



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA**  
**Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde**



**Manifestações clínicas e resposta imune em uma coorte de indivíduos infectados pelo HTLV-1 com alta carga proviral e sem evidência de mielopatia**

**Sheila Nunes Ferraz**

**Dissertação de mestrado**

**Salvador (Bahia), 2019**

F 381 Nunes Ferraz, Sheila

Manifestações clínicas e resposta imune em uma coorte de indivíduos infectados pelo HTLV-1 com alta carga proviral e sem evidência de mielopatia / Sheila Nunes Ferraz. -- Salvador, 2019. 133 f.

Orientador: Edgar Marcelino de Carvalho Filho.  
Dissertação (Mestrado - Pós-graduação em Ciências da Saúde) -- Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Medicina da Bahia, 2019.

1. HTLV-1. 2. Carga proviral. 3. Carreadores de HTLV-1. 4. Mielopatia associada ao HTLV-1. I. Marcelino de Carvalho Filho, Edgar. II. Título.

CDU: 616.98



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA**  
Fundada em 18 de fevereiro de 1808  
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde



Manifestações clínicas e resposta imune em uma coorte de indivíduos infectados pelo HTLV-1 com alta carga proviral e sem evidência de mielopatia

Sheila Nunes Ferraz

Edgar M. 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 obtenção do grau de **Mestre** em Ciências da Saúde.

## COMISSÃO EXAMINADORA

### **Membros Titulares:**

Prof. Dr. Davi Tanajura Costa – Médico neurologista. Doutor em Ciências da Saúde. Professor Adjunto da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB).

Prof. Dr. Antonio de Souza Andrade Filho – Médico neurologista. Doutor em Medicina com área de concentração em neurologia. Professor da Universidade Federal da Bahia (UFBA) e aposentado da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.

Prof. Dr. Edgar Marcelino de Carvalho Filho – Professor Titular Aposentado da Universidade Federal da Bahia e da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública. Professor Adjunto do Weill Cornell Medical College e University of Iowa. Doutor em Medicina e Saúde. Pós-doutor em Imunologia.

### **Membro suplente:**

Profa. Dra. Maria Olívia Amado Ramos Bacellar – Professora Permanente dos Programas de Pós-Graduação em Imunologia (PPGIIm) e de Ciências da Saúde (PPgCS), UFBA, de Parasitologia da Universidade Estadual de Feira de Santana. Doutora em Imunologia.

*“Ainda há gente lá fora, gente que vê.”*

José Saramago, em Ensaio Sobre a Cegueira

**Aos meus pais Euvaldo e Gessi**

**Ao meu esposo Maurício**

## **EQUIPE**

Cassius José Vitor de Oliveira, Urologista

Cristiano Sampaio, secretário

Edgar M. De Carvalho, imunologista, reumatologista

Eugenia Maria T. A. Campos, reumatologista

Gabriela F. Costa, estudante de graduação de medicina

Glória Orge, psicóloga e bioquímica

Huliana Mourão Carvalho, dentista

José Abraão Neto, urologista

Lívia Alves Oliveira, bióloga

Lúcia Passos, enfermeira

Mariele Guerra, bióloga

Orlando Mário Sanches, técnico de laboratório

Paulo Lessa, gerente de projetos

## **INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES**

- UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
  - Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos (COM-HUPES) - Serviço de Imunologia (SIM)



## **FONTES DE FINANCIAMENTO**

- Ministério da Educação, Governo Federal do Brasil.
  - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)
    - Instituto Nacional de Ciências e Tecnologia em Doenças Tropicais (INCT-DT) número do projeto 573839/2008-5
  - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Edgar M. de Carvalho, pela paciência e ensinamentos, por ter me despertado o interesse em pesquisa científica.

Aos colegas Cassius de Oliveira, José Abraão e Eugenia Campos, pela parceria e companheirismo.

A Glória Orge e Lúcia Santos pelos cuidados com os pacientes do ambulatório de HTLV-1.

Aos funcionários do Serviço de Imunologia (SIM), em especial os diretamente envolvidos com o projeto de pesquisa do HTLV-1.

Aos pacientes do ambulatório de HTLV-1.

## ÍNDICE

Índice de Tabelas e Figuras.....	3
I. Resumo.....	4
II. Objetivos.....	5
III. Introdução.....	6
IV. Revisão de literatura.....	8
Aspectos gerais.....	8
Imunopatogênese da infecção pelo HTLV-1.....	9
Leucemia /linfoma de células T do adulto.....	11
Mielopatia associada ao HTLV-1.....	12
Bexiga neurogênica e disfunção erétil.....	15
Outras manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1.....	15
Artropatia associada ao HTLV-1.....	18
Manifestações orais da infecção pelo HTLV-1.....	19
Outras doenças associadas ao HTLV-1.....	19
V. Materiais e Métodos.....	21
Desenho do estudo.....	21
Amostra estudada.....	21
Critérios de inclusão e exclusão.....	22
Coleta de dados e avaliação clínica.....	24
Determinação da carga proviral.....	24
Detecção da produção de citocinas.....	25
Análise estatística.....	25
Ética em pesquisa.....	26
VI. Resultados.....	27
VII. Discussão.....	39
VIII. Conclusão.....	47
IX. <i>Summary</i> .....	48
X. Referências bibliográficas.....	49
XI. Anexos.....	66
Anexo I - Questionário de admissão na coorte.....	66
Anexo II - Questionário de retorno na coorte.....	80
Anexo III - Escala de incapacidade funcional.....	92

Anexo IV - Escala de incapacidade motora de OSAME.....	98
Anexo V - Parecer da CONEP e aprovação do projeto.....	99
Anexo VI – Artigo para publicação.....	100

## ÍNDICE DE TABELAS E FIGURAS

### TABELAS E QUADROS:

Quadro 1. Novos critérios diagnósticos propostos para HAM/TSP (2006) .....	13
Tabela 1 - Características Demográficas, Aspectos Epidemiológicos e Clínicos em Indivíduos Infectados pelo HTLV-1 sem HAM/TSP Classificados de acordo com a Carga Proviral.....	27
Tabela 2. Análise Comparativa de Indivíduos Portadores de HTLV-1 com Alta e Baixa Carga Proviral por Ocasão da Admissão e na Última Avaliação.....	29
Tabela 3: Análise Comparativa entre a Carga Proviral Basal e na Última Avaliação no Grupo de Casos e Controles.....	30

### DIAGRAMA DE FLUXO:

Diagrama de fluxo 1: População estudada.....	23
----------------------------------------------	----

### FIGURAS:

Figura 1: O complexo neurológico do HTLV-1: o modelo do iceberg.....	16
Figura 2a-c. Concentração de citocinas em sobrenadantes de culturas de células mononucleares não estimuladas de portadores de HTLV-1 com alta e baixa carga proviral por ocasião da admissão no estudo e na última avaliação.....	32
Figura 3a-d: Correlação de Spearman entre as citocinas interferon- $\gamma$ e TNF nos indivíduos com alta e baixa carga proviral por ocasião da admissão e na avaliação final.....	34
Figura 4a-d: Correlação de Spearman entre as citocinas IL-10 e TNF nos indivíduos com alta e baixa carga proviral por ocasião da admissão e na avaliação final.....	35
Figura 5a-d: Correlação de Spearman entre as citocinas IFN- $\gamma$ e IL-10 nos indivíduos com alta e baixa carga proviral por ocasião da admissão e na avaliação final.....	36
Figura 6: Correlação de Spearman entre IFN- $\gamma$ , TNF e a carga proviral nos indivíduos com alta e baixa carga proviral na avaliação final.....	37
Figura 7: Curvas de Kaplan-Meier para os principais sintomas nos indivíduos infectados pelo HTLV-1, conforme carga proviral na admissão.....	38

