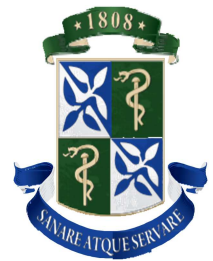




**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**



**RELAÇÃO ENTRE RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA E  
CARGA PRÓ-VIRAL COM DOENÇA PERIODONTAL ASSOCIADA  
AO HTLV-1.**

**Huliana Mourão Carvalho**

**Dissertação de Mestrado**

**Salvador (Bahia), 2019**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**



---

**RELAÇÃO ENTRE RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA E  
CARGA PRÓ-VIRAL COM DOENÇA PERIODONTAL ASSOCIADA  
AO HTLV-1.**

Huliana Mourão Carvalho

Orientador: Prof. Dr Edgar Marcelino de Carvalho

Dissertação apresentada ao Colegiado do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia, como pré-requisito obrigatório para a obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

**Salvador (Bahia), 2019**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD**

C331 Carvalho, Húliana Mourão,  
Relação entre resposta inflamatória sistêmica e carga pró-viral com  
doença periodontal associada ao HTLV-1 / Húliana Mourão Carvalho. –  
Salvador, 2019.

55f.

Orientador: Prof. Dr. Edgar Marcelino de Carvalho.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências  
da Saúde, Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, 2019.

1. HTLV-1 (Vírus). 2. Periodontite. 3. Doença periodontal. 4.  
Citocinas. I. Carvalho, Edgar Marcelino de. II. Universidade Federal da  
Bahia. III. Título.

CDU: 616.98

**Elaborada pela Bibliotecária Luciana Borges de Almeida – CRB-5/1399.**

## COMISSÃO EXAMINADORA

### Membros Titulares:

- 1) ***Profº Drº Edgar Marcelino de Carvalho Filho*** – Pós-doutor em Imunologia pelo Weill Cornell Medical College. Pesquisador Sênior do Instituto Gonçalo Moniz (FIOCRUZ-Ba) e do Serviço de Imunologia do Hospital Universitário Professor Edgar Santos. Professor adjunto da University of Iowa e do Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia. Tem como principais áreas de atuação em pesquisa a Imunopatogênese das leishmanioses, imunopatologia e manifestações clínicas associadas à infecção pelo HTLV-1, Imunopatogênese da Esquistossomose, Influência das helmintíases na resposta imune das doenças inflamatórias crônicas e doenças auto-imunes e Imunoterapia nas doenças infecciosas.
- 2) ***Profª Dra. Silvane Maria Braga Santos*** – Professora Adjunta da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), pesquisadora associada do Serviço de Imunologia do Com-HUPES-UFBA. Mestre e Doutora em Imunologia pela Universidade Federal da Bahia.
- 3) ***Profª Drª Adna Barros Ismerim*** – Graduada em Odontologia pela Universidade Federal da Bahia, Mestrado em Odontologia pela Universidade Federal da Bahia e Doutorado em Odontologia pela Universidade Federal da Bahia. Professora Adjunta da Clínica Integrada IV da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia e Odontóloga Especialista em Estomatologia.

### Membro Suplente:

- 1) ***Profª Drª Maria Olívia Amado Ramos Barcellar*** – Professora dos Programas de Pós-Graduação em Imunologia (PPGIIm) e de Ciências da Saúde (PPgCS), Pesquisadora do Serviço de Imunologia (SIM) da Universidade Federal da Bahia (UFBA) e do tropical Medicine Research Center do NIH, EUA. Doutora em Imunologia pela Universidade Federal da Bahia. Atua na área de imunoparasitologia, principalmente imunologia das leishmanioses. Tem estudos também na resposta imune da esquistossomose e da infecção pelo HTLV-1.

## **EQUIPE**

- **Prof<sup>a</sup> Dr. Edgar Marcelino de Carvalho – Coordenador da equipe.**
- Hulianna Mourão Carvalho – PPgCS – UFBA
- João Marcos da Silva Carvalho – PPgCS – UFBA
- Eugênia Maria A Campos – PPgCS – UFBA
- Marcos Braz – PPgCS – UFBA
- Carvel Suprien – PPgCS – UFBA
- Shiela Nunes Ferraz Matos – PPgCS – UFBA
- Cassius José Vitor de Oliveira – PPgCS – UFBA
- José Abraão Carneiro Neto – PPgCS – UFBA

Dedico este trabalho ao meu marido João Marcos Carvalho que em todos os momentos foi fonte de inspiração e coragem para conclusão desse projeto que se tornou uma importante conquista para mim. Aos meus familiares que com sua torcida e palavras de encorajamento me motivaram para conclusão dessa etapa da minha formação. E principalmente a Deus que emana todo o poder e amor para que tudo se concluísse.

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer ao prof. Dr. Edgar Marcelino de Carvalho por ter aceitado a mim como orientanda e pela paciência que procedeu comigo nos momentos de dificuldade.

A meus colegas Eugenia, Keith, Carvel, Cassio, Abrãao e tantos outros pelo convívio saudável e amizade durante os dois anos de curso.

Aos pacientes, funcionários e amigos do ambulatório que nos acolheram com paciência e carinho, dando nos suporte para melhor conduzir o projeto.

Ao meu esposo e companheiro de vida, por estar sempre presente me guiando e conduzindo pelos caminhos certos. Pela paciência e carinho, meu eterno amor.

A minha mãe, Lúcia Mourão, que por suas palavras de ânimo e encorajamento me levaram a respirar em tempos de sufoco, meu porto seguro.

A meu pai Adelino Mourão, espelho de caráter e garra, por ter suportado momentos difíceis sem minha presença. Obrigado pelos ensinamentos.

A minhas queridas irmãs Francielly e Anniely, por todo o carinho e companheirismo.

## **FONTES DE FINANCIAMENTO**

- Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq);
- Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação;
- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).



**ÍNDICE**

<b>ÍNDICE DE TABELAS</b>	9
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	10
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b>	11
<b>I. RESUMO</b>	13
<b>II. OBJETIVO</b>	14
II.1. Principal	14
II.2. Secundários	14
<b>III. INTRODUÇÃO</b>	15
<b>IV. REVISÃO DA LITERATURA</b>	17
IV.1. Epidemiologia da infecção pelo HTLV-1	17
IV.2. Organização Genômica	19
IV.3. Doenças Associadas ao HTLV-1	20
IV. 4. Doença Periodontal	24
<b>V. MATERIAS E MÉTODOS</b>	32
V.1. Tipo e desenho do estudo	32
V.2. Definição de caso	32
V.2.1. Pacientes com doença periodontal e infectados pelo HTLV-1	33
V.2.2. Pacientes sem doença periodontal infectados pelo HTLV-1	33
V.3. Critérios de inclusão e exclusão	33
V.4. Aspectos éticos	34
V.5. Avaliação imunológica e carga pró-viral	34
V.6. Avaliação Periodontal	35
V.7. Análise estatística	35
<b>VI. RESULTADOS</b>	36
<b>VII. DISCUSSÃO</b>	42
<b>VIII. PERSPECTIVAS DE ESTUDO</b>	46
<b>IX. CONCLUSÕES</b>	46
<b>X. SUMMARY</b>	47
<b>XI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	48

**ÍNDICE DE TABELAS**

<b>Tabela 1.</b>	Características sociodemográficas dos 80 pacientes com periodontite e sem periodontite infectados pelo HTLV-1.	36
<b>Tabela 2.</b>	Aspectos Clínicos e Odontológicos em 80 pacientes com periodontite e sem periodontite infectados pelo HTLV-1	37

**ÍNDICE DE FIGURAS**

<b>Figura 1.</b>	Prevalência do vírus HTLV nos territórios brasileiros.	18
<b>Figura 2.</b>	Diagrama esquemático do genoma viral do HTLV-1 ilustrando os elementos de Resposta Transcricional (TRE).	19
<b>Figura 3.</b>	Produção de Citocinas e Carga Pró-viral em Portadores de HTLV-1 com e sem Doença Periodontal.	39
<b>Figura 4.</b>	Associação entre Gravidade da Doença Periodontal com Carga Pró-viral e Produção de Citocinas.	40
<b>Figura 5</b>	Razão entre a citocinas IFN- $\gamma$ e TNF- $\alpha$ e a citocina regulatória IL-10 em pacientes com e sem doença periodontal.	41

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>AIDS</b>	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
<b>CAL</b>	Clinical attachment loss/ Perda da inserção clínica
<b>CMSP</b>	Culturas não estimuladas de células mononucleares do sangue periférico
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>EBV</b>	Vírus Epstein-Barr
<b>ELISA</b>	Ensaio de imunoabsorção enzimática
<b>HCMV</b>	Citomegalovírus Humano
<b>HIV</b>	Vírus da Imunodeficiência Humana
<b>HPV-16</b>	Papiloma Vírus Humano 16
<b>HSV-1</b>	Herpesvírus simples 1
<b>HTLV</b>	Vírus Linfotrópico Humano de Células T
<b>HTLV-1</b>	Vírus Linfotrópico Humano de Células T do tipo 1
<b>HTLV-2</b>	Vírus Linfotrópico Humano de Células T do tipo 2
<b>IFN</b>	Interferon
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	Interleucina 1 beta
<b>IL-2</b>	Interleucina 2
<b>IL-4</b>	Interleucina 4
<b>IL-6</b>	Interleucina 6
<b>IL-10</b>	Interleucina 10
<b>IL-12</b>	Interleucina 12
<b>IL-17</b>	Interleucina 17
<b>IL-18</b>	Interleucina 18
<b>JCE</b>	Junção cimento-esmalte
<b>LLTA</b>	Leucemia/Linfoma de células T em Adultos
<b>MAH/PET</b>	Mielopatia Associada ao HTLV-1/Paraparesia Espástica Tropical
<b>MMPs</b>	metaloproteinases
<b>mRNA</b>	Ácido ribonucleico mensageiro
<b>OPG</b>	osteoprogenina
<b>PCR</b>	Reação em cadeia da polimerase
<b>RANK</b>	Receptor ativador de NF-kB

<b>SIM</b>	Serviço de imunologia
<b>TCLE</b>	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	Fator de crescimento celular – beta
<b>Th1</b>	Células T auxiliaadoras do tipo 1
<b>Th2</b>	Células T auxiliaadoras do tipo 2
<b>TIMPs</b>	Inibidores teciduais de metaloproteinases
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator de Necrose Tumoral – alfa
<b>UFBA</b>	Universidade Federal da Bahia
<b>WHO</b>	Organização Mundial de Saúde

## I. RESUMO

**Introdução:** O HTLV-1 está associado à ocorrência de periodontite. A razão pela qual os indivíduos infectados pelo HTLV-1 desenvolvem doença periodontal não é conhecida.

**Objetivos:** Avaliar a associação entre carga pró-viral, citocinas inflamatórias e doença periodontal em indivíduos portadores do HTLV-1. **Materiais e Métodos:** Estudo de corte

transversal realizado no Ambulatório Multidisciplinar de HTLV-1 do Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos. O periodonto de 80 pacientes infectados pelo

HTLV-1 com e sem doença periodontal foi avaliado por sondagem. A produção espontânea de citocinas e carga pró-viral foram utilizadas para análise mais recente registrada no banco

de dados do Serviço de Imunologia. **Resultados:** Oitenta indivíduos infectados pelo HTLV-1 foram incluídos, 40 com doença periodontal e 40 sem doença periodontal. A

mediana da carga pró-viral e intervalo interquartil em indivíduos sem e com doença periodontal foi de 14915,0 (IQ 1333,750 - 47195,900) e 18863,5 (IQ 1348,750 -

68631,250), respectivamente, com  $p > 0,5$ . A produção de TNF nos pacientes infectados pelo HTLV-1 sem doença periodontal foi de 17,0 pg/ml e nos pacientes infectados pelo

HTLV-1 com doença periodontal foi de 43,0 pg/ml com  $p > 0,5$ . A produção de IFN foi de 362,5 pg/ml e 885,0 pg/ml, respectivamente,  $p > 0,5$ . Não houve diferença com relação à

produção de IL-10 e ocorrência da doença periodontal, com  $p > 0,5$ . Não foi observada diferença entre carga pró-viral, IFN, TNF e IL-10 em relação à gravidade da periodontite.

