-I): high prevalence of tropical spastic paraparesis/HTLV-I-associated myelopathy (TSP/HAM). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 49:231-3, 2007.

- Kanzaki LIB, Casseb J. Unusual finding of HTLV-I Infection among Amazonian Amerindians. *Archives of Medical Research*; 38:897-900, 2007.
- Montanheiro P, Vergara MP, Smid J, da Silva Duarte AJ, de Oliveira AC, Casseb J. High production of RANTES and MIP-1 α in the tropical spastic paraparesis/HTLV-1-associated myelopathy (TSP/HAM). *J Neuroimmunol*. 2007, 188:138-42, 2007.
- Castro-Costa CM, Araújo AQC, Menna-Barreto M, Pnelava-de-Oliveira AC, e demais Membros da equipe Técnica do porgram Nacional de DST e Aids do mIstério da Saúde. Guia de Manejo Clínico do paciente com HTLV. Aspecto Nuerológicos. *Arq Neuropsiquiatr*. 63: 548-551, 2005.
- Casseb J, Penalva-de-Oliveira AC. The pathogenesis of tropical spastic paraparesis/Human T-cell leukemia type 1-associated myelopathy. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 33(12): 1395-1401, 2000.
- Casseb J, Salomão S, Hong MA, Caterino-de-Araujo A, Duarte AJS. Prevalence of HTLV-I and HTLV-II infections among HIV-1-infected asymptomatic patients in São Paulo, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 39(4): 213-215, 1997.
- Nakauchi CM, Linhares AC, Maruyama K, Kansaki LI, Macedo JE, Azevedo VN, Casseb J. *Prevalence of human T cell leukemia virus-I (HTLV-I) antibody among populations living in the Amazon region of Brazil (preliminary report)*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 85: 29-33. 1990.