## I. RESUMO

**Introdução.** A mielopatia associada ao vírus linfotrópico de células T humanas do tipo 1 (HTLV-1) (HAM/TSP) é a principal doença neurológica causada pelo HTLV-1, mas outras manifestações clínicas associadas ao vírus estão documentadas em mais de 50% dos indivíduos infectados. Uma alta carga proviral (CPV) é um importante fator de risco para HAM/TSP, mas há uma falta de estudos prospectivos avaliando se os portadores de HTLV-1 com alta carga proviral estão em risco de desenvolver HAM/TSP ou outras doenças relacionadas ao HTLV-1. Neste estudo comparamos a incidência de manifestações clínicas e as concentrações de citocinas nos indivíduos portadores de HTLV-1 com alta e baixa carga proviral. **Métodos.** Trata-se de um estudo de coorte no qual participaram do estudo 30 portadores de HTLV-1 com alta CPV ( $> 50.000$  cópias /  $10^6$  células) e igual número de sujeitos com CPV menor que  $50.000$  cópias /  $10^6$  células, pareados por sexo e idade ( $\pm 5$  anos). Eles foram seguidos por 2 a 16 anos (mediana de 11 anos). A CPV foi medida por PCR em tempo real e a produção de IFN- $\gamma$ , TNF e IL-10 foi quantificado por ELISA em sobrenadantes de células mononucleares não estimuladas. Anormalidades no exame neurológico, desenvolvimento de HAM/TSP, disfunção urinária, doença periodontal, disfunção erétil e o aparecimento de síndrome seca foram registradas anualmente. **Resultados.** Entre os sintomas auto-reportados na avaliação inicial, apenas a presença de parestesias em mãos foi mais frequente no grupo de indivíduos com alta CPV quando comparados com o grupo controle ( $p 0,04$ ). Durante o acompanhamento, não houve diferença na ocorrência de disfunção erétil ou urinária, doença periodontal, síndrome seca, sinais neurológicos entre os dois grupos e nenhum dos pacientes desenvolveu HAM/TSP. A produção de IFN- $\gamma$  foi maior no grupo com alta CPV (mediana  $1.308$  versus  $686$ pg/ml,  $p < 0,011$ ) quando comparado ao grupo controle na primeira avaliação. Durante o seguimento houve uma diminuição na carga proviral apenas entre os casos. **Conclusão.** Indivíduos com alta carga proviral acompanhados por um longo período não progrediram para HAM/TSP, nem desenvolveram outras manifestações clínicas relacionadas ao HTLV-1, indicando que outros fatores além da carga proviral estão envolvidos na passagem de células infectadas pelo HTLV-1 do sangue para o sistema nervoso central.

Palavras-chave: mielopatia associada ao HTLV-1; HTLV-1; carga proviral; portadores de HTLV-1; mielopatia

## II. OBJETIVOS

### *Principal*

- Determinar a incidência de manifestações clínicas e neurológicas em uma coorte de indivíduos infectados pelo HTLV-1 sem HAM/TSP comparando portadores de alta e baixa carga proviral.

### *Secundários*

- Determinar a frequência de outras doenças associadas ao HTLV-1 (síndrome seca, doença periodontal, artropatia) em indivíduos sem HAM/TSP com alta e baixa carga proviral
- Comparar a produção de citocinas em sobrenadantes de células mononucleares de sangue periférico (CMSP) em portadores de HTLV-1 com alta e baixa carga proviral
- Correlacionar a carga proviral com a produção de citocinas pró-inflamatórias em portadores de HTLV-1

### III. INTRODUÇÃO

O vírus linfotrópico de células T humanas do tipo 1 (HTLV-1) foi o primeiro retrovírus a ser descrito, identificado em 1980 (POIESZ et al., 1980), e é o agente etiológico da leucemia/linfoma de células T do adulto e da mielopatia associada ao HTLV-1 ou paraparesia espástica tropical (HAM/TSP) (MAHIEUX; GESSAIN, 2009; MARTIN et al., 2016; OSAME et al., 1986). As principais áreas endêmicas são o sudoeste do Japão, ilhas do Caribe, África intertropical, Oriente Médio e América do Sul, incluindo especialmente o Brasil, a Colômbia e Guiana Francesa (GESSAIN; CASSAR, 2012). Salvador é dentre as capitais dos estados brasileiros a que tem maior prevalência da infecção viral (GALVÃO-CASTRO B et al., 1997).

O vírus HTLV-1 infecta preferencialmente células T CD4, mas também é encontrado em células T CD8, células B e células dendríticas (BANGHAM, 2018; MARTIN et al., 2016). A infecção pelo HTLV-1 ativa genes que induzem a proliferação e ativação de células com produção exagerada de citocinas pró-inflamatórias como TNF, IFN- $\gamma$ , CXCL-9 e CXCL-10. A elevação da carga proviral e a resposta inflamatória exacerbada são considerados os principais biomarcadores da HAM/TSP (OLINDO et al., 2006; SANTOS et al., 2012) e esses pacientes têm habitualmente carga proviral acima de 50.000 cópias por  $10^6$  células (GRASSI et al., 2011).

A HAM/TSP se caracteriza por uma paraparesia espástica lentamente progressiva, bexiga neurogênica e sinais sensoriais menos visíveis. Outros sintomas comumente relatados são dor lombar, constipação, parestesias nos membros inferiores e síndrome seca (ARAÚJO et al., 2009; CASKEY et al., 2008). Virtualmente todos os pacientes com HAM/TSP tem bexiga neurogênica, mas as disfunções urinárias - principalmente de bexiga hiperativa - ocorrem em cerca de 20% de indivíduos infectados pelo HTLV-1 sem HAM/TSP (CASTRO et al., 2007). A disfunção erétil também é observada em mais de 50% dos indivíduos infectados pelo vírus (DE OLIVEIRA et al., 2017). Além das doenças citadas, indivíduos infectados pelo HTLV-1 têm mais periodontite crônica, síndrome seca e artropatia do que indivíduos soronegativos (LIMA et al., 2016; MOTOKAWA et al., 1996).



Estudos prévios realizados com indivíduos com HTLV-1, sem mielopatia associada, comparados com controles soronegativos mostraram que os indivíduos com HTLV-1 tiveram maior frequência de sintomas neurológicos, como fraqueza em membros inferiores, hiperreflexia e alteração da sensibilidade vibratória, do que os não infectados. Sintomas urinários também foram mais prevalentes em grupos de HTLV-1. Foi também documentado que muitos indivíduos que não preenchem os critérios para HAM/TSP apresentam queixas neurológicas relacionadas às manifestações sensoriais, motoras, urinárias ou autonômicas. Todavia, nesses estudos a carga proviral não foi estabelecida (BISWAS et al., 2009; CASKEY et al., 2008).

Habitualmente em indivíduos infectados pelo HTLV-1 que apresentam outras doenças associadas ao vírus, a carga proviral está elevada ou o vírus é encontrado no tecido comprometido, dando apoio ao importante papel da carga proviral e da passagem de vírus para os tecidos como fatores de risco para um portador passar a apresentar doença. Entretanto, uma taxa significativa de portadores mantém altos níveis de carga proviral por um longo período sem apresentar mielopatia associada ao HTLV-1 (MARTINS et al., 2017). Todavia, nesse estudo não foram apresentados dados de sintomas ou sinais neurológicos, não há informação sobre a existência de outras doenças associadas ao HTLV-1, não foi realizada a avaliação da resposta imune e não teve um grupo comparativo de indivíduos com baixa carga proviral.

Nosso estudo tem como objetivo determinar a incidência de doenças associadas ao HTLV-1 em portadores do vírus com alta e baixa carga proviral.

## IV. REVISÃO DE LITERATURA

### *Aspectos gerais*

O HTLV pertence à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae* e ao gênero *Deltaretrovirus* (GESSAIN; MAHIEUX, 2012). Existem quatro principais subtipos do HTLV-1 cujas origens parecem estar ligadas a episódios de transmissão interespecíes entre macacos infectados pela sua contraparte símia e humanos, seguido por período variável de evolução no hospedeiro humano (MAHIEUX; GESSAIN, 2009). O HTLV-2, o segundo membro do tipo HTLV, descoberto logo após o HTLV-1, é muito menos patogênico, com relatos de apenas alguns casos de doença neurológica e de leucemia de células pilosas com a infecção (FEUER; GREEN, 2005). Dois novos vírus, HTLV-3 e HTLV-4, foram isolados na África Central (CALATTINI et al., 2005; MAHIEUX; GESSAIN, 2005), mas ainda não foi demonstrada transmissão entre humanos e não foram, até o presente momento, associados a doenças (ANYANWU et al., 2018).

A estrutura morfológica do HTLV-1 é semelhante a outros retrovírus; o capsídeo contém duas cadeias simples de RNA juntamente com as enzimas integrase e transcriptase reversa, importantes para a inserção do vírus no genoma do hospedeiro. O genoma do vírus contém genes estruturais e funcionais, como *gag*, *pro/pol* e *env* (QUARESMA et al., 2015), e possui importantes genes regulatórios como Tax e HBZ. O HBZ atua tanto no nível do RNA quanto no nível da proteína para promover a proliferação da célula infectada e se opor a muitas das ações do Tax (BANGHAM et al., 2015).