**Conclusão:** A falta de relação entre resposta inflamatória sistêmica e carga pró-viral com a doença periodontal associada ao HTLV-1 indica que outros fatores em adição a carga pró-viral e a resposta imune estão envolvidos na migração do HTLV-1 para o periodonto.

**Palavras-chave:** 1. Periodontite; 2. HTLV-1; Doença periodontal; 3. Citocinas; 4. Carga pró-viral.

## **II. OBJETIVOS**

### **II.1. PRINCIPAL**

Avaliar a relação entre resposta inflamatória sistêmica e carga pró-viral em pacientes com doença periodontal associada ao HTLV-1.

### **II.2. SECUNDÁRIOS**

- ✓ Avaliar a produção espontânea de citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias e a carga pró-viral de pacientes infectados pelo HTLV-1 com e sem doença periodontal;
- ✓ Avaliar citocinas e carga pró-viral em pacientes infectados pelo HTLV-1 com diferentes graus de doença periodontal;
- ✓ Determinar a razão entre citocinas inflamatórias (IFN- $\gamma$ , TNF) e anti-inflamatórias (IL-10) na doença periodontal associada ao HTLV-1.

### III. INTRODUÇÃO

O vírus linfotrófico das células T humanas tipo I (HTLV-1) foi o primeiro retrovírus isolado no ser humano em 1980 (Poiesz et al., 1980). As principais doenças associadas ao vírus são a mielopatia associada ao HTLV-1 ou paraparesia espástica tropical (MAH/PET) e a leucemia de células T do adulto (LLTA), que ocorrem em cerca de 5% dos infectados (Osame et al., 1986; Santos et al., 2004). Todavia uma série de outras doenças e manifestações clínicas, como bexiga neurogênica, disfunção erétil, dermatite infecciosa, síndrome seca e doença periodontal são bem documentadas na literatura em um percentual elevado dos infectados pelo vírus (Poetker et al., 2011). Até o momento os mecanismos que levam os portadores do HTLV-1 a desenvolver a MAH/PET ainda não estão inteiramente esclarecidos. No entanto já foi demonstrado que a carga pró-viral elevada, documentada em linfócitos do sangue periférico, é um fator de risco para o desenvolvimento de MAH/PET (Espíndola et al., 2015), chegando a ser de 10 a 100 vezes mais elevada em relação a indivíduos HTLV-1 soropositivos assintomáticos (Jeffery et al., 1999). Adicionalmente, a patogênese da MAH/PET está relacionada com a ativação de células T e produção elevada de citocinas pró-inflamatórias como IFN- $\gamma$ , TNF e IL17. Essa exagerada ativação linfocitária é induzida pela infecção viral e também se relaciona com uma redução da capacidade de citocinas regulatórias como IL-10 e TGF- $\beta$  de modular apropriadamente a resposta imune desses indivíduos (Santos et al., 2006). Todavia, é bem documentado que um percentual considerável de pacientes que apresentam carga pró-viral elevada não desenvolve MAH/PET (Santos et al., 2012). Com relação à resposta imune, outros autores têm observado que a relação IFN/IL-10 e IFN/IL4 são melhores marcadores da MAH/PET do que os níveis séricos das citocinas pró-inflamatórias. Adicionalmente, em um estudo foi mostrado uma correlação negativa entre produção de IFN e TNF com carga pró-viral sugerindo que esses podem ser eventos independentes (Starling et al., 2013). Com



relação a outras patologias relacionadas com o HTLV-1 a associação entre carga pró-viral e a produção exagerada de citocinas pró-inflamatórias nas células do sangue periférico não é tão clara como na MAH/PET. Em pacientes que apresentam somente disfunção erétil associado ao HTLV-1, a produção de citocinas é semelhante ao portador do vírus embora a carga pró-viral seja mais elevada (Tannus et al., 2013). Por outro lado, em pacientes com síndrome seca a carga pró-viral não é elevada, mas a produção de TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  são mais elevadas do que nos portadores do vírus (Lima et al., 2016).

Em adição, síndrome seca, a artropatia associada ao HTLV-1, disfunção erétil e bexiga neurogênica, a periodontite crônica foi cerca de 5 vezes mais frequentes em portadores de HTLV-1 do que em controles soronegativos (Caskey et al., 2007).

As doenças periodontais são processos infectoinflamatórios que acometem os tecidos gengivais (gengivite) e/ou tecidos de suporte e sustentação dos dentes (periodontite) (Vieira et al., 2010). Na periodontite ocorrem reações inflamatórias e imunológicas induzidas pela ação bacteriana presente no biofilme dental, que levam a perda de inserção do ligamento periodontal e destruição dos tecidos ósseos adjacentes, podendo causar mobilidade dentária e perda do elemento dental (Socransky, 1970; Listgarten et al., 1978; Vieira et al., 2010).

A razão pela qual os indivíduos infectados pelo HTLV-1 desenvolvem doença periodontal não é esclarecida, mas estudos imunológicos em tecido periodontal de pacientes com periodontite associada ao HTLV-1 e de pacientes com periodontite não infectados pelo vírus, mostraram que existia uma maior expressão de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 $\beta$  e IFN- $\gamma$ ) e menor expressão de células T regulatórias, células expressando Foxp3 e IL-10, no periodonto de indivíduos infectados pelo vírus com periodontite comparado aos não infectados com periodontite (Garlet et al., 2010).

Sendo assim, o nosso trabalho se propõem avaliar a relação entre citocinas pró e anti-inflamatórias e carga pró-viral com a doença periodontal associada ao HTLV-1.

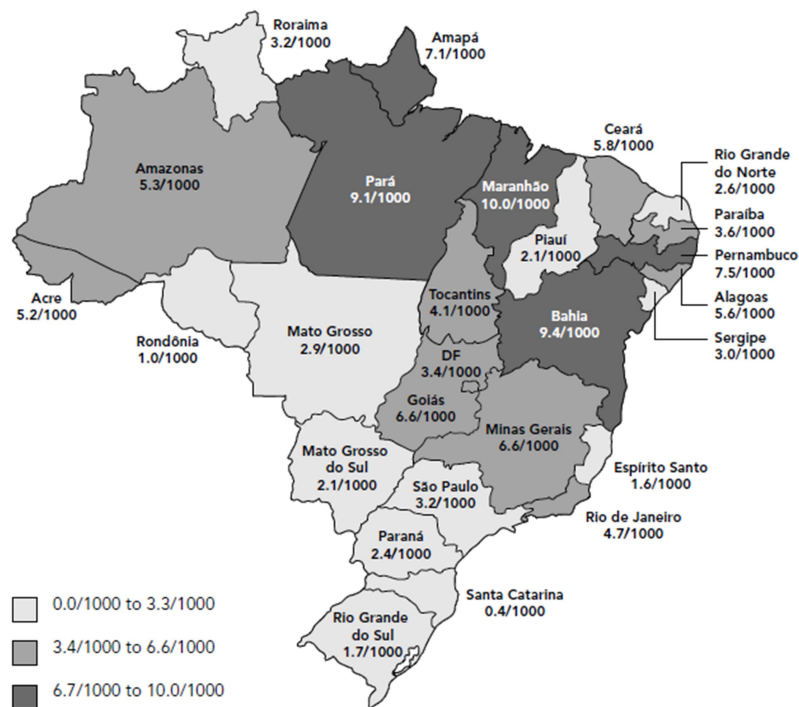
#### **IV. REVISÃO DE LITERATURA**

##### **IV.1. *Epidemiologia da infecção pelo HTLV-1***

O vírus linfotrópico das células T humanas tipo 1 (HTLV-1) foi o primeiro retrovírus isolado no ser humano em 1980 (Poiesz et al., 1980). Posteriormente, o vírus linfotrópico das células T humanas tipo 2 (HTLV-2) foi descoberto em 1982, sendo que o tipo 1 é o mais prevalente no mundo (Carneiro-Proietti et al., 2002).

No Brasil, o HTLV-1 foi detectado pela primeira vez em imigrantes japoneses na cidade de Campo Grande em Mato Grosso do Sul (Kitagawa, 1986). Através de pesquisas envolvendo doadores de sangue, a prevalência tem sido observada nos territórios brasileiros e em um estudo desenvolvido pelo Ministério da saúde, foram avaliados 5842 doadores de cinco regiões brasileiras tendo grande heterogeneidade nas prevalências: 0,08% em Manaus e Florianópolis, 0,33% em Recife e Rio de Janeiro e 1,35% em Salvador (Galvão- Castro et al., 1997). Estudos epidemiológicos detectaram a presença do vírus em todos os estados brasileiros. Mais recentemente, foram avaliados doadores de sangue das vinte e sete maiores regiões metropolitanas do país, encontrando maior prevalência de infecção pelo HTLV-1 em São Luís, no Maranhão (10,0/1000 habitantes) e em Salvador (9,4/1000 habitantes) (Catalan-Soares et al., 2005).

Figura 1: Prevalência do vírus HTLV 1/2 nos territórios brasileiros (Catalan-Soares et al., 2005).



Em um estudo realizado em Salvador, capital do estado da Bahia, foi estimado que cerca de 50.000 pessoas estivessem infectadas pelo HTLV-1, com dados de prevalência variando entre 1,8% a 1,35% da população geral (Galvão-Castro et al., 1997; Dourado et al., 2003;). Existem aproximadamente 5 a 10 milhões indivíduos infectados pelo HTLV-1 no mundo. No entanto, atualmente não é possível estimar o número real de portadores desse vírus, podendo o número real de infectados ser muito maior do que o observado (Gessain & Cassar, 2012).

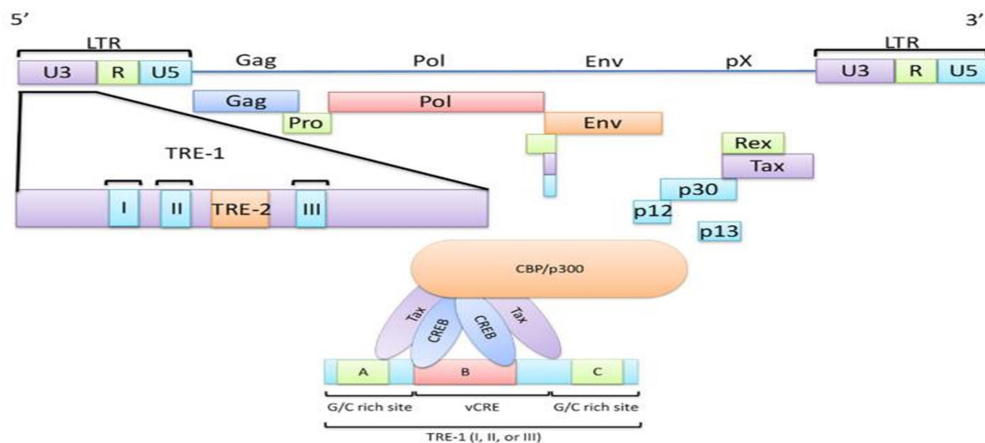
A transmissão do HTLV-1, HTLV-2 e HIV ocorrem da mesma forma. Embora se admita que a transmissão do HTLV-1 e 2 dependa da veiculação de linfócitos infectados (Lopes & Carneiro-Proietti, 2008).

A infecção pelo HTLV-1 pode ocorrer através de contato sexual, transfusão de sangue, compartilhamento de equipamentos injetáveis e via aleitamento, de mãe para filho (Dourado et al., 2003).

#### IV.2. Organização Genômica

O HTLV-1 e o HTLV-2 são retrovírus complexos em sua estrutura genômica compartilham aproximadamente 70% de homologia de seqüências nucleotídicas (Feuer & Green, 2005). Pertencem à família *Delta Retroviridae* (Curren et al., 2012) e em sua estrutura genômica se compõe por duas fitas simples de ácido ribonucleico (RNA) sendo constituído por três genes principais: *gag*, *pol* e *env* ( Seiki et al.,1983). Além de uma região pX, situada na extremidade 3', onde se encontram genes regulatórios denominados *tax*, *rex*, *HBZ* e, também, por dois segmentos LTR situados nas extremidades 5' e 3' que contem as regiões reguladoras da transcrição viral (Curren et al.,2012; kiyokawa et al., 1985).

Figura 2: Diagrama esquemático do genoma viral do HTLV-1 ilustrando os elementos de Resposta Transcricional (TRE) (Curren et al.,2012).



A transativação da transcrição na LTR viral é um papel crítico do Tax em células infectadas pelo HTLV-1, uma vez que isso acaba levando à expressão de todos os genes virais. Atuando como transativadora, a proteína Tax ativa o início da transcrição do genoma viral a partir de promotores virais. Já a proteína REX tem sua ação como reguladora pós-transcricional regulando a expressão dos genes virais. Isso promove um aumento da expressão das proteínas virais através do transporte do RNA viral. Anteriormente encontrado apenas no núcleo, o gene HBZ (basic leucine zipper factor) foi localizado no citoplasma de células mononucleares do sangue periférico de pacientes com MAH/PET e quase exclusivamente no compartimento de células T CD4+. Esse achado parece demonstrar um papel importante na transformação e proliferação de células T e estabelece uma associação entre o desenvolvimento da doença MAH/PET inflamatória e a presença de um produto viral no citoplasma (Baratella et al.,2017).

#### **IV.3. Doenças Associadas ao HTLV-1**

As principais doenças associadas ao vírus HTLV-1 são a mielopatia associada ao HTLV-1 ou paraparesia espástica tropical (MAH/PET) e a leucemia de células T do adulto (LLTA), que ocorrem em cerca de 5% dos infectados (Osame et al.,1986; Santos et al.,2004).

A MAH/PET é uma doença inflamatória crônica progressiva desmielinizante da medula espinhal após a quebra da barreira hematoencefálica. Os pacientes que manifestam a MAH/PET apresentam quadro clínico caracterizado por acometimento de indivíduos predominantemente na quarta e na quinta décadas de vida, entre 20 a 70 anos, com evolução lentamente progressiva (Champs et al.,2010).

Com proporções de 2:1 a 3:1 infectados do sexo feminino predominam sobre o masculino (Moreno-Carvalho et al.,1992; Araujo et al.,1993). Devido à diminuição da

força muscular aparecem os sintomas motores caracterizados pela dificuldade de marcha e enrijecimento dos membros inferiores (Domingues et al., 1995; Moxoto et al., 2007). A literatura descreve que o paciente diminui gradativamente seu ritmo de caminhada, necessitando com o passar do tempo de bengalas, andadores e cadeira de rodas para auxiliar em sua locomoção (Araujo et al., 1998; Ribas et al., 2002). São relatadas também alterações vesicais manifestando, na grande maioria, uma urgeincontinência e a constipação intestinal (Araujo et al., 1993; Moxoto et al., 2007).

O ataque às células do sistema nervoso central é mediado pelo sistema imune, ocorrendo ativação de linfócitos T citotóxicos contra células infectadas pelo HTLV-1, resultando na produção exagerada de citocinas pró-inflamatórias, tais como IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , que resultarão na morte e destruição das células do sistema nervoso central (Santos et al., 2004). Essa exagerada ativação linfocitária é induzida pela infecção viral e também se relaciona com uma redução da capacidade de citocinas regulatórias como IL-10 e TGF- $\beta$  de modular apropriadamente a resposta imune desses indivíduos (Santos et al., 2006).

De fato, uma resposta inflamatória exacerbada daria início a patogênese, com predominância de linfócitos T CD4<sup>+</sup> que posteriormente seriam ocupados por linfócitos CD8<sup>+</sup> iniciando o processo de desmielização (Bangham et al., 2005).

A carga pró-viral em indivíduos com MAH/PET tem sido referida como 10 a 100 vezes mais alta que em indivíduos HTLV-1 soropositivos assintomáticos (Jeffery et al., 1999). Já foi demonstrado que a carga pró-viral elevada, documentada em linfócitos do sangue periférico, é um fator de risco para o desenvolvimento de MAH/PET (Espíndola et al., 2015). Algumas doenças como bexiga hiperativa (Santos et al., 2012) artrite reumatoide e outras doenças do tecido conjuntivo (Yakova et al., 2005)

também estão associadas com aumento da carga pró-viral no indivíduo infectado pelo HTLV-1.

Pacientes com MAH/PET produzem citocinas inflamatórias como IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  em maiores concentrações do que portadores do HTLV-1 (Nishimoto et al., 1999; Goon et al., 2003; Santos et al., 2004), além disso a migração viral para os tecidos é considerada como dependente da elevada carga pró-viral e recrutamento do vírus para sistema nervoso central e a lesão tecidual mediada pela resposta inflamatória exagerada (Souza et al., 2012). Todavia existe um grande número de portadores de HTLV-1 que tem produção exagerada de citocinas pró-inflamatórias e alta carga pró-viral, mas que não desenvolvem MAH/PET (Espíndola et al., 2015).

Até o momento as vias e mecanismos que levam os indivíduos infectados pelo HTLV-1 assintomáticos ao desenvolvimento da MAH/PET ainda não estão inteiramente esclarecidos. Todavia, disfunções urinárias, poliomiosite, artropatia, dermatite infecciosa, uveítes, doença crônica periodontal e síndrome seca são documentadas em um percentual elevado dos infectados pelo vírus (Caskey et al., 2007; Souza et al., 2012; Santos et al., 2012). Associações da infecção pelo HTLV-1 com vários sintomas e achados odontológicos foram encontradas. Caskey e colaboradores (2007) realizaram um estudo avaliando a cavidade oral de pacientes infectados pelo HTLV-1 e observaram que indivíduos infectados pelo HTLV-1, sem o diagnóstico de MAH/PET, eram mais propensos a desenvolverem gengivite, periodontite e mucosa oral seca no exame odontológico comparados com indivíduos saudáveis. (Caskey et al., 2007).

Estudos demonstram que portadores de HTLV-1 com bexiga hiperativa produzem níveis elevados de IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL17 e alta carga pró-viral. A similaridade entre as características imunológicas e virais entre portadores de HTLV-1 com bexiga hiperativa e

pacientes com MAH/PET sugere que a bexiga hiperativa represente um estágio inicial para o desenvolvimento da mielopatia associada ao HTLV-1 (Santos et al., 2012; Souza et al., 2012). Avaliando pacientes portadores do HTLV-1 com e sem disfunção erétil foi observado que não houve diferença estatisticamente significativa quando comparado à produção de citocinas pró-inflamatórias, no entanto, a carga pró-viral apresentou níveis mais elevados no grupo de infectados pelo HTLV-1 com disfunção erétil (Tannus et al., 2013).

A relação entre a produção exagerada de citocinas pró-inflamatórias (IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ ) e níveis elevados de carga pró-viral também foi observada em pacientes com dermatite infecciosa associada ao HTLV-1 (Nascimento et al., 2008). Outro estudo demonstrou também um aumento na produção destas citocinas em pacientes com HTLV-1 associado à síndrome seca, indicando que fatores virais e exacerbação da resposta inflamatória participam da patogênese da síndrome seca associada ao HTLV-1 (Lima et al., 2016).

Entretanto, alguns estudos mostram uma falta de correlação entre carga pró-viral e o perfil pró-inflamatório em MAH/PET. Starling e colaboradores analisaram a correlação entre citocinas e a carga pró-viral em indivíduos infectados pelo HTLV-1 onde encontraram perfis distintos nos indivíduos assintomáticos e MAH/PET. Neste estudo, níveis elevados de carga pró-viral e citocinas pró-inflamatória (TNF- $\alpha$ , IL-6 e IFN- $\gamma$ ), juntamente com a relação IFN- $\gamma$ /IL-10 e IFN- $\gamma$ /IL-4 foram predominantes no grupo MAH/PET em comparação com o grupo assintomático. No entanto, foi encontrada uma correlação negativa entre a carga pró-viral e o padrão pró-inflamatório, sugerindo que esses eventos podem ser independentes no sangue periféricos de pacientes com MAH/PET (Starling et al., 2013).



#### **IV.4. Doença Periodontal**

As doenças periodontais são reconhecidas e tratadas há muitos anos. Em alguns pacientes, a história natural dessa doença resulta em perda dentária. Através de um diagnóstico, é possível fazer o reconhecimento dessas doenças, uma vez que a doença periodontal abrange um espectro mais amplo de doenças do que apenas a periodontite.

Pode ser observada em um periodonto saudável a presença de tecidos gengivais com aspecto rosa pálido ou rosa coral, sendo pontilhado no caucasiano. Em indivíduos de outras raças o tecido gengival pode se apresentar com vários graus de pigmentação; sendo firmemente adaptada aos tecidos adjacentes, apresentando uma margem gengival localizada na junção esmalte-cimento (JEC), na ausência de doenças. A borda gengival se apresenta recortada interdentalmente constituindo a papila interdental. A gengiva livre encosta no dente e tem entre 1 a 3 mm de profundidade, quando sondada é notado a ausência de sangramento. Entre o ponto mais apical da gengiva livre até a junção mucogengival encontra-se a gengiva inserida, sendo um tecido imóvel e firmemente ligado ao osso. Por fim, na região apical da junção mucogengival encontra-se a mucosa alveolar completando assim a mucosa de revestimento da boca. Tendo como base esse conceito de periodonto saudável podemos diagnosticar a presença de doenças nesses tecidos (Anaimo & Loe, 1960; Highfield, 2009; Lindhe et al., 2010).

As doenças periodontais são processos infectoinflamatórios que acometem os tecidos gengivais (gengivite) e/ou tecidos de suporte e sustentação dos dentes (periodontite) (Vieira et al., 2010). Na periodontite ocorrem reações inflamatórias e imunológicas induzidas pela ação bacteriana presente no biofilme dental, que levam a perda de inserção do ligamento periodontal, detectada como perda de inserção clínica (CAL) por avaliação clínica através de uma sonda periodontal padronizada tendo como ponto de referência a junção cimento-esmalte, além da destruição dos tecidos ósseos

adjacentes, podendo causar mobilidade dentária e perda do elemento dental (Vieira et al., 2010).

A etiologia da doença periodontal é complexa, abarcando inúmeros fatores locais e sistêmicos que promovem o desequilíbrio no ambiente periodontal. Neste contexto, destaca-se o papel de algumas bactérias periodontopatogênicas, tais como *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, que são associadas com maior gravidade da doença (Feng et al., 2006).

O conhecimento sobre a etiopatogenia e tratamento das doenças periodontais é limitado e muitos detalhes ainda são desconhecidos, no entanto é observado que o mecanismo de destruição tecidual pode estar relacionado com a própria resposta imune do hospedeiro à presença de antígenos bacterianos presentes no biofilme subgingival (Smith et al., 2010). Está bem documentado que a presença dessas bactérias no biofilme dental pode causar inflamação gengival. Todavia, pesquisas têm evidenciado que em alguns indivíduos que abrigam esses microorganismos podem não apresentar destruição periodontal (Page et al., 1997).

Apresentando forte adesão à superfície dentária, a placa bacteriana é um biofilme complexo que se manifesta como uma massa organizada constituída principalmente por micro-organismos. Tal placa é removida por uma escovação dentária eficaz e resistente aos bochechos, jato de ar ou mastigação de alimentos (Gomes & Silva, 2010).

A doença periodontal caracteriza-se por um acúmulo intenso de células envolvidas na resposta imune. As citocinas são proteínas secretadas por leucócitos e sua ação envolve inúmeros efeitos no sistema imunológico e muitas vezes interferem na modulação da resposta imune (Alhashimi et al., 2001; Kook et al., 2011). E embora

produzidas principalmente para ativar os mecanismos efetores contra agentes estranhos, também se associam com destruição tecidual (Gemmell et al., 2004). Sabe-se que as variações genéticas na resposta imune podem aumentar o surgimento da periodontite, no entanto, ainda não é esclarecido o papel regulatório da produção de citocinas (Kinane et al., 2003).