O HTLV-1 é endêmico na América do Sul, presente em todos os 13 países e prevalente em todas as populações étnicas (PAIVA; CASSEB, 2015). Localizada na região nordeste do Brasil, Salvador é considerada um epicentro da infecção pelo HTLV-1 no país, com prevalência acima de 1% na população geral (DOURADO et al., 2003). Com o objetivo de esclarecer a origem do HTLV-1 em Salvador, Galvão-Castro e colaboradores analisaram sequências da longa região de repetição terminal de isolados provenientes de indivíduos nascidos nesta cidade, todos classificados como o subtipo cosmopolita subgrupo A, Transcontinental. Um único isolado, foi classificado como subgrupo Japonês (GALVÃO-CASTRO B et al, 2009).

Certas características da epidemiologia do HTLV-1 são consistentemente observadas em diferentes populações (BANGHAM et al., 2015). A prevalência em adultos aumenta progressivamente com a idade e é maior em mulheres que em homens (MURPHY et al., 1991; NUNES et al., 2017). Em crianças aumenta até os 2 anos de idade e, após, permanece estável até a puberdade (ANDO et al., 2003).

A transmissão do HTLV-1 ocorre predominantemente por via vertical (mãe a filho, principalmente por amamentação), parenterais e sexuais, incluindo transfusão de sangue ou compartilhamento de agulhas / seringas (BANGHAM et al., 2015; NUNES et al., 2017; RIBEIRO et al., 2018). Em muitos países em desenvolvimento ainda existe um alto risco residual de transmissão por transfusão, principalmente onde essa infecção é endêmica (RIBEIRO et al., 2018). Estudo realizado por Nunes e colaboradores indica que a principal via de transmissão em Salvador é a sexual (NUNES et al., 2017).

### ***Imunopatogênese da infecção pelo HTLV-1***

O HTLV-1 tem tropismo por células T CD4+, mas também pode infectar linfócitos T CD8+, células B e células dendríticas (BANGHAM, 2018); gera uma resposta predominante do tipo 1, com produção elevada de fator de necrose tumoral (TNF) e interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) (CARVALHO et al., 2001). Essa produção de citocinas é vista tanto em indivíduos com doença associada ao vírus quanto nos assintomáticos (SANTOS et al., 2004). Quando comparadas com indivíduos soronegativos, células mononucleares de portadores do vírus produzem concentração elevada de IL-5, uma citocina Th2, e da citocina regulatória, a IL-10. A alta produção de IL-10 em indivíduos assintomáticos se correlaciona com a produção de citocinas inflamatórias do tipo Th1, sugerindo uma tentativa da IL-10 em modular a resposta imune e impedir o aparecimento da doença associada a resposta inflamatória exacerbada (CARVALHO et al., 2001).

Na leucemia/linfoma de células T do adulto (ATL) a leucemogênese consiste em várias etapas e é multifatorial. Mecanismos suspeitos de desempenhar um papel na leucemogênese induzida pelo HTLV-1 incluem regulação de numerosos micro-RNAs, expressão diferencial de mRNA, alterações de sinalização celular, mutações somáticas, aneuploidia ou desregulação epigenética (BANGHAM, 2018). A proteína viral *tax* é

considerada a principal indutora das etapas iniciais da oncogênese nessa infecção, pois estimula a proliferação e inibe a apoptose da célula infectada (MATSUOKA, 2005).

Na HAM/TSP a presença de infiltrado linfocitário nas lesões do sistema nervoso central (SNC) sugere que a resposta inflamatória ou imune ao HTLV-1 provoca o dano tecidual observado (BANGHAM et al., 2015). Além da presença de infiltrados perivasculares focais de células mononucleares no SNC, a neuropatologia envolve a desmielinização e perda neuronal (BANGHAM, 2018). Células T CD4 +, T CD8 + e macrófagos estão distribuídas uniformemente em lesões inflamatórias ativas de pacientes com curta duração da doença. Por outro lado, nas lesões inativas-crônicas, há predomínio de células T CD8 + sobre as células T CD4 + de pacientes com maior tempo de doença (IZUMO, 2010). Os mecanismos de dano tecidual na HAM/TSP não são totalmente compreendidos (BANGHAM, 2018).

Existem três hipóteses principais sobre a patogênese da doença: a primeira, por citotoxicidade direta, no qual as células gliais infectadas seriam destruídas pela ação de células T citotóxicas CD8 + (ARAUJO; SILVA, 2006); a segunda hipótese, denominada de autoimune, que aponta para o mimetismo de antígenos celulares (LEVIN et al., 2002); a terceira e última hipótese, a mais aceita, também denominada de dano circundante ou “bystander” envolveria os linfócitos T CD4+ infectados e os linfócitos T CD8+ específicos para a proteína viral *Tax*, que produziriam grande quantidade de citocinas pró-inflamatórias, após passarem a barreira hematoencefálica, levando a um processo de intensa inflamação e destruição tecidual (IJICHI et al., 1993; OSAME, 2002). Foi também documentado recentemente como as células ativadas atravessam a barreira hematoencefálica. Após a infecção das células da glia pelo HTLV-1 há uma grande produção de CXCL-10 que se liga ao receptor CXCR-3 expresso em linfócitos e monócitos levando a passagem dessas células em grande quantidade para SNC. O acúmulo local de células T infiltrantes no SNC estabelece um ninho de inflamação autoperpetuante culminando na degeneração dos neurônios próximos. Assim, a HAM/TSP representaria uma consequência patológica das interações que ocorrem entre o sistema imune e o SNC (ANDO et al., 2013).

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

A ATL é uma neoplasia maligna de linfócitos T maduros causada pelo HTLV-1 e está associada a um mau prognóstico (PHILLIPS; HAREWOOD, 2018; UTSUNOMIYA et al., 2015). Foi inicialmente descrita no Japão em 1977 como uma neoplasia distinta de células T (UCHIYAMA et al., 1977), sendo posteriormente relacionada ao HTLV-1 (POIESZ et al., 1980). O risco de desenvolvimento de ATL ao longo da vida em portadores de HTLV-1 é de apenas 3% a 5% e a alta carga proviral parece ser um fator de risco independente (DEMONTIS; HILBURN; TAYLOR, 2013; ISHITSUKA; TAMURA, 2014). A apresentação clínica pode variar entre os indivíduos, mas tipicamente está associada a células leucêmicas circulantes, hepatoesplenomegalia, linfadenopatia, lesões cutâneas, hipercalcemia e infecções oportunistas por *Pneumocystis jirovecii*, candida, citomegalovírus e *Strongyloides stercoralis* (HERMINE; RAMOS; TOBINAI, 2018; ISHITSUKA; TAMURA, 2014).

As formas clínicas do ATL caracterizam-se em quatro subtipos (agudo, linfomatosa, crônico e indolente [*smoldering*]) de acordo com a manifestação leucêmica no sangue, envolvimento de órgãos, níveis séricos de lactato desidrogenase (LDH) e níveis séricos de cálcio corrigidos (SHIMOYAMA, 1991). As estratégias de tratamento são baseadas principalmente no tipo de doença, juntamente com a resposta inicial ao tratamento e outros fatores prognósticos. Em geral, as opções atuais de tratamento incluem a associação de ziduidina/interferon- $\alpha$ , o transplante de células-tronco hematopoiéticas, a quimioterapia multiagente ou o seguimento com tratamento apenas se progressão (HERMINE; RAMOS; TOBINAI, 2018). Embora avanços recentes na compreensão da patogênese molecular tenham ajudado na identificação de novos alvos terapêuticos, apenas os pacientes com subtipos favoráveis e indolentes apresentam sobrevida prolongada e a doença raramente é curada com as terapias disponíveis. (PHILLIPS; HAREWOOD, 2018).

### ***Mielopatia associada ao HTLV-1***

A HAM/TSP foi descrita pela primeira vez como uma síndrome neuropática na Jamaica em 1956, posteriormente denominada neuropatia jamaicana, cuja etiologia permaneceu obscura por muitos anos. Acreditava-se que a doença era causada por uma deficiência nutricional, um agente infeccioso ou uma toxina (CRUICKSHANK, 1956; MONTGOMERY et al., 1964); a conexão com a infecção pelo HTLV-1 foi descoberta por diferentes grupos nos anos 80 (GESSAIN et al., 1985; OSAME et al., 1986; RODGERS-JOHNSON et al., 1985).

O risco de desenvolver HAM/TSP entre os portadores de HTLV-1 é estimado em cerca de 0,25 a 3%, dependendo da área endêmica. Sua incidência parece ser maior no Caribe e na América do Sul do que no sul do Japão (GESSAIN; MAHIEUX, 2012). A HAM/TSP ocorre principalmente em adultos, com uma idade média de 50 anos (GOTUZZO et al., 2004; MARTIN et al., 2010; MATSUZAKI et al., 2001; OLINDO et al., 2006, 2018). No entanto, alguns casos raros de HAM/TSP ocorrendo em crianças têm sido relatados, especialmente no Brasil (PRIMO et al., 2005). A progressão da doença parece ser heterogênea, existindo um subgrupo de pacientes com progressão rápida (GOTUZZO et al., 2004; GOUT et al., 1990; KURODA; FUJIYAMA; NAGUMO, 1991; MARTIN et al., 2010; OLINDO et al., 2005; SATO et al., 2018a).

A carga proviral é considerada isoladamente como principal fator de risco para o desenvolvimento de HAM/TSP (NAGAI et al., 1998; TAYLOR et al., 1999). Estudos prévios sugerem que fatores adicionais podem determinar a carga proviral do HTLV-1 e o risco de HAM/TSP. Na população japonesa, por exemplo, a presença de dois genes de HLA-DRB1\*0101 e o HLA-B\*5401 foram associados a um risco aumentado de HAM/TSP (ASSONE et al., 2016; TREVIÑO et al., 2013), enquanto outros foram associados a uma menor carga proviral e uma diminuição da prevalência de HAM/TSP como o HLA-A\*02 ou HLA-Cw\*08 (JEFFERY et al., 2000). Outros fatores são conhecidos por influenciar o risco de desenvolvimento da mielopatia associada ao vírus, como sexo, idade e a via de transmissão do HTLV-1 (BANGHAM et al., 2015).

Em 1989, foram elaborados os critérios diagnósticos para HAM/TSP da Organização Mundial da Saúde (OMS, 1989) e revisados por Castro-Costa e

colaboradores em 2006, com a proposta de critérios capazes de diagnosticar HAM/TSP desde suas manifestações iniciais (tabela 1) (CASTRO-COSTA et al., 2006).

### **Quadro 1. Critérios Diagnósticos Propostos para HAM/TSP (2006)**

Níveis de certeza para o diagnóstico de HAM/TSP (CASTRO-COSTA et al., 2006).

**Definitivo:**

1. Paraparesia espástica progressiva, não remitente, com prejuízo suficiente da marcha para ser percebido pelo próprio paciente. Sinais ou sintomas sensitivos podem ou não estar presentes. Quando presentes são sutis e não causam nível sensitivo demarcado. Sinais ou sintomas esfinterianos podem ou não estar presentes;
2. Presença de anticorpos anti HTLV-1 no sangue e LCR, confirmados por Western blot e/ou PCR positivo para HTLV-1 no sangue e/ou LCR;
3. Exclusão de outras doenças neurológicas que possam se assemelhar a HAM/TSP.

**Provável:**

1. Apresentação monossintomática: espasticidade ou hiperreflexia em membros inferiores ou sinal de Babinski isolado, com ou sem sinais ou sintomas sensitivos, ou bexiga neurogênica confirmada somente pelo estudo urodinâmico;
2. Presença de anticorpos anti HTLV-1 no sangue e/ou LCR, confirmados por Western blot e/ou PCR positivo para HTLV-1 no sangue e/ou LCR;
3. Exclusão de outras doenças neurológicas que possam se assemelhar a HAM/TSP.

**Possível:**

1. Apresentação clínica completa ou incompleta;
2. Presença de anticorpos anti HTLV-1 no sangue e/ou LCR, confirmados por Western blot e/ou PCR positivo para HTLV-1 no sangue e/ou LCR;
3. Não foram excluídas outras doenças que possam se assemelhar à HAM/TSP.

Os aspectos característicos da HAM/TSP são fraqueza ou espasticidade de membros inferiores de apresentação crônica ou subaguda, que inicialmente podem ser unilaterais, mas invariavelmente se tornam bilaterais e estão associados a sinais piramidais (BANGHAM et al., 2015; SOUZA et al., 2012). Durante a evolução da doença, a disfunção urinária é muito comum, com o aumento da frequência urinária, a urgência, a noctúria e, às vezes, a incontinência (ARAUJO; SILVA, 2006; CASTRO et al., 2007; TROISGROS et al., 2017). Os sintomas urinários são geralmente atribuíveis à hiperatividade da bexiga, mas 15% dos pacientes têm bexiga flácida, com retenção urinária e risco de nefropatia obstrutiva (BANGHAM et al., 2015). Em alguns casos, os sintomas urinários antecedem a paraparesia (IMAMURA et al., 1991; TANAJURA et al., 2015). Nos homens, a disfunção erétil é comum (OLIVEIRA et al., 2010).

A constipação é comum, assim como a dor lombar (ARAUJO, 2015). Sintomas sensoriais como a parestesia e sensação de queimação nos membros inferiores também são comuns (NASCIMENTO; MARQUES, 2013); no entanto, sinais sensoriais objetivos são incomuns e, quando estão presentes, geralmente refletem o envolvimento das colunas posteriores da medula espinhal e estão associados à diminuição da sensação proprioceptiva e vibratória. Um nível sensorial bem definido é raramente observado em HAM/TSP. Apesar de não revelarem nenhuma característica exclusiva de HAM/TSP, o exame do líquido e a neuroimagem são essenciais para excluir outras doenças. A medula espinhal pode estar edemaciada, normal ou atrófica dependendo do estágio da doença, com ou sem alterações de sinal na ressonância magnética (BANGHAM et al., 2015).

O diagnóstico diferencial deve ser realizado com outras causas de mielopatia: processos carênciais (deficiência vitamina B12 e folato), infecciosas e parasitárias (sífilis, HIV, fungos, esquistossomose, neurocisticercose, tuberculose, Doença de Lyme, *Toxocara canis*, *Ascaris suum*), compressivas (espondilóticas, tumorais), tóxicas, metabólicas, vasculares, autoimunes (esclerose múltipla, paraneoplásicas, colagenoses, e outras), hereditárias (paraparesia espástica familiar e outras) (CASTRO-COSTA et al., 2006).

O tratamento sintomático ainda é a base da terapia de pacientes com HAM/TSP (FUTSCH; MAHIEUX; DUTARTRE, 2017). Analgésicos, drogas antiespásticas, laxantes, medicamentos para a bexiga neurogênica, juntamente com um bom programa de reabilitação, são opções úteis para o tratamento em longo prazo (GESSAIN; MAHIEUX, 2012). Diversos tratamentos já foram testados, entretanto com sucesso clínico muito limitado - terapia com corticosteroides, danazol, vitamina C, interferon alfa, zidovudina, lamivudina, entre outros (ARAUJO; SILVA, 2006). Sucesso na redução do número de células infectadas pelo HTLV-1 e dos níveis de marcadores inflamatórios foram relatados recentemente utilizando o mogamulizumab, um anticorpo monoclonal humanizado anti-CCR4, entretanto o efeito na resposta clínica precisa ser melhor esclarecido (SATO et al., 2018b).



### ***Bexiga neurogênica e disfunção erétil***

Virtualmente todos os pacientes com HAM/TSP tem manifestações do sistema geniturinário, como aumento da frequência e urgência urinária, com ou sem incontinência, noctúria, e disfunção erétil (CASTRO et al., 2007; IMAMURA et al., 1991; TROISGROS et al., 2017). Além disso, uma grande porcentagem de portadores de HTLV-1 que não preenchem os critérios para HAM/TSP definida também apresentam essas manifestações (CASTRO et al., 2007).

Em um estudo com 324 indivíduos infectados pelo HTLV-1, 78 foram submetidos ao teste urodinâmico. A hiperatividade detrusora (33/63; 52,4%) foi a principal anormalidade encontrada, seguida por dissinergia vesico-esfincteriana (15/63; 25,4%). Anormalidades urodinâmicas similares aos indivíduos com HAM/TSP foram identificadas em indivíduos inicialmente considerados como portadores de HTLV-1 (DE CASTRO et al., 2007). Sintomas urinários podem ser os primeiros sintomas da HAM/TSP, sendo documentadas anos antes do surgimento da paraparesia (CASTRO et al., 2007; IMAMURA et al., 1991; OLIVEIRA; CASTRO; CARVALHO, 2007). Ademais, os pacientes que não preenchem os critérios para HAM/TSP definida, mas que apresentam bexiga neurogênica confirmada pelo estudo urodinâmico, são classificados como provável HAM/TSP (CASTRO-COSTA et al., 2006).