Para impedir que a resposta inflamatória promova o surgimento de doenças é importante que haja uma regulação da resposta imune. Células regulatórias, citocinas moduladoras, anticorpos e o balanço entre citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias desempenham papel importante na regulação da resposta imunológica.

A presença de bactérias gram-negativas no biofilme subgengival desencadeia uma resposta inflamatória exagerada, citocinas como TNF- $\alpha$  e interleucina (IL) 1 $\beta$  são liberadas e se envolvem na progressão da doença (Graves et al., 2003). Entretanto, em tecidos que desenvolveram a periodontite foram encontrados citocinas anti-inflamatórias, como a IL-10, promovendo uma modulação regulatória, uma vez que, seu efeito contraria os mediadores pró-inflamatórios (Claudino et al., 2008).

Estudos imunológicos em tecido periodontal de pacientes com periodontite associada ao HTLV-1 e de pacientes controles com periodontite não infectados pelo vírus, observaram um achado imunológico importante. Notaram que a atividade Treg em lesões periodontais de pacientes com HTLV-1 era prejudicada devido a diminuição da expressão de células T regulatórias FOXP3 e do nível de citocina anti-inflamatória IL-10, enquanto, uma maior expressão da resposta Th1 e citocinas pró-inflamatórias (IL-1 $\beta$  e IFN- $\gamma$ ) foi observada quando comparados os grupos (Garlet et al., 2010). Quando ocorre o desequilíbrio entre as citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias o desenvolvimento da doença periodontal é percebido. As doenças inflamatórias têm

sido observadas mais frequentemente em indivíduos infectados pelo HTLV-1 devido a sua capacidade induzir uma resposta inflamatória exagerada (Giozza, 2006).

A manutenção do equilíbrio entre as citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias se faz importante para que os mediadores inflamatórios não sejam a causa de patologias, uma vez que, agindo isoladamente ou em conjunto, as citocinas e a expressão de mediadores da inflamação podem estimular a reabsorção óssea interferindo na regulação das metaloproteinases (MMPs) e seus inibidores endógenos, sendo a principal via de reabsorção óssea e destruição do tecido conjuntivo (Garlet et al., 2004).

A atividade das MMPs é controlada pelos inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMPs), que são inibidores endógenos das metaloproteinases. Possivelmente, o padrão de citocinas expressas determine a natureza estável ou progressiva das lesões e regule a gravidade da doença periodontal, promovendo o equilíbrio entre MMPs e TIMPs, a expressão de RANKL e osteoprotegerina (OPG) nos tecidos periodontais controlando a destruição dos tecidos moles e consequentemente a gravidade da doença periodontal (Garlet et al., 2004).

Uma vez que, uma das consequências da doença periodontal é a perda óssea, fatores reguladores da formação de osteoclastos têm um papel importante nessa patologia. O receptor ativador de NF- $\kappa$ B ligante RANKL e seu receptor Rank foram reconhecidos como fatores reguladores. Rank é expresso por osteoblastos e citocinas pró-inflamatórias presente em lesões periodontais que estimulam sua produção. (Crotti et al., 2003). Já a osteoprotegerina (OPG) é produzido por células do ligamento periodontal e age como inibidor da diferenciação dos osteoclastos (Crotti et al., 2003). Estudos sugerem que o RANK e o OPG contribuem para a destruição óssea osteoclástica na doença periodontal (Mogi et al., 2004).

Para entender a patogênese da periodontite é necessário compreender que existe uma relação que envolve o sistema imunológico do hospedeiro, fatores ambientais e as bactérias periodontopatogênicas, sendo assim, ocorre um processo que envolve a interação multifatorial desses fatores. A presença de bactérias periodontopatogênicas contribui para a destruição tecidual, no entanto, o surgimento e a progressão da periodontite não é explicada somente pela quantidade de placa bacteriana, outros fatores estão envolvidos (Bilichodmath et al.,2009). Características clínicas e patológicas da periodontite também podem ser determinadas pelo hábito de fumar, pelo aumento da idade (Billings et al., 2018) e presença de doenças sistêmicas (Albandar et al., 2018), dentre outros fatores.

Nos últimos anos, estudos têm demonstrado que diferentes vírus têm sido implicados na patogênese da doença periodontal (Slots, 2007). Essa interação entre vírus e bactérias patogênicas tem despertado interesse no campo da pesquisa e estudos já demonstram evidências que o desenvolvimento da doença periodontal está associado com a presença de vírus e a proliferação de bactérias oriundas da microbiota subgingival (Slots et al., 2006; Botero et al.,2007; Chalabi et al.,2010)

A infecção por membros da família do herpesvírus tem sido estudada. Descobertas a respeito do comportamento desses vírus têm mostrado que ocorre um aumento de citocinas inflamatórias interrompendo a homeostasia entre hospedeiro e sua flora. Existe uma ligação causal entre herpesvirus e a periodontite agressiva. O vírus age cooperando com bactérias específicas na etiopatogenia da doença (Saygun et al., 2004). O herpesvírus possui seletividade para os tecidos e órgãos que infectam, e asseguram sua sobrevivência através de uma fase de latência precedida por uma fase de produção. Mesmo no período de latência, os herpesvírus podem ser reativados (Contreras & Slots, 2000; Slots et al., 2003).

Alguns vírus da família *Herpesviridae* podem infectar ou alterar as células estruturais e se hospedar nas células de defesa do periodonto e, com isso, reduzir a capacidade dos tecidos periodontais de resistir à ação bacteriana (Contreras et al., 2000). Contreras et al., em 2000 avaliaram amostras de bolsas periodontais e amostras de tecido gengival de 25 pacientes (8 homens e 17 mulheres) que foram submetidos a cirurgia periodontal; eles detectaram grandes quantidades de herpesvírus (43% CMV e 79% EBV-1) no tecido gengival das amostras de bolsas periodontais, embora a relação encontrada não foi estatisticamente significativa (Contreras et al., 2000).

Pesquisas sobre a presença desses vírus no fluido crevicular em pacientes com periodontite foram realizadas por Klemenc et al. em 2005 e foi observado uma prevalência de 43% de EBV, 24% de HHV-6 e 3% de CMV nas amostras de fluido crevicular de pacientes com doença periodontal, no entanto, em pacientes clinicamente saudáveis não foi detectado a presença de herpes vírus (Klemenc et al., 2005).

Em um estudo com 30 pacientes com periodontite agressiva foi observado uma associação positiva entre EBV-1 e lesões periodontais em amostras de fluido crevicular. A presença desse vírus foi observada em maior frequência nas regiões periodontais do que em regiões onde havia somente gengivite. Uma das causas da infecção periodontopatogênica pode ser pela alta incidência de DNA de EBV-1 presente nas regiões com periodontite (Watanabe et al., 2007).

Idesawa et al. (2004) investigaram a presença do vírus Epstein-Barr (EBV) na saliva de pacientes com periodontite e foi observado uma maior frequência EBV na saliva de pacientes periodontais comparados com indivíduos saudáveis. O EBV foi detectado em 16 de 33 pacientes com periodontite e em 3 de 20 em indivíduos periodontalmente sadios. Após realização de tratamento periodontal foi analisado uma diminuição da presença do EBV e uma melhora do quadro. A presença de EBV na

saliva pode refletir o estado de inflamação periodontal existente (Idesawa et al., 2004). Outro estudo avaliou os níveis de carga pró-viral do HTLV-1 na saliva e os resultados demonstraram uma fraca correlação a carga pró-viral na saliva e no sangue periférico, porém, os pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1 (MAH/PET) apresentaram valores médios de carga pró-viral na saliva maiores quando comparados com portadores (Lins et al., 2012).

Diversos estudos foram realizados com objetivo de avaliar a presença dos herpesvírus em bolsas periodontais e se existia alguma relação entre estes vírus e a severidade da doença periodontal (Kamma et al., 2001). Pesquisas microbiológicas demonstram o papel do citomegalovírus humano (HCMV), do vírus Epstein-Barr (EBV) e do vírus herpes simples (HSV-1 e HSV-2) e seu envolvimento na patologia periodontal.

No estudo de Sushma et al. (2012) foram avaliadas a presença desses vírus em periodontite crônica, periodontite agressiva e indivíduos saudáveis e a relação entre esses vírus e os parâmetros clínicos. Foi encontrada uma maior frequência dos vírus HSV-1 e EBV-1 nos sítios com periodontite crônica e agressiva. Em pacientes onde estes vírus foram detectados, a profundidade da bolsa de sondagem e o nível de inserção foram mais significativos em comparação com pacientes com periodontite agressiva e sem detecção dos vírus, neste contexto o HSV-1 poderá estar associado à severidade e progressão da doença (Das et al., 2012).

O achado de níveis elevados de herpesvírus nos sítios periodontais pode interferir na patogênese da doença periodontal. Clinicamente foi observado que o CMV e o EBV podem estar relacionados com o nível da inflamação gengival e quando associados a bactérias periodontopatogênicas podem interferir na gravidade da doença periodontal. Para prevenir, reduzir ou retardar a degradação tecidual do periodonto é

importante a compreensão da interação entre herpes vírus e flora bacteriana (Saygun et al., 2008).

A prevenção da periodontite se faz necessário. Para que o processo inflamatório não se desenvolva é possível travá-lo com a interrupção do seu curso normal e remoção do biofilme bacteriano, controlando fatores de risco como o tabagismo e a diabetes, bem como, aplicando recursos farmacológicos ou modulação da resposta do hospedeiro (Tonetti et al., 2015).

Para que haja um controle da doença periodontal é importante que o paciente realize uma adequada higiene oral e acompanhado pelo cirurgião-dentista para uma remoção dos fatores de retenção e controle do cálculo dentário, assim como no controle de fatores de risco (Pihlstrom et al., 2005).

O procedimento clínico para a remoção e controle da placa bacteriana e cálculo dental pode ser feito através de instrumentos manuais ou mecanizados por tratamento periodontal não cirúrgico, no entanto, em alguns pacientes pode ser necessário proceder com tratamento cirúrgico periodontal quando os mesmos apresentarem doença periodontal em estágio avançado (Pihlstrom et al., 2005).



## **V. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **V.1. Tipo e desenho do estudo**

Estudo de corte transversal avaliando carga pró-viral, a razão entre citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias em pacientes infectados pelo HTLV-1 com e sem doença periodontal.

Baseado no dado do cálculo amostral em que a razão entre citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias é de  $4,3 \pm 1,2$  em pacientes infectados pelo HTLV-1 com doença inflamatória e  $1,1 \pm 0,8$  em indivíduos sem doença inflamatória com um poder de 80% e significância com valor de  $p < 0,05$  foram incluídos no grupo um total de 80 indivíduos infectados pelo HTLV-1, sendo 40 por grupo. Estes indivíduos foram acompanhados no Ambulatório Multidisciplinar de HTLV-1 do Serviço de Imunologia – Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos (Com-HUPES) da Universidade Federal da Bahia (UFBA) no período de janeiro de 2016 a dezembro de 2018.

Para definir o diagnóstico da infecção pelo HTLV-1, os indivíduos que foram encaminhados para o ambulatório de HTLV-1 realizaram um exame com base na detecção de anticorpos anti-HTLV-1 pelo método de ELISA (Cambridge Biotech Corp., Worcester, MA) e confirmado pela técnica de Western-blot (HTLV blot 2.4; Genelab, Singapore).

### **V.2. Definição de caso**

Foram incluídos dois grupos neste estudo:

### **V.2.1. Pacientes com doença periodontal e infectados pelo HTLV-1**

Pacientes com inflamação gengival e perda óssea no periodonto determinada por sondagem associadas à placa bacteriana, de acordo com critérios estabelecidos pela Academy American of Periodontology (Steffens et al., 2018). E com diagnóstico de infecção pelo HTLV-1 confirmado pelo método ELISA e técnica de western-blot.