A disfunção erétil (DE) tem sido observada com frequência em indivíduos infectados pelo HTLV-1 com ou sem evidência de mielopatia. Em um estudo que avaliou a frequência de DE em indivíduos com HTLV-1, constatou-se que a DE estava presente em todos os pacientes com HAM/TSP definitiva, em 79% dos pacientes com provável HAM/TSP e em 35,9% dos portadores de HTLV-1 (OLIVEIRA et al., 2010). Embora haja uma clara relação entre o grau de comprometimento neurológico do HTLV-1 e a disfunção erétil, chama atenção a ocorrência da DE em pacientes com HTLV-1 sem doença neurológica (DE OLIVEIRA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2010).

### ***Outras manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1***

Do ponto de vista das manifestações neurológicas a HAM/TSP parece ser somente a "ponta do iceberg" e um espectro de manifestações tem sido atribuída a infecção pelo

vírus (figura 1) (ARAUJO; SILVA, 2006). As neuropatias periféricas têm sido consistentemente encontradas em associação com a HAM/TSP (KIWAKI et al., 2003). O quadro clínico é caracterizado principalmente por sensação de queimação e parestesias, geralmente associada a reflexos abolidos. A neuropatia periférica isolada sem mielopatia sintomática em pacientes com infecção pelo HTLV-1 é extremamente rara, e poucos casos foram relatados na literatura (DOUEN; PRINGLE; GUBERMAN, 1997; LEITE et al., 2004). Outros tipos de neuropatia também já foram relatadas em associação a infecção pelo vírus, como polirradiculoneuropatia (ARAKAWA et al., 1990), mononeurite múltipla (KIWAKI et al., 2003) e neuronopatia sensorial (MARTINEZ et al., 2018; SHIMAZAKI et al., 2002). Leclercq et al relataram um caso de um paciente portador de HTLV-1, originário das ilhas do Caribe, que desenvolveu paralisia facial bilateral recorrente (LECLERCQ et al., 2015).

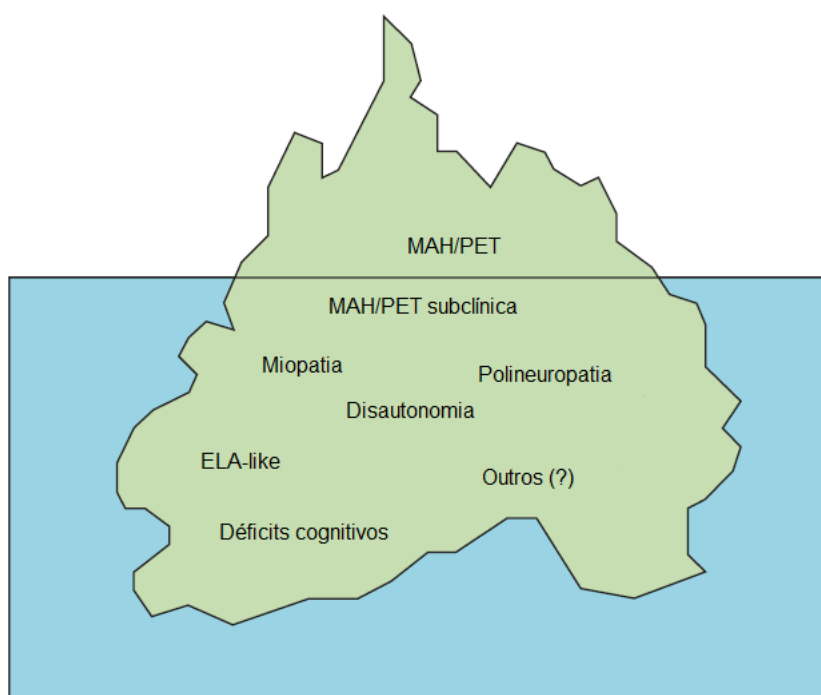


Figura 1: O complexo neurológico do HTLV-1: o modelo do iceberg. Reproduzido de Araújo; Silva, 2006.

Desde a descrição da HAM/TSP em meados dos anos 80, pelo menos 35 casos de síndrome semelhante à esclerose lateral amiotrófica (ELA) foram relatados (ALFAHAD; NATH, 2013). Esses indivíduos apresentam sintomas atípicos de ELA, ou seja, sintomas autonômicos e / ou sensoriais, além de uma progressão mais lenta (ARAUJO, 2015; SILVA et al., 2005). Disautonomia, clinicamente caracterizada por hipotensão postural,

mudanças na taxa de variabilidade cardíaca, disfunção do controle urinário e do suor têm sido observadas em pacientes com HAM/TSP (ALAMY et al., 2001; KURIYAMA et al., 2009; RAZA; PYATT, 2006).

A polimiosite (PM) e a miosite por corpúsculos de inclusão têm sido associadas à infecção pelo HTLV-1 (DALAKAS, 2006; FERREIRA et al., 2010; GILBERT et al., 2001; MORGAN et al., 1989). A apresentação clínica da PM relacionada ao HTLV-1 é semelhante à da PM idiopática, com fraqueza simétrica e proximal e mialgia. Os reflexos tendinosos profundos são diminuídos ou abolidos, mas podem ser normais ou mesmo rápidos em pacientes com HAM/TSP concomitante. Os músculos bulbares são clinicamente afetados em um terço dos casos (ARAÚJO et al., 2009). Acredita-se que o dano muscular não está relacionado à invasão direta das fibras musculares pelo vírus, mas a um processo imunomediado (OZDEN et al., 2004).

HAM/TSP e infecção assintomática podem estar associadas a déficits cognitivos leves (SILVA et al., 2003). Dois estudos de corte transversal foram realizados recentemente para avaliar a performance cognitiva em indivíduos infectados com HTLV-1. Ambos encontraram uma maior frequência de comprometimento cognitivo nos indivíduos infectados do que controles normais (GASCÓN et al., 2017; RAULINO GONCALVES et al., 2017). Cabe ressaltar que não foram realizadas ressonâncias magnéticas do encéfalo para avaliar a presença de lesões em substância branca. Além disso, no estudo realizado por Raulino Gonçalves et al (2017) a baixa escolaridade dos indivíduos avaliados pode ter interferido na performance cognitiva. Morgan e colaboradores (2007) avaliaram indivíduos com diagnóstico de HAM / TSP e portadores de HTLV-I. A função cognitiva foi menor no grupo de indivíduos com HAM / TSP, mas não se correlacionou com o número de lesões da substância branca do cérebro na ressonância magnética.

O HTLV-1 não é amplamente reconhecido como causa de encefalopatia. Crawshaw et al (2018) publicaram três novos casos de encefalopatia em indivíduos portadores de HAM/TSP, sem outra etiologia aparente, e revisaram outros casos já publicados. As características clínicas incluíram alterações do nível de consciência, cefaleia, febre / hipotermia, convulsões e déficit neurológico focal. A análise do líquido evidenciou pleocitose e hiperproteinorraquia; e a ressonância magnética foi normal ou

evidenciou alterações da substância branca no cérebro e na medula (CRAWSHAW et al., 2018). Outra associação difícil de comprovar é a ataxia cerebelar (ARAUJO; SILVA, 2006), embora síndromes cerebelares tenham sido relatadas como um achado neurológico em pacientes infectados pelo HTLV-1 (CASTILLO et al., 2000; KIRA et al., 1993; TAKI et al., 2011).

### ***Artropatia associada ao HTLV-1***

A infecção pelo HTLV-1 foi descrita em associação com várias síndromes reumáticas, como a síndrome de Sjögren e a artrite reumatoide (MOTOKAWA et al., 1996; NISHIOKA, 1996). O primeiro relato da associação de HTLV-1 e artrite ocorreu em uma mulher com ATL (TANIGUCHI et al., 1988). Em 1989, Nishioka e colaboradores (NISHIOKA et al., 1989), propuseram uma associação entre HTLV-1 e artropatia crônica inflamatória, baseando-se na observação de linfócitos atípicos compatíveis com células semelhantes a ATL em pacientes com quadro clínico típico de oligoartrite crônica, sendo os ombros, punhos e joelhos preferencialmente envolvidos.

A artropatia associada ao HTLV-1 é caracterizada por sinovite crônica inflamatória e proliferativa, com acentuado edema articular com lesões ósseas e articulares ocasionais (NISHIOKA, 1996). No estudo brasileiro, realizado entre 2003 e 2004, com indivíduos infectados pelo HTLV-1, 24 pacientes tiveram o diagnóstico de síndrome de Sjögren provável (17,5%), 18 pacientes (13,1%) de artrite reumatóide, uma paciente teve diagnóstico de doença mista do tecido conjuntivo e uma de lúpus eritematoso sistêmico (0,7%, respectivamente). Suspeita de artropatia relacionada ao vírus foi encontrada em 22 pacientes (16,1%) (DE CARVALHO et al., 2006). Há outros relatos de artropatia em indivíduos infectados pelo HTLV-1 (FRENZEL et al., 2014; TAKAHASHI et al., 2005), mas ainda é incerto se o HTLV-1 causa essa condição (BANGHAM, 2018). Enquanto a poliartralgia é muito frequente em indivíduos infectados pelo vírus, a presença de artrite é rara (CASKEY et al., 2008). Adicionalmente, a associação da infecção pelo HTLV-1 com doenças auto-imunes tem sido contestada e hoje já é documentado que esses pacientes não apresentam síndrome de Sjögren e sim, síndrome seca (LIMA et al., 2016).