### **V.2.2. Pacientes sem doença periodontal e infectados pelo HTLV-1.**

Pacientes sem doença periodontal diagnosticados de acordo com os critérios estabelecidos no grupo 1 e com diagnóstico confirmado para infecção pelo HTLV-1.

## **V.3. Critérios de inclusão e exclusão**

### **V.3.1 Critérios de inclusão**

Indivíduos de ambos os sexos, soropositivos para o HTLV-1 e sem manifestações neurológicas, com e sem doença periodontal, sendo que aqueles que apresentavam doença periodontal não receberam tratamento nos últimos 6 meses.

### **V.3.2 Critérios de exclusão:**

Indivíduos que eram coinfectados pelo HIV, pacientes que estavam grávidas, portadores de diabetes mellitus, fumantes e portadores de outras desordens neurológicas.

#### **V.4. Aspectos éticos e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa**

A participação neste projeto foi voluntária e em não aceitando em participar do estudo, o paciente teria os mesmos cuidados dos participantes no trabalho. A participação ocorreu após leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do COM-HUPES, através do parecer/resolução aditiva nº 7/2016.

#### **V.5. Avaliação imunológica e carga pró-viral**

Todos os participantes do ambulatório multidisciplinar de HTLV-1 têm determinado, por ocasião da sua admissão no ambulatório, e periodicamente, a produção de TNF  $\alpha$ , INF  $\gamma$  e IL-10 e carga pró-viral. Os dados apresentados com relação a essas variáveis foram obtidos do banco de dados do Ambulatório Multidisciplinar de HTLV-1 do Serviço de Imunologia (SIM) sendo utilizado o resultado da avaliação realizada mais recente. De modo sucinto a produção de citocinas foi determinada pela técnica de ELISA em sobrenadante de culturas não estimuladas de células mononucleares do sangue periférico cultivadas por 72 horas (Santos et al., 2004). Para determinação da carga pró-viral, o DNA foi extraído das células mononucleares utilizando proteinase K, e a carga pró-viral de HTLV-1 foi quantificada pelo PCR em tempo real (Dehee et al., 2002).

## V.6. Avaliação Periodontal

Os pacientes foram avaliados quanto a gravidade da doença periodontal segundo os critérios da Classificação da Periodontite de 2018 de acordo com a Academia Americana de Periodontia e a Federação Europeia de periodontia (Steffens et al., 2018). Dessa forma, a gravidade foi determinada pela perda de inserção detectada em dois ou mais sítios interproximais não adjacentes e classificada de acordo com seu ESTÁGIO e seu GRAU nas seguintes maneiras: Estágio I: 1-2 mm de perda de inserção interproximal no pior sítio; Estágio II: 3-4 mm de perda de inserção interproximal no pior sítio; Estágio III: 5 mm ou mais de perda de inserção interproximal no pior sítio; Estágio IV: 5 mm ou mais de perda de inserção interproximal no pior sítio e perda dental de 5 ou mais dentes devido à periodontite. E nos seguintes graus: Grau A – progressão lenta; Grau B – progressão moderada; Grau C – progressão rápida. As sondagens foram realizadas por um examinador devidamente treinado e com instrumento calibrado, mensurando 6 diferentes áreas por dente (Mesial, Meio e Distal) nas faces vestibular e lingual, utilizando o mesmo tipo de sonda periodontal (UNC-15, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA) com força moderada de sondagem correspondente a aproximadamente 0,25N.

## V.7. Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas pelo “software” GraphPad Prism v. 5.0, e os resultados foram considerados significantes se a probabilidade (p) do erro foi menor que 5% ( $p < 0,05$ ). A significância das diferenças observadas nas variáveis nos diferentes grupos foi identificada através dos testes Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e Mann-Whitney.

Os dados da carga pró-viral e as concentrações de citocinas foram expressos como mediana e interalo interquartil (IQ). O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis foi utilizado para identificar diferenças entre os diferentes grupos de pacientes com doença periodontal e verificar a razão entre citocinas entre os grupos.

## VI. RESULTADOS

Na tabela 1 são demonstradas as características sociodemográficas dos pacientes com e sem doença periodontal.

Tabela 1: Características sociodemográficas de 80 pacientes infectados pelo HTLV-1 com e sem doença periodontal.

<b>Variáveis</b>	<b>Com Doença Periodontal (N=40)</b>	<b>Sem Doença Periodontal (N=40)</b>	<b>Valor de p</b>
<b>Idade (anos)</b>	57,6 (+/- 9,6)	50,5 (+/-12,4)	0,007 <sup>a</sup>
<b>Sexo</b>			
Masculino	17 (42,5%)	11 (27,5%)	0,160 <sup>b</sup>
Feminino	23 (57,5%)	29 (72,5%)	
<b>Renda</b>			
< 1 salário mínimo	6 (15,0%)	5 (12,5%)	0,895 <sup>b</sup>
1 – 4 salários mínimos	30 (75,0%)	29 (72,5%)	
4 – 10 salários mínimos	3 (7,5%)	5 (12,5%)	
> 10 salários mínimos	1 (2,5%)	1 (2,5%)	
<b>Escolaridade</b>			
Não alfabetizado	1 (2,5%)	0	0,269 <sup>b</sup>
1º Grau	21 (52,5%)	15 (37,5%)	
2º Grau	16 (40,0%)	24 (60,0%)	
3º Grau	2 (5,0%)	1 (2,5%)	
<b>Aleitamento Materno</b>			
Sim	38 (95,0%)	36 (90,0%)	0,396 <sup>b</sup>
Não	2 (25,0 %)	4 (10,0%)	
<b>Transfusão</b>			
Sim	3 (7,5%)	7 (17,5%)	0,176 <sup>b</sup>
Não	37 (92,5%)	33 (82,5%)	

<sup>a</sup>Mann-Whitney; <sup>b</sup>Qui-quadrado

As características sociodemográficas de 80 indivíduos infectados pelo HTLV-1 sendo que 40 indivíduos manifestavam a doença periodontal e 40 não apresentavam periodontite. O grupo com doença periodontal tinha idade maior (57,6 +/- 9,6) que o grupo sem doença periodontal (50,5 +/- 12,4), com  $p = 0,007$ . Não foi observada diferença estatística entre os grupos com relação a outras variáveis como sexo ( $p=0,160$ ), renda ( $p= 0,895$ ), escolaridade (0,269), história de aleitamento materno ( $p= 0,396$ ) e de realização de transfusão sanguínea ( $p=0,176$ ).

Os aspectos clínicos e alguns dados do exame odontológico dos participantes do estudo classificado de acordo com a presença ou não de doença periodontal é mostrada na tabela 2.

Tabela 2: Aspectos clínicos e odontológicos em 80 pacientes infectados pelo HTLV- 1 com e sem doença periodontal.

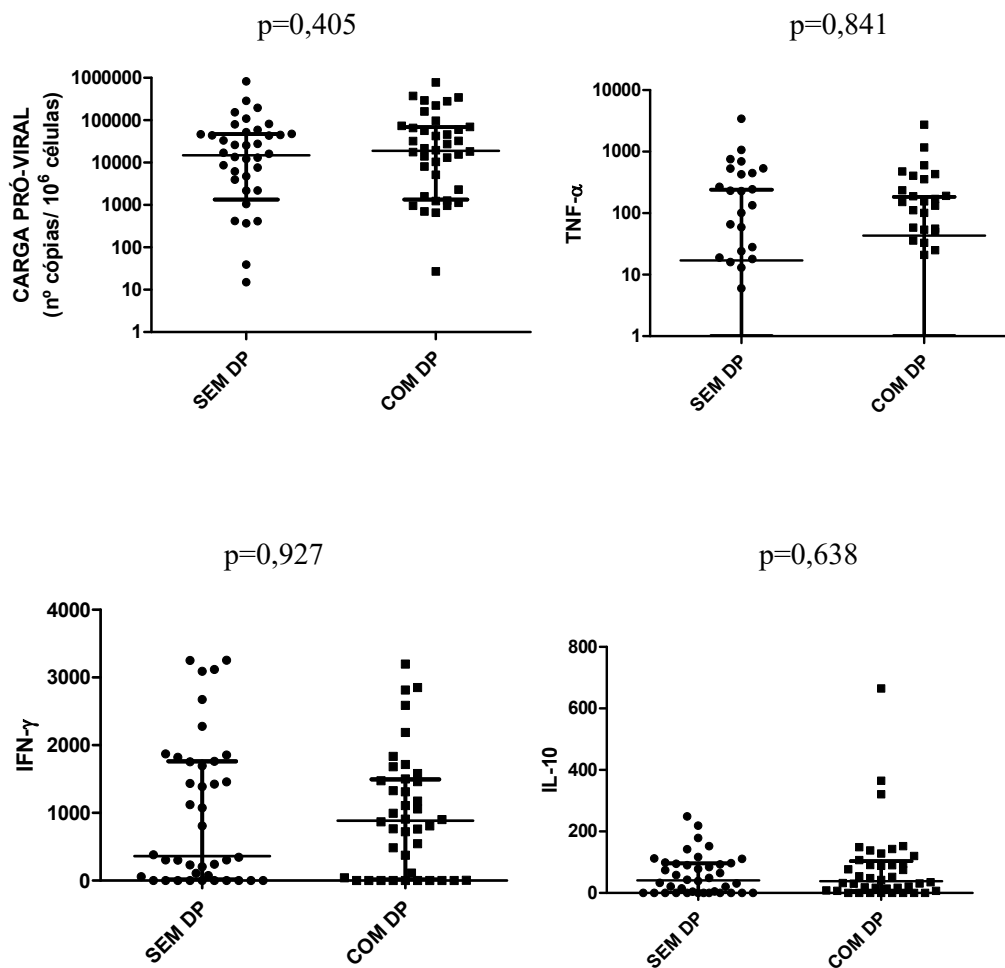
Variáveis	Com Doença Periodontal (N=40)	Sem Doença Periodontal (N=40)	Valor de p <sup>a</sup>
<b>Escovação</b>			
1	5 (12,5%)	8 (20,0%)	0,648
2	8 (20,5%)	8 (20,0%)	
3 ou mais	27 (67,5%)	24 (60,0%)	
<b>Prótese Dentária</b>			
Sim	19 (47,5%)	17 (42,5%)	0,653
Não	21 (52,5%)	23 (57,5%)	
<b>Herpes</b>			
Sim	10 (25,0%)	9 (22,5%)	0,793
Não	30 (75,0%)	31 (77,5%)	
<b>Sangramento</b>			
Sim	15 (37,5%)	14 (35,0%)	0,816
Não	25 (62,5%)	26 (65,0%)	
<b>Perda Dentária</b>			
Sim	39 (97,5%)	36 (90,0%)	0,166
Não	1 (2,5%)	4 (10,0%)	
<b>Boca Seca</b>			
Sim	21 (52,5%)	15 (37,5%)	0,178
Não	19 (47,5%)	25 (62,5%)	

<sup>a</sup> Teste Qui-Quadrado

Não foi documentada a associação entre doença periodontal e sangramento gengival, perda dentária, história de escovação, ocorrência de prótese dentária, história de boca seca ou de infecção por herpes.

A carga pró-viral e a produção de citocinas de indivíduos infectados pelo HTLV-1 com ou sem doença periodontal é mostrada na figura 3. A mediana da carga pró-viral e o intervalo interquartil nos indivíduos infectados pelo HTLV-1 sem doença periodontal foram de 14915,0 (IQ 1333,750 - 47195,900) enquanto nos pacientes com doença periodontal foram de 18863,5 (IQ 1348,750 - 68631,250) com  $p > 0,5$ . A produção espontânea de TNF- $\alpha$  nos pacientes HTLV-1 positivos sem doença periodontal foi de 17,0 pg/ml e nos pacientes com doença periodontal foi de 43,0 pg/ml com  $p > 0,5$ . A produção de IFN- $\gamma$  foi de 362,5 pg/ml no grupo sem doença periodontal e de 885,0 pg/ml no grupo com doença periodontal,  $p > 0,5$ . Não houve diferença em relação à produção espontânea de IL-10 e a ocorrência da doença periodontal com  $p = 0,638$ .

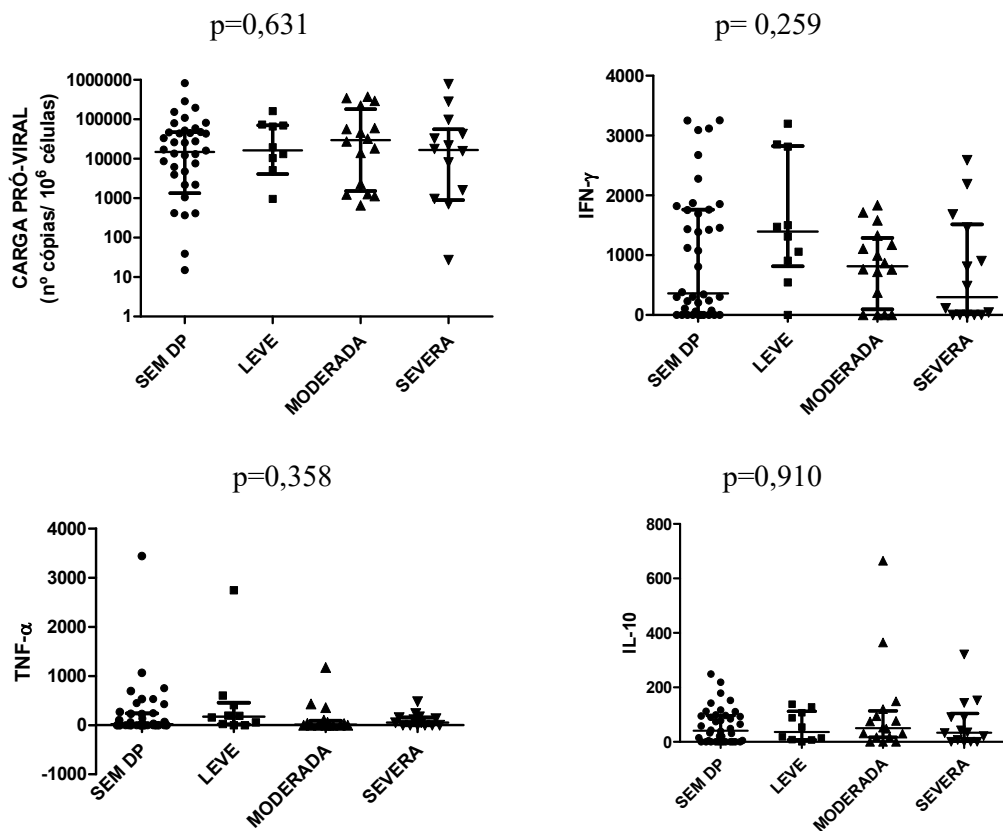
Figura 3: Produção espontânea de citocinas inflamatórias e regulatória e carga pró-viral em portadores de HTLV-1 com e sem doença periodontal.



A figura 4 mostra a carga pró-viral e a produção de citocinas em pacientes com gravidade diferentes da doença periodontal. Não foi observada diferença entre carga pró-viral, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-10 em relação à gravidade da periodontite.

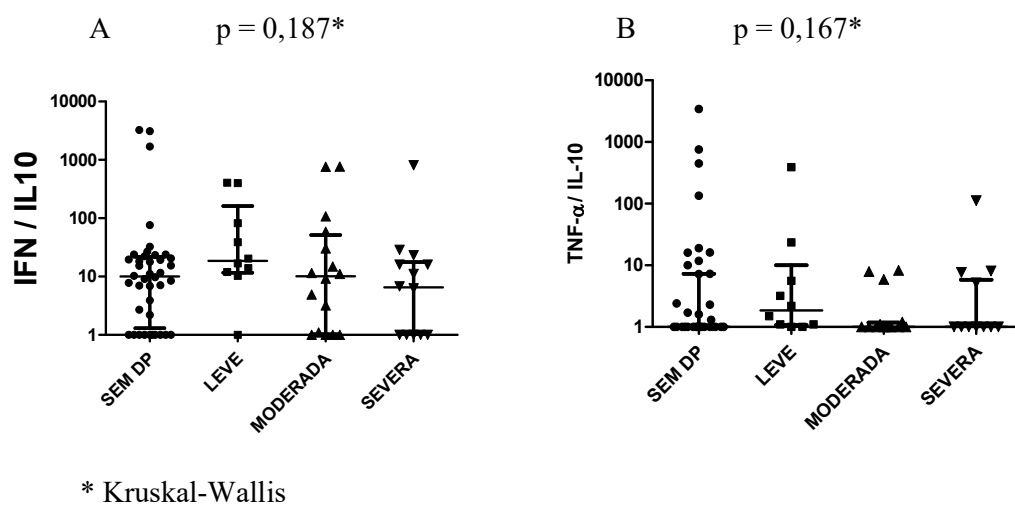


Figura 4: Associação entre gravidade da doença periodontal com carga pró-viral e produção de citocinas.



Foi também determinado a relação entre IFN/IL-10, TNF/IL-10 nos pacientes infectados pelo HTLV-1 sem periodontite e com periodontite leve, moderada e grave, figura 5. Não foi documentada a relação entre essas citocinas e doença periodontal, nem com a gravidade da doença periodontal.

Figura 5: Razão entre a citocinas IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  e a citocina regulatória IL-10 em pacientes com e sem doença periodontal.



## VII. DISCUSSÃO

Uma das mais graves doenças associadas ao HTLV-1 é a MAH/PET (Osame et al., 1986; Ribas & Melo, 2002). Uma alta carga pró-viral é considerada um fator de risco para a doença e pacientes com MAH/PET apresentam níveis mais elevados de citocinas pró-inflamatórias no soro e nos sobrenadantes de cultura de células mononucleares do que os portadores de HTLV-1 (Santos et al., 2004; Espíndola et al., 2015)

Alta carga pró-viral e produção exagerada de citocinas pró-inflamatórias têm sido documentadas em outras doenças associadas ao vírus como dermatite infecciosa (Souza et al., 2012; Nascimento et al., 2008) e bexiga neurogênica associada ao HTLV-1 (Santos et al., 2012). Um estudo anterior realizado em tecido periodontal de pacientes infectados pelo HTLV-1 com periodontite, documentou a presença de Proteína Tax do HTLV-1 e também encontrou maior expressão de citocinas pró-inflamatórias e menor expressão de marcadores de células T reguladoras do que no periodonto de pacientes com periodontite não associada ao HTLV-1 (Garlet et al., 2010). Esses dados sugerem que assim como a resposta inflamatória é importante para o desenvolvimento da MAH/PET, tem um papel proeminente na patogênese da periodontite que ocorre nos indivíduos infectados pelo HTLV-1 (Garlet et al., 2010).

No entanto, no presente estudo, mostramos que diferente do que foi observado em pacientes com MAH/PET, na periodontite, a carga pró-viral e a produção de citocinas pró-inflamatórias são similares àquelas observadas em portadores de HTLV-1. Além disso, também não encontramos uma associação de carga pró-viral e produção de citocinas pró-inflamatórias com a gravidade da periodontite.

A idade, o sexo e a rota da transmissão do HTLV-1 têm sido associados ao aparecimento de doenças associadas ao vírus (Souza et al.,2012; Gonçalves et al.,2010). A dermatite infecciosa é observada em crianças, mas não em adultos (Grenade et al.,1998; Nascimento et al., 2008). Alternativamente, a MAH/PET é mais frequente nas mulheres após na quinta década (Ribas et al., 2002), e está associada à transmissão por transfusão sanguínea (Carneiro-Proetti et al., 2002). Quando as variáveis demográficas e epidemiológicas foram comparadas entre os dois grupos, os pacientes com periodontite eram mais idosos do que aqueles sem periodontite. Na verdade, a periodontite é uma doença associada à idade (Hugoson et al., 1982; Burt, 1994; Grossi et al., 1995).

Existem características clínicas que podem facilitar o desenvolvimento da periodontite e outras consequências da lesão periodontal. Está documentado que uma má higiene bucal, o uso de próteses dentárias não adaptadas e o aumento da idade estão associados à doença periodontal, no entanto, por outro lado, o sangramento e a perda dentária são complicações da doença periodontal (Souza, 2014; Burt, 1994; Grossi et al., 1995).

A falta de associação entre os fatores de risco para doença periodontal entre pacientes infectados pelo HTLV-1 com ou sem doença periodontal sugere que a infecção pelo HTLV-1 é um importante fator associado à doença periodontal nessa população. É bem conhecida a importância da infecção causada por bactérias periodontopatogênicas como *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* na doença periodontal e em pacientes com HTLV-1 com periodontite essas bactérias são encontradas (Feng et al., 2006; Garlet. 2010).

O HTLV-1 aumenta a suscetibilidade a doenças infecciosas e não pode ser excluído que, além da resposta inflamatória causada pela infecção viral no periodonto, o HTLV-1 possa aumentar a suscetibilidade à infecção por essas bactérias.

A produção de moléculas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF, IFN- $\gamma$ , CXCL-9 e CXCL-10 é maior em pacientes com MAH/PET do que em portadores de HTLV-1 (Nishimoto et al., 1999; Goon et al., 2003; Guerreiro et al., 2006). Essas citocinas pró-inflamatórias também estão aumentadas no líquido do SNC de pacientes com MAH/PET, sugerindo a participação dessas citocinas na passagem das células infectadas através da barreira hematoencefálica e na lesão da medula espinhal (Goon et al., 2004). Expressão aumentada de IL-1 $\beta$  e IFN- $\gamma$  também foi documentada no periodonto de pacientes com periodontite, sugerindo a participação de citocinas pró-inflamatórias na patogênese da periodontite (Garlet et al., 2010). No entanto, nossa observação de que os níveis de citocinas em sobrenadantes de CMSP foram semelhantes em pacientes com e sem periodontite, sugere que a alta expressão de citocinas no tecido periodontal é devida à produção local dessas moléculas por células inflamatórias que migram do sangue para o periodonto.

O papel da carga pró-viral na patogênese da MAH/PET tem sido documentado (Nagai et al., 1998). O HTLV-1 ativa as células T e existe uma correlação direta entre a carga proviral e a produção de citocinas pró-inflamatórias (Espíndola et al., 2015). O aumento do número de células T ativas contribui para a passagem de células infectadas para o SNC, onde as células T CD8 + ativadas e as citocinas pró-inflamatórias medeiam o dano tecidual (Grant et al., 2002; Souza et al., 2012). A falta de associação entre carga pró-viral e periodontite, bem como a gravidade da periodontite em nosso estudo, indicam que a migração de células infectadas por vírus para o tecido periodontal não é dependente da carga pró-viral. Achados semelhantes foram documentados em pacientes

com síndrome de sicca associada ao HTLV-1 (Lima et al., 2016). Nesse caso, a proteína Tax do HTLV-1 é documentada em glândulas salivares (Mariette et al., 2000; Giozza et al., 2008) e há uma infiltração de linfócitos e destruição das glândulas salivares como observado na síndrome de Sjögren (Felberg et al., 2006). Nesses pacientes, a carga pró-viral do HTLV-1 é semelhante à observada nos portadores, mas é maior na saliva de indivíduos que desenvolveram MAH/PET (Lins et al., 2012). Isso argumenta a favor de que a migração de células infectadas pelo HTLV-1 para outros tecidos pode ocorrer na ausência de uma alta carga pró-viral e aumenta a possibilidade de que outros fatores possam influenciar a passagem de células infectadas para diferentes tecidos. Um estudo anterior mostrou que todos os pacientes com periodontite estão infectados com bactérias altamente associadas à periodontite. Nesse caso, não se pode descartar que a infecção bacteriana prévia tenha inicialmente causado a lesão que facilitou a migração de células infectadas pelo vírus para o periodonto, o que contribui para aumentar a resposta inflamatória e causar mais dano ao tecido.