### ***Manifestações orais da infecção pelo HTLV-1***

O termo doença periodontal (DP) engloba uma ampla variedade de condições inflamatórias crônicas da gengiva, osso e ligamento. A doença periodontal começa com gengivite, uma inflamação iniciada por bactérias na placa dentária. A periodontite crônica ocorre quando a gengivite não tratada progride para a perda da gengiva, do osso e do ligamento, o que cria as "bolsas" periodontais profundas que são uma característica da doença e podem levar à perda do dente (KINANE; STATHOPOULOU; PAPAPANOU, 2017). Estudos prévios demonstraram que a saúde bucal anormal é uma característica comum em pacientes infectados pelo HTLV-1 e que esses pacientes têm um aumento acentuado da prevalência de DP (CASKEY et al., 2008; LINS et al., 2012).

A infecção pelo HTLV-1 pode ser considerada um potencial fator modificador na patogênese da DP. Em um estudo prévio, foi observado um aumento da gravidade da periodontite devido à infecção pelo HTLV-1, que pode ser justificada pela interferência indireta na resposta imune, além da interação com os periodontopatógenos caracteristicamente associados com DP, como *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e vírus, como Epstein-Barr, herpes simplex vírus 1 e citomegalovírus humano (GARLET et al., 2010).

A xerostomia é a sensação subjetiva de boca seca, que pode estar associada à várias doenças ou alterações sistêmicas, incluindo a Síndrome de Sjögren (KORN et al., 2002). É importante ressaltar que as queixas de xerostomia podem não estar diretamente relacionadas à redução do fluxo salivar (LINS et al., 2012). A síndrome de Sjögren é uma doença autoimune crônica que afeta as glândulas salivares e lacrimais através de um infiltrado linfocitário, levando à xeroftalmia e xerostomia (FERRO et al., 2017). Estudos prévios demonstram uma correlação entre a infecção pelo HTLV-1 e a síndrome seca, independentemente da presença da síndrome de Sjögren (FERRAZ-CHAOUI et al., 2010; LIMA et al., 2016).

### ***Outras doenças associadas ao HTLV-1***

O HTLV-1, além de ser o agente etiológico da ATL e da HAM/TSP, já foi relacionado a síndromes inflamatórias sintomáticas em vários órgãos, incluindo dermatite

infecciosa (DE OLIVEIRA et al., 2005; ORTIZ et al., 2015; PRIMO et al., 2005; STEGLICH et al., 2015), uveíte (NAKAO et al., 1999; NAKAO; ABEMATSU; SAKAMOTO, 2018) e bronquiectasia (EINSIEDEL et al., 2012). Além disso, o HTLV-1 predispõe ao desenvolvimento de doenças infecciosas, como a escabiose (BRITES et al., 2002), a tuberculose (CARVALHO et al., 2018; DE LOURDES BASTOS et al., 2009; MARINHO et al., 2005) e a estrogiloidíase (GOTUZZO et al., 1999).

## V. MATERIAIS E MÉTODOS

### *Desenho do estudo*

Estudo de coorte prospectivo em indivíduos com alta e baixa carga proviral com a finalidade de correlacionar a carga proviral com o desenvolvimento de doença e a resposta imune entre 2001 e 2016.

### *Amostra estudada*

Indivíduos infectados pelo vírus HTLV-1 sem evidência de mielopatia definida ou provável associada e acompanhados no Ambulatório Multidisciplinar de HTLV do Serviço de Imunologia / Hospital Universitário Prof. Edgard Santos/ Universidade Federal da Bahia (UFBA). Desde 2001, uma coorte de indivíduos infectados com HTLV-1, atualmente com 674 indivíduos, foi sistematicamente acompanhada, com avaliações anuais por diversas especialidades, entre elas neurologia, urologia, reumatologia, odontologia, psicologia e enfermagem. Os casos foram definidos como pertencentes ao grupo de expostos ou não expostos. Os sujeitos expostos eram indivíduos infectados pelo HTVL-1 com alta carga proviral (maior de 50.000 cópias em  $10^6$  células)(GRASSI et al., 2011) por ocasião da admissão e que não apresentaram evidências de mielopatia associada ao HTLV-1(CASTRO-COSTA et al., 2006). Os controles foram definidos como indivíduos infectados pelo HTVL-1 com baixa carga proviral (menor de 50.000 cópias em  $10^6$  células) sem evidência de mielopatia por ocasião da admissão no estudo.

Foram identificados inicialmente 92 indivíduos acompanhados no ambulatório que apresentavam alta ou baixa carga proviral que não tinham HAM/TSP. Desse total, 22 indivíduos foram excluídos por não poderem ser pareados por sexo e idade, sete por terem acompanhamento inferior a dois anos, 2 devido apresentarem coinfecção com HTLV-2 e um paciente por neurosífilis (diagrama de fluxo). Assim sendo, a amostra final foi de 60 indivíduos, 30 indivíduos de casos e 30 indivíduos controles pareados por idade ( $\pm 5$  anos) e sexo.

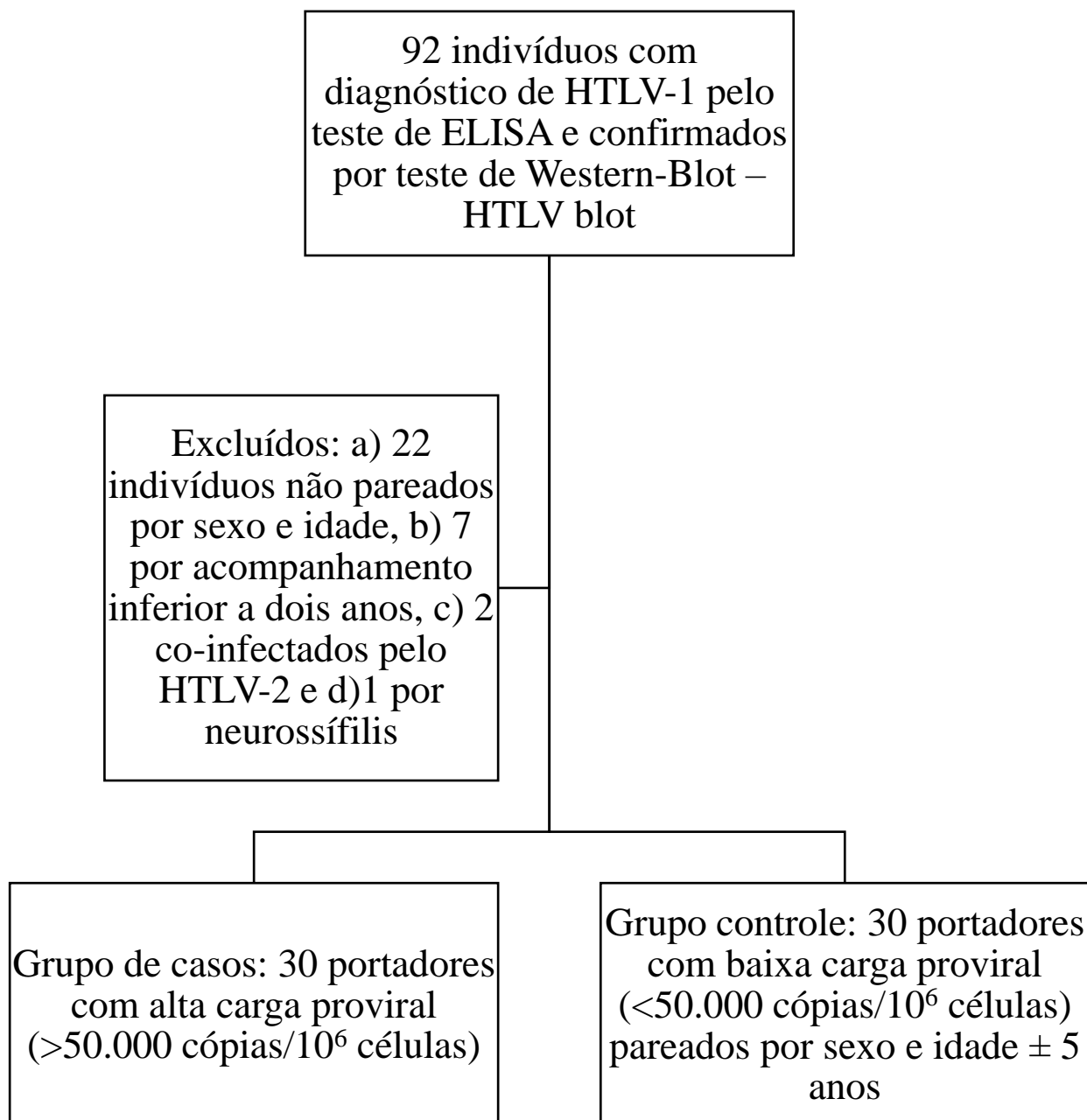
### ***Critérios de Inclusão***

- Indivíduos com diagnóstico da infecção pelo HTLV-1 pelo teste de enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) – (Cambridge Biotech Corp., Worcester, MA,USA); e confirmados por teste de Western-Blot –HTLV blot (Genelab, Singapore).
- Idade entre 18 e 60 anos no início da coorte.
- Ter carga proviral e produção de citocinas determinadas em pelo menos duas ocasiões, no início e fim do estudo.
- Concordância em participar do estudo e a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido.

### ***Critérios de exclusão***

- Indivíduos com co-infecção com HIV, HTLV-2 ou sorologia indeterminada.
- Portadores de mielopatias, esclerose múltipla, neurosífilis, neurotuberculose e neuroesquistossomose. Tais patologias foram excluídas através da história clínica, exames laboratoriais e/ou de imagem.
- Tratamento com imunossupressores e/ou corticoides.
- Gravidez.





*Diagrama de fluxo 1: População estudada*

### ***Coleta de dados e avaliação clínica***

Desde 2001, os dados clínicos vem sendo coletados usando um questionário padronizado de coleta de dados (anexo 1 e 2) e armazenados em um banco de dados eletrônico, utilizando-se o sistema *Research Electronic Data Capture* (REDCap) (HARRIS et al., 2009), com informações atualizadas semanalmente pelos gerenciadores de dados. Os dados foram coletados na admissão e nas consultas subsequentes por meio de anamnese, exame clínico, exames laboratoriais e / ou radiológicos. Todos os indivíduos participantes da coorte eram convidados a comparecer no ambulatório duas vezes ao ano. As seguintes variáveis foram avaliadas: data de nascimento, sexo, fonte de encaminhamento, raça, história de transfusão sanguínea, comorbidades, presença de xerostomia e xerofthalmia, sintomas urinários e neurológicos e dores articulares. Todos os sujeitos foram submetidos a exame físico geral, incluindo o exame neurológico. Duas escalas são utilizadas para classificar os indivíduos infectados com o HTLV-1. A Escala de Incapacidade de Kurtzke, do inglês, “*Extended Disability Status Scale*” (EDSS)(KURTZKE, 1983), criada para avaliação de indivíduos com esclerose múltipla (anexo 3), e a escala “*Osame Motor Dysfunction Scale*” (OMDS) (anexo 4) (YAMANO et al., 2009). Os desfechos que foram avaliados incluíram a ocorrência de hiperreflexia no grau 3 e 4, sinal de Babinski, parestesias em mãos e pés, dificuldade para deambular e correr, sintomas urinários, disfunção erétil nos homens, doença periodontal e síndrome seca.

### ***Determinação da carga proviral***

A carga de DNA proviral de HTLV-1 em células sanguíneas mononucleares periféricas (CMSP) foi mensurada por PCR em tempo real, utilizando o detector de sequências ABI PRISM 7700 (Applied Biosystems, Foster City, CA) como descrito previamente por Nagai et al.(NAGAI et al., 1998). O DNA foi extraído de  $1 \times 10^6$  células utilizando o Kit de extração Puregene DNA Isolation Kit (Gentra, Minneapolis, MN) de acordo com as instruções do fabricante e 100 ng da solução de amostra de DNA foi analisada. O valor da carga proviral foi calculado pela seguinte fórmula: número de cópias de HTLV-1 (pX) por 100 células = (número de cópias de pX) / (número de cópias de  $\beta$ -actina / 2) x 100. Foi utilizada a primeira carga proviral e a última realizada. Os resultados estão expressos em mediana e interquartil do número de cópias em  $10^6$  CMSP.

### ***Detecção da produção de citocinas***

A produção de citocinas (IFN- $\gamma$ , TNF e IL10) em sobrenadante de culturas de células mononucleares do sangue periférico não estimuladas foi determinada após 48h de incubação por ocasião da admissão e no final do estudo. Para determinação de citocinas as células mononucleares foram isoladas de sangue venoso por gradiente de densidade usando *ficcol hypaque*. As células foram lavadas em solução salina e ressuspensas em RPMI 1640 suplementado com 10% de soro fetal bovino, penicilina e gentamicina. Após ajustadas a concentração de  $3 \times 10^6$ /ml, alíquotas de 1 ml foram incubadas em placa de 24 orifícios a 37°C em estufa com 5% de CO<sub>2</sub> por 48h sem estímulo. Os sobrenadantes foram colhidos e congelados para análise de produção de citocinas. A determinação de citocinas pela técnica de ELISA e os resultados são apresentados em picograma/ml.

### **Análise estatística**

As informações coletadas foram inseridas em um banco de dados padronizado e analisadas utilizando o programa *Statistical Package for the Social Science* (SPSS) versão 17 para Windows (disponível no laboratório de informática da Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia). Os indivíduos foram classificados em dois grupos para análise: expostos (alta carga proviral) e não expostos (baixa carga proviral). O teste de Kolmogorov-Smirnov foi realizado para determinar a normalidade nas diferentes variáveis. Devido a distribuição das variáveis testadas optou-se por utilizar testes não-paramétricos.

Na análise descritiva calculou-se a mediana e o intervalo interquartil para avaliação das variáveis contínuas, e as proporções foram utilizadas para descrever as variáveis categóricas. O Teste U de Mann-Whitney foi utilizado para comparar as medianas e o teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher para as proporções. O teste de McNemar foi utilizado para comparar frequências oriundas de amostras pareadas e o teste T de Wilcoxon para comparar dados amostrais em pares. Foi considerado significativo um valor de  $p \leq 0,05$  ( $\alpha = 5\%$ ).

O coeficiente de correlação de Spearman e sua significância foi utilizado para avaliar a correlação entre os valores da carga proviral e as demais citocinas. As curvas de

Kaplan-Meier foram utilizadas como curvas de sobrevida e o *log-rank* teste foi utilizado para comparar curvas.

### ***Ética em pesquisa***

O Comitê de Ética da Universidade Federal da Bahia e a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) aprovaram o projeto de pesquisa registrado sob o número 11071. Todos indivíduos preencheram o termo de consentimento livre e esclarecido.

## Resultados

### *Estatísticas descritivas gerais e dados epidemiológicos*

Um total de 60 indivíduos infectados pelo HTLV-1 foram elegíveis para este estudo e incluídos na análise. Os dados demográficos, aspectos epidemiológicos e clínicos dos indivíduos infectados pelo HTLV-1 sem HAM/TSP de acordo com a carga proviral e por ocasião da admissão são mostrados na tabela 1.

**Tabela 1 - Características Demográficas, Aspectos Epidemiológicos e Clínicos em Indivíduos Infectados pelo HTLV-1 sem HAM/TSP Classificados de acordo com a Carga Proviral na Admissão**

Características	Carreadores com alta carga proviral (n 30)	Carreadores com baixa carga proviral (n 30)	p valor
<b>Sexo feminino</b>	20 (66,7%)	20 (66,7%)	
<b>Idade em anos na última avaliação (média ± desvio padrão)</b>	55,5 (±11,6)	56,2 (±11,2)	0,81 <sup>c</sup>
<b>Encaminhamento</b>			0,19 <sup>a</sup>
Banco de sangue	18 (60%)	24 (80%)	
Outras clínicas	1 (3,3%)	0	
Parentes	1 (3,3%)	2 (6,7%)	
Outros	10 (33,3%)	4 (13,3%)	
<b>Transusão sanguínea</b>	4 (13,8%)	1 (3,3%)	0,19 <sup>b</sup>
<b>Anos de acompanhamento (mediana [intervalo interquartil])</b>	11 (8,5 - 13)	11,5 (8 - 12)	0,57 <sup>c</sup>
<b>Comorbidades</b>			
Diabetes	4 (13,3%)	3 (10%)	>0,99 <sup>b</sup>
Hipotireoidismo	3 (10%)	1 (3,3%)	0,61 <sup>b</sup>
Osteoartrite	7 (23,3%)	13 (43,3%)	0,10 <sup>a</sup>
Infecção pelo Vírus B	0	1(3,3%)	>0,99 <sup>b</sup>
Infecção pelo Vírus C	0	1 (3,3%)	>0,99 <sup>b</sup>

a Teste de  $\chi^2$ ; b Teste exato de Fisher; c Teste U de Mann-Whitney

Houve uma predominância de indivíduos do sexo feminino nos dois grupos estudados e a idade dos pacientes foi também semelhante. Esses indivíduos foram principalmente referenciados por bancos de sangue, 60% do total no grupo de indivíduos com alta carga proviral e 80% nos indivíduos com baixa carga proviral. Além disso, uma proporção pequena de indivíduos foi referenciada por familiares, clínicas neurológicas e outros. Não houve diferença entre os grupos com relação a história de transfusão sanguínea. Todos eram heterossexuais e negaram o uso de drogas ilícitas.

No geral, os indivíduos foram acompanhados por um longo período de tempo com mediana de 11 anos (mínimo 2 anos - máximo 16 anos). No grupo de portadores com alta carga proviral, os indivíduos foram acompanhados com mediana de 11 anos versus 11,5 anos no grupo controle (p 0,57). Não houve diferença com relação a presença de comorbidades como diabetes, hipotireoidismo, osteoartrite e infecção pelo vírus B e vírus C.

### ***Manifestações clínicas associadas ao HTVL-1***

Todos os indivíduos foram submetidos a exame clínico, odontológico e neurológico, com a aplicação de duas escalas EDSS e OMDS. Todos tiveram pontuação igual a zero nas duas escalas. Foram também avaliados com relação ao comprometimento articular e a história de olho seco e o exame odontológico avaliando a ocorrência de boca seca e de doença periodontal. Essas manifestações por ocasião da entrada do estudo e na avaliação final nos indivíduos com alta e baixa carga proviral são mostrados na tabela 2.

**Tabela 2. Análise Comparativa de Indivíduos Portadores de HTLV-1 com Alta e Baixa Carga Proviral por Ocasão da Admissão e na Última Avaliação**

Características clínicas	Baixa carga proviral			Alta carga proviral			Comparação entre grupos	
	Admissão	Avaliação final	p valor <sup>a</sup>	Admissão	Avaliação final	p valor <sup>a</sup>	Admissão p valor	Avaliação final p valor
<b>Sintomas urológicos</b>								
Esforço miccional	4 (13,3%)	4 (13,3%)	1	5 (16,7%)	5 (16,7%)	1	>0,99 <sup>b</sup>	>0,99 <sup>b</sup>
Urgência	3 (10%)	0	0,25	1 (3,3%)	2 (6,7%)	>0,99	0,61 <sup>b</sup>	0,49 <sup>b</sup>
Incontinência por esforço	1 (3,3%)	0	>0,99	0	0	---	>0,99 <sup>b</sup>	---
Disfunção erétil	0	0	---	3 (10%)	1 (3,3%)	0,63	0,24 <sup>b</sup>	>0,99 <sup>b</sup>
Outros	0	3/10 (30%)	0,25	0	0	---	---	0,21 <sup>b</sup>
	0	1 (3,3%)	>0,99	1 (3,3%)	2 (6,7%)	>0,99	>0,99 <sup>b</sup>	>0,99 <sup>b</sup>
<b>Sintomas/sinais neurológicos</b>								
Dificuldade em correr	2 (6,7%)	6 (20%)	0,22	3 (10%)	5 (16,7%)	0,69	>0,99 <sup>b</sup>	0,74 <sup>c</sup>
Dificuldade em deambular	0	3 (10%)	0,25	1 (3,3%)	2 (6,7%)	>0,99	>0,99 <sup>b</sup>	>0,99 <sup>b</sup>
Parestesias nas mãos	2 (6,7%)	4 (13,3%)	0,68	8 (26,7%)	5 (16,7%)	0,51	0,04 <sup>c</sup>	>0,99 <sup>b</sup>
Parestesias nos pés	2 (6,7%)	4 (13,3%)	0,68	7 (23,3%)	6 (20%)	>0,99	0,14 <sup>b</sup>	0,49 <sup>c</sup>
Hiperreflexia bicipital	4 (13,3%)	2 (6,7%)	0,5	1 (3,3%)	1 (3,3%)	1	0,35 <sup>c</sup>	>0,99 <sup>b</sup>
Hiperreflexia patelar	4 (13,3%)	5 (16,7%)	>0,99	5 (16,7%)	7 (23,3%)	0,62	>0,99 <sup>b</sup>	0,52 <sup>c</sup>
Sinal de Babinski	0	0		0	0			
<b>Sintomas reumatológicos</b>								
<b>Dor articular</b>								
Monoarticular	1/28 (3,6%)	4 (13,3%)	0,5	2 (6,7%)	5 (16,7%)	0,37	>0,99 <sup>b</sup>	>0,99 <sup>b</sup>
Oligoarticular	1/28 (3,6%)	3 (10%)	0,62	1 (3,3%)	7 (23,3%)	0,07	>0,99 <sup>b</sup>	0,16 <sup>c</sup>
Poliarticular	0/28	2 (6,7%)	0,5	0	1 (3,3%)	>0,99	---	>0,99 <sup>b</sup>
<b>Xerostomia</b>	4 (13,3%)	6/23 (26,1%)	0,68	3 (10%)	9/25 (36%)	0,03	>0,99 <sup>b</sup>	0,46 <sup>c</sup>
<b>Xeroftalmia</b>	6/29 (20,7%)	6 (20%)	>0,99	5 (16,7%)	13 (43,3%)	0,06	0,69 <sup>c</sup>	0,052 <sup>c</sup>
<b>Doença periodontal</b>	6/16 (37,5%)	12/21 (57,1%)	>0,99	11/24 (45,8%)	12/24 (50%)	>0,99	0,60 <sup>c</sup>	0,63 <sup>c</sup>

a Teste de McNemar; b Teste exato de Fisher; c Teste de  $\chi^2$   
 Monoarticular – acometimento isolado de uma articulação; oligoarticular: 2 a 4 articulações; poliarticular: 5 ou mais articulações.

Não houve mudança com relação a frequência de sintomas urinários, de sintomas e sinais neurológicos, da frequência de dor articular e da queixa de xerofthalmia. A frequência dos indivíduos que se queixavam de xerostomia aumentou de 3 (10%) para 9 (36%) (p 0,03) no grupo de indivíduos com alta carga proviral. Na avaliação final, os casos não foram significativamente mais propensos do que os controles a relatar queixas de dificuldade para correr (16,7% versus 20% p 0,74), para deambular (6,7% versus 10% p >0,99), sintomas urológicos (16,7% versus 13,3% p >0,99), parestesias nas mãos (16,7% versus 13,3% p >0,99) e nos pés (20% versus 13,3% p 0,49). A frequência dos indivíduos que se queixavam de parestesias em mãos na admissão foi maior no grupo de casos do que nos controles (26,7% versus 6,7%, p 0,04).

### ***Carga proviral do HTLV-1***

A análise comparativa entre a carga proviral basal e na última avaliação entre o os casos e controles é mostrada na tabela 3.

**Tabela 3: Análise Comparativa entre a Carga Proviral Basal e na Última Avaliação no Grupo de Casos e Controles**

	Carga proviral basal*	Carga proviral na última avaliação*	p valor <sup>a</sup>
Portadores com alta carga proviral	120.848 [79.583,75 – 192.800,25] <sup>Δ</sup>	71.896 [21.710 – 156.828,75] <sup>¥</sup>	0,02
Portadores com baixa carga proviral	4.821 [937 - 27.604] <sup>Δ</sup>	6.141 [461,5 – 27.851,5] <sup>◇</sup>	>0,99

a Teste T de Wilcoxon; <sup>Δ</sup> n = 30; <sup>¥</sup> n = 26; <sup>◇</sup> n = 25

\* Expresso como número de cópias de HTLV-1 por 10<sup>6</sup> células sanguíneas mononucleares periféricas; mediana (intervalo interquartil)

Como era de se esperar a carga proviral por ocasião da admissão foi maior nos portadores com alta carga proviral do que nos portadores com baixa carga proviral, p <0,01. Durante o seguimento, enquanto no grupo com alta carga proviral houve uma diminuição (de 120.848 cópias/10<sup>6</sup>CMSP para 71.896 cópias/10<sup>6</sup>CMSP; p 0,02), não