A lesão tecidual no SNC na MAH/PET em indivíduos infectados pelo HTLV-1 é dependente da presença de células infectadas por vírus no tecido e da resposta inflamatória exagerada devido à infecção pelo HTLV-1 (Goon et al., 2004). Aqui mostramos que a carga pró-viral e citocinas pró-inflamatórias são semelhantes em indivíduos infectados com ou sem periodontite e não há relação entre essas variáveis com a gravidade da periodontite. Esses dados chamam a atenção para *insights* alternativos na patogênese de doenças relacionadas ao HTLV-1, sugerindo que a migração de células infectadas para o tecido-alvo pode ocorrer independentemente da carga pró-viral.

## **VIII. PERSPECTIVAS DE ESTUDO**

Aprofundar o conhecimento sobre a infecção pelo HTLV-1, mais especificamente com foco na doença periodontal para melhor caracterizar sua ocorrência e gravidade associada ao HTLV-1.

## **IX. CONCLUSÕES**

A falta de relação entre resposta inflamatória e carga pró-viral com doença periodontal associada ao HTLV-1 indica que outros fatores, além da carga pró-viral e da resposta imune, estão envolvidos na migração do HTLV-1 para o periodonto.

## X. SUMMARY

**Introduction:** HTLV-1 is associated with the occurrence of periodontitis. The reason why individuals infected by HTLV-1 develop periodontal disease is not known.

**Objectives:** To evaluate the association between proviral load and inflammatory cytokines and periodontal disease in HTLV-1 infection.

**Methods:** Cross-sectional study realized in the HTLV-1 Multidisciplinary Ambulatory of Professor Edgard Santos University Hospital Complex Immunology Service (Com-HUPES). The patients periodontium was evaluated by probing and we used the cytokine dosage and the latest proviral load registered in the database available in the Immunology Service Multidisciplinary Ambulatory (COM-HUPES).

**Results:** Eighty HTLV-1 infected subjects were included in this study and 40 patients presented periodontal disease and 40 subjects without periodontal disease. The median proviral load and interquartile range in subjects without and with periodontal disease were 14915.0 (IQ 1333.750-47195.900) and 18863.5 (IQ 1348.750-68631.250), respectively,  $p>0.5$ . The production of TNF in controls without periodontal disease was 17.0 pg and in patients with periodontal disease was 43.0 pg with  $p>0.5$ . The production of IFN was 362.5 pg and 885.0 pg respectively  $p>0.5$ . There hasn't also been difference related to the production of IL-10 and the occurrence of periodontal disease,  $p>0.5$ . It hasn't been observed difference between proviral load, IFN, TNF and IL-10 in relation to the periodontal disease gravity.

**Conclusion:** The lack of relationship between inflammatory response or proviral load with periodontal disease associated with HTLV-1 indicates that other factors in addition to pro-viral load and immune response are involved in the migration of HTLV-1 to the periodontium.

Key-words: 1. HTLV-1; 2. Periodontitis; 3. Cytokines; 4. Proviral load



## XI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anaimo J., Loe H. Anatomical characteristics of gingiva a clinical and microscopic study of the free and attached gingiva. *Journal of Periodontology*, v.37, n.1, p.5-13, 1966.

Albandar J M, Susin C, Hughes F J. Manifestations of systemic diseases and conditions that affect the periodontal attachment apparatus: Case definitions and diagnostic considerations. *J. Periodontol*, 89 Suppl 1:S183-S203, 2018.

Alhashimi N, Frithiof L, Brudvik P, Bakhiet M. Orthodontic tooth movement and de novo synthesis of proinflammatory cytokines. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.*, 119(3):307-12, 2001.

Araujo AQ, Alfonso CR, Schor D, Leite AC, Andrada-Serpa MJ. Clinical and demographic features of HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *Acta Neurol Scand*, Rio de Janeiro 88:59-62,1993.

Araujo AQ, Andrade-Filho AS, Castro-Costa CM, Menna-Barreto M, Almeida SM. HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis in Brazil: a nationwide survey. HAM/TSP Brazilian Study Group. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*, 19:536-41, 1998.

Bangham CRM, Osame, M. Cellular immune response to HTLV-1. *Oncogene*, 24(39): 6035–46, 2005.

Baratella M, Forlani G, Raval GU, Tedeschi A, Gout O, Gessain A, Tosi G, Accolla RS. Cytoplasmic localization of HTLV-1 HBZ protein: A biomarker of HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *PloS Neglected Tropical Diseases*, 11(1): e0005285, 2017.

Botero J E, Parra B, Jaramillo A, Contreras A. Subgingival human cytomegalovirus correlates with increased clinical periodontal parameters and bacterial coinfection in periodontitis. *J Periodontol*, 78(12):2303-10, 2007.

Billings M, Holtfreter B, Papapanou P N, Mitnik G L, Kocher T, Dye B A. Age-dependent distribution of periodontitis in two countries: Findings from NHANES 2009 to 2014 and SHIP-TREND 2008 to 2012. *J Clin Periodontol*, 20:130-148, 2018.

Bilichodmath S, Mangalekar SB, Sharma DC, Prabhakar AK, Reddy SB, Kalburgi NB, Patil SR, Bhat K. (2009). Herpesviruses in chronic and aggressive periodontitis patients in an Indian population. *Journal of Oral Science*, 51(1):79–86, 2009.

Burt BA. Periodontitis and aging: Reviewing recent evidence. *The Journal of the American Dental Association*, 125(3): 273-79, 1994.

Carneiro-Proietti AB, Ribas JG, Catalan-Soares BC, Martins ML, Brito-Melo GE, Martins-Filho AO, Pinheiro SR, Araújo Q, Galvão-Castro B, Oliveira MS, Guedes AC, Proietti FA. Infection and Disease Caused by the Human T cell Lymphotropic Viruses Type I ( HTLV-I/II) no Brasil. *Rev. Soc. Med. Trop.*, 35(5): 499-508, 2002.

Caskey M F, Morgan D J, Porto A F, Giozza S P, Muniz A L, Orge G O, Travassos M J, Barron Y, Carvalho E M, Glesby M J. Clinical manifestations associated with HTLV type I infection: A cross-sectional study. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 3: 365-371, 2007.

Catalan-Soares B, Carneiro-Proietti ABF, Proietti FA. Heterogeneous geographic distribution of human T-cell lymphotropic viruses I and II (HTLV-I/II): serological screening prevalence rates in blood donors from large urban areas in Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 21(3): 926–931, 2005.

Contreras A, Nowzari H, Slots J. Herpesviruses in periodontal pocket and gingival tissue specimens. *Oral Microbiology and Immunology*, 15(1):15–18, 2000.

Currer R, Van Duyne R, Jaworski E, Guendel I, Sampey G, Das R, Kashanchi F. HTLV tax: A fascinating multifunctional co-regulator of viral and cellular pathways. *Frontiers in Microbiology*, 3: 406, 2012.

Crotti T, Smith MD, Hirsch R, Soukoulis S, Weedon H, Capone M, Ahern MJ, Haynes D. Receptor activator NF KappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis. *J Periodontal Res*, 38(4): 380-7, 2003.

Claudino M, Trombone APF, Cardoso CR, Ferreira SB, Martins W, Assis GF, Garlet GF. The broad effects of the functional IL-10 promoter-592 polymorphism: modulation of IL-10, TIMP-3, and OPG expression and their association with periodontal disease outcome. *Journal of Leukocyte Biology*, 84(6):1565–73, 2008.

Chalabi M, Rezaie F, Moghim S, Mogharehabet A, Rezaei M, Mehraban B. Periodontopathic bacteria and herpesviruses in chronic periodontitis. *Mol Oral Microbiol.*, 25(3):236-40, 2010.

Champs AP, Passos VM, Barreto SM, Vaz LS, Ribas JG. HTLV-1 associated myelopathy: Clinical and epidemiological profile in a 10 Year case series study. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 43(6): 668-72, 2010.

Das S, Krithiga GSP, Gopalakrishnan S. Detection of human herpes viruses in patients with chronic and aggressive periodontitis and relationship between viruses and clinical parameters. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 16(2):203-209, 2012.

Dehée A, Césaire R, Désiré N, Lézin A, Bourdonné O, Béra O, Plumelle Y, Smadja D, Nicolas JC. Quantitation of HTLV-I proviral load by a TaqMan real-time PCR assay. *Journal of Virological Methods*, 102(1-2): 37-51, 2002.

Dourado I, Alcantara LC, Barreto ML, da Gloria Teixeira M, Galvão-Castro B. HTLV-1 in the general population of Salvador, Brazil A city with African ethnic and sociodemographic characteristics. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2003; 34: 527-531.

Domingues RB, Muniz MR, Pinho JR, Bassit L, Jorge ML, Alquezar AS. Human T lymphotropic virus type I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis in São Paulo, Brazil. *Clin. Infect. Dis.*, 20:1540-1542, 1995.

Espíndola OM, Oliveira LC, Ferreira PM, Leite AC, Lima MA, Andrada-Serpa MJ. High IFN- $\gamma$ /IL-10 Expression Ratio and Increased Frequency of Persistent Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1-Infected Clones Are Associated with Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis Development. *Intervirology*, 58:106–114, 2015.

Feuer G, Green PL. (2005). Comparative biology of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2. *Oncogene*, 24(39): 5996–6004, 2005.

Feng Z, Weinberg A. Role of bacteria in health and disease of periodontal tissues. *Periodontology 2000*, 40(1): 50–76, 2006.

Galvao-Castro B, Loures L, Rodrigues LG, Sereno A, Ferreira Junior OC, Franco LG, Muller M, Sampaio DA, Santana DA, Passos LM, Proietti F. Distribution of human T-lymphotropic virus type I among blood donors: a nationwide Brazilian study. *Transfusion*, 37(2): 242–43, 1997.

Garlet GP, Martins W, Fonseca BAL, Ferreira BR, Silva JS. (2004). Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 31(8), 671–679, 2004.

Garlet G P, Giozza S P, Silveira E M, Claudino M, Santos S B, Avila-Campos M J, Martins W, Cardoso R, Trombone A P F, Campanelli A P, Carvalho E M, Silva J S: Association of human T lymphotropic vírus I amplification of periodontitis severity with altered cytokine expression in response to a standard periodontopathogen infection. *Clin Infect Dis.*, 50:11-8, 2010.

Gessain A, Cassar O. Epidemiological Aspects and World Distribution of HTLV-1 Infection. *Frontiers in Microbiology*, 3: 388, 2012.

Gemmell E, Seymour GJ. Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontology 2000*, 35(1): 21–41, 2004.

Giozza SP, Santos SB, Martinelli M, Porto MA, Muniz AL, Carvalho EM. Salivary and lacrymal gland disorders and HTLV-1 infection. *Revue de Stomatologie et de Chirurgie Maxillo-Faciale*, vol. 109, no. 3, pp. 153–157, 2008.

Giozza SP. Manifestações orais: Aspectos clínicos e imunológicos em indivíduos portadores de HTLV-1, em Salvador, Bahia. Tese de titular. Universidade Federal da Bahia, 117p., 2006.

Gonçalves DU, Proietti FA, Ribas JGR, Araújo MG, Pineiro SR, Guedes AC, Carneiro-Proietti AB. Epidemiology, treatment and prevention of human T-cell leukemia virus type 1 associated diseases. *Clin. Microbiol. Rev*, 23(3): 577-89, 2010.

Goon PKC, Igakura T, Hanon E, Mosley AJ, Asquith B, Gould KG, Taylor GP, Weber JN, Bangham CR. High Circulating Frequencies of Tumor Necrosis Factor Alpha- and Interleukin-2-Secreting Human T-Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1)-Specific

CD4+ T-Cells in Patients with HTLV-1-Associated Neurological Disease. *J Virol.*, 77: 9716-22, 2003.

Gomes VE, Silva DD. A importância do controle de placa dental na clínica odontológica. *Arquivos em Odontologia*, v.46, n.1, 2010.

Graves DT, Cochran D. The Contribution of Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor to Periodontal Tissue Destruction. *Journal of Periodontology*, 74(3): 391–401, 2003.

Grant C, Barmak K, Alefantis T, Yao J, Jacobson S, Wigdahl B. Human T cell leukemia virus type I and neurologic disease: Events in bone marrow, peripheral blood, and central nervous system during normal immune surveillance and neuroinflammation. *Journal of Cellular Physiology*, 190: 133-59, 2002.

Grossi SG, Genco RJ, Machtei EE, Ho AW, Koch G, Dunford R, Zambon JJ, Hausmann E. Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicators for alveolar bone loss. *J Periodontol*, 66(1): 23-9, 1995.

Guerreiro JB, Santos SB, Morgan DJ, Porto AF, Muniz AL, HO JL, Teixeira AL, Teixeira MM, Carvalho EM. Levels of serum chemokines discriminate clinical myelopathy associated with human T lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) disease from HTLV-1 carrier state. *Clin. Exp. Immunol.*, 145: 296-301, 2006.

Highfield J. Diagnosis and Classification of Periodontal Disease. *Aust Dent J.*, 1:11-26, 2009.

Hugoson A, Jordan T. Frequency distribution of individuals aged 20-70 years according to severity of periodontal disease. *Community Dent. Oral Epidemiol.*, 10: 182-192, 1982.

Idesawa M, Sugano N, Ikeda K, Oshikawa M, Takane M, Seki K, Ito K. (2004). Detection of Epstein-Barr virus in saliva by real-time PCR. *Oral Microbiology and Immunology*, 19(4): 230–32, 2004.

Jeffery KJ, Usuku K, Hall SE, Matsumoto W, Taylor GP, procter J, Bunce M, Ogg GS, Welsh JN, Lloyd AL, Nowak MA, Nagai M, Kodama D, Izumo S, Osame M, Bangham CR. HLA Alleles Determine Human T-Lymphotropic Virus-I (HTLV-I) Proviral Load and the Risk of HTLV-I-Associated Myelopathy. *Immunology*, 96: 3848– 53, 1999.

Kamma JJ, Contreras A, Slots J. Herpes viruses and periodontopathic bacteria in early-onset periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 28(9): 879–85, 2001.

Klemenc P, Skalerič U, Artnik B, Nograšek P, Marin J. Prevalence of some herpesviruses in gingival crevicular fluid. *Journal of Clinical Virology*, 34(2): 147–152, 2005.

Kinane DF, Hart TC. (2003). Genes and Gene Polymorphisms Associated with Periodontal Disease. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 14(6), 430–49, 2003.

Kitagawa, T. (1986). Antibodies to HTLV-I in Japanese Immigrants in Brazil. *The Journal of the American Medical Association*, 256(17):2342, 1986.

Kiyokawa T, Seiki M, Iwashita S, Imagawa K, Shimizu F, Yoshida M. P27x-III and p21x-III, Proteins Encoded by the pX Sequence of Human T-Cell Leukemia Virus Type I. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 82(24): 8359-63, 1985.

Kook SH, Jang YS, Lee JC. Human periodontal ligament fibroblasts stimulate osteoclastogenesis in response to compression force through TNF- $\alpha$ -mediated activation of CD4+ T cells. *J Cell Biochem.*, 112(10): 2891-901, 2011.

La Grenade L, Manns A, Fletcher V, Carberry C, Hanchard B, Maloney EM, Cranston B, Williams NP, Wiks R, Kang EC, Blattner W. Clinical, pathologic and immunologic features of human T-lymphotropic virus 1 associated infective dermatitis in children. *Arch Dermatol*, 134: 439-44, 1998.

Lins L, Carvalho V J U, Rego F F A, Avezedo R, Kashima S, Gallazi V N O, Xavier M T, Galvão-Castro B, Alcantara L C J : Oral Health Profile in Patients Infected With HTLV-1: Clinical Findings, Proviral Load, and Molecular Analysis from HTLV-1 in Saliva. *Journal of Medical Virology*, 84: 1428-14, 2012.

Lindhe J., Lang N. P., Karring T. Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral. 5.ed. Rio de Janeiro: *Guanabara Koogan*, 1304p., 2010.

Lima CM, Santos S, Dourado A, Carvalho NB, Bittencourt V, Lessa MM, Siqueira I, Carvalho EM: Association of Sicca Syndrome With Proviral Load and Proinflammatory Cytokines in HTLV-1 Infection. *Journal of Immunology Research*, Article ID 8402059, 6 pages, 2016.

Listgarten MA, Hellden L. Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans. *J Clin Periodontol.* May;5(2):115-32, 1978.

Lopes MS, Carneiro-Proietti A. Transfusion-transmitted HTLV-1/2 and hemovigilance: the contribution of look-back studies. *Rev. Bras. Hematol. e Hemoter*, 30(3), 2008.

Mariette X, Agbalika F, Zucker-Franklin D, Clerc D, Janin A, Cherot P, Brouet JC. Detection of the tax gene of HTLV-I in labial salivary glands from patients with Sjögren's syndrome and other diseases of the oral cavity. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 18(3): 341-7, 2000.

Mogi M, Otogoto J, Ota N, Togari A. Differential expression of RANKL and osteoprotegerin in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. *Journal of Dental Research*, 83(2): 166–169, 2004.

Moreno-Carvalho OA, Santos JI, Di Credico G, Galvão-Castro B. Evidence of preferential female prevalence of HTLV-I associated tropical spastic paraparesis in Bahia-Brazil. *Arq Neuropsiquiatr*, 50:183-88, 1992.

Moxoto I, Boa-Sorte N, Nunes C, Mota A, Dumas A, Dourado I et al. Perfil sociodemográfico, epidemiológico e comportamental de mulheres infectadas pelo HTLV-1 em Salvador-Bahia, uma área endêmica para o HTLV. *Rev Soc Bras Med Trop*, 40: 37-41, 2007.

Nagai M, Usuku K, Matsumoto W, Kodama D, Takenouchi N, Moritoyo T, Hashiguchi S, Ichinose M, Bangham C, Izumo S, Osame M. Analysis of HTLV-I proviral load in 202 HAM/TSP patients and 243 asymptomatic HTLV-I carriers: high proviral load strongly predisposes to HAM/TSP. *Journal of Neurovirology*, 4(6): 586-93, 1998.

Nascimento MCF, Primo J, Bittencourt A, Siqueira I, Fátima Oliveira M, Meyer R, Schiefer A, Santos SB, Carvalho EM: Infective Dermatitis Has Similar Immunological Features To Human T Virus-Type 1 Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis. *Clinical and Experimental Immunology*, 2008.

Nishimoto N et al. Elevated Levels of Interleukin-6 in Serum and Cerebrospinal Fluid of HTLV-I-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis. *J Neurol Sci*. 1999; 97: 183-93.

Osame M, Usuku K, Izumo S, Nijichi, Amitani H, Igata A, Matsumoto M, Tara M. HTLV-1 Associated Myelopathy, a New Clinical Entity. *Lancet*, 1: 1031-32, 1986.

Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *The Lancet*, 366(9499): 1809–20, 2005.

Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology 2000*, 14(1), 216–248, 1997.

Poiesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, Bunn PA, Minna JD, Gallo RC. Detection and isolation of type retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous t-cell lymphoma. *Proc Natl AcadSci USA*, 77:7415-7419, 1980.

Ribas JGR, Melo GCN. Human T-cell lymphotropic virus type 1(HTLV-1)-associated myelopathy. *Rev Soc Bras Med Trop*, 35:377-384, 2002.

Santos BS, Porto AF, Muniz AL, de Jesus AR, Magalhães E, Dutra WO, Gollob KJ, Carvalho EM. Exacerbated inflammatory cellular immune response characteristics of HAM/TSP is observed in a large proportion of HTLV-1 asymptomatic carriers. *BMC Infect Dis.*, 4:7, 2004.

Santos SB, Porto AF, Muniz AL, Luna T, Nascimento MC, Guerreiro JB, Oliveira-Filho J, Morgan DJ, Carvalho EM. Modulation of T responses in HTLV-1 carriers and in patients with myelopathy associated with HTLV-1. *Neuroimmunomodulation*, 13: 145-51, 2006.

Santos BS, Oliveira P, Luna T, Souza A, Nascimento M, Siqueira I, Tanajura D, Muniz AL, Glesby MJ, Carvalho EM : Immunological and viral features in patients with overactive bladder associated with human T-cell lymphotropic virus type1 infection. *J Med Virol.*, 84(11): 1809–817, 2012.

Saygun I, Kubar A, Ozdemir A, Yapar M, Slots J. Herpesviral-bacterial interrelationships in aggressive periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 39(4): 207–12, 2004.

Saygun I, Kubar A, Sahin S, Sener K, Slots J. Quantitative analysis of association between herpesviruses and bacterial pathogens in periodontitis. *J Periodontal Res.*, 43(3):352–9, 2008.

Seiki M, Hattori S, Hirayama Y, Yoshida M. (1983). Human adult T-cell leukemia virus: complete nucleotide sequence of the provirus genome integrated in leukemia cell DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 80(12): 3618–622, 1983.

Souza A, Tanajura D, Toledo-Cornell C, Santos S, Carvalho EM. Immunopathogenesis and Neurological Manifestations Associated to HTLV-1 Infection. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 45: 545-52, 2012.

Pereira KC,Souza AB. Efeitos deletérios da prótese parcial removível em pacientes periodontais. *Revista Uningá* vol 20, 113-18, 2014.

Socransky SS. Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease. *J Dent Res.* 49(2):203-22, 1970.

Slots J, Kamma JJ, Sugar C. The herpesvirus-Porphyrromonas gingivalis-periodontitis axis. *Journal of Periodontal Research*, 38(3): 318–23, 2006.

Slot J, Saygun I, Sabeti M, Kubar A. Epstein-Barr virus in oral diseases. *Journal of Periodontal Research*, 41(4): 235–44, 2006.

Slots J (2007). Herpesviral–bacterial synergy in the pathogenesis of human periodontitis. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 20(3): 278–83, 2007.

Smith M, Seymour GJ, Cullinan MP. Histopathological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontology 2000*, 53(1), 45–54, 2010.

Starling ALB, Martins-Filho OA, Lambertuci JR, Labanca L, Pereira SRS, Teixeira-Carvalho A, Martins ML, Ribas JG, Carneiro-Proetti ABF, Gonçalves DU: Proviral load and the balance of serum cytokines in HTLV-1 asymptomatic infection and in HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *Acta Tropica*, 75-81, 2013.

Steffens JP, Marcantonio AC. Classificação das doenças e condições periodontais e peri-implantares 2018: guia prático e pontos-chave 2018 classification of periodontal and periimplantar diseases and conditions: a practical guide and key points . *Rev Odontol UNESP*, 47(4): 189-97, 2018.

Tannus M, Costa TD, Castro NM, Oliveira P, Carvalho N, Andrade R, Santos S, Carvalho: Immunologic Response and Proviral Load in Human T-lymphotropic Virus Type 1 Infected Individuals With Erectile Dysfunction. *Urology*, 1261-64, 2013.

Tonetti MS, Eickholz P, Loos BG, Papapanou P, van der Velden U, Armitage G, Suvan JE. (2015). Principles in prevention of periodontal diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, 42: 5–11, 2015.

Vieira TR, Péret AC, Péret-Filho LA. Periodontal Problems Associated With Systemic Diseases in Children and Adolescents. *Rev. Paul. Pediatr*, 28:237-43, 2010.

Yakova M, Lézin A, Dantin F, Lagathu G, Olindo S, Jean-Baptiste G, Arfi S, Césarie R. Increased Proviral Load in HTLV-1 Infected Patients with Rheumatoid Arthritis or Connective Tissue Disease. *Retrovirology*, 2:4, 2005

Watanabe SA, Correia-Silva JF, Horta MCR, Costa JE, Gomez RS. EBV-1 and HCMV in aggressive periodontitis in Brazilian patients. *Brazilian Oral Research*, 21(4): 336–41, 2007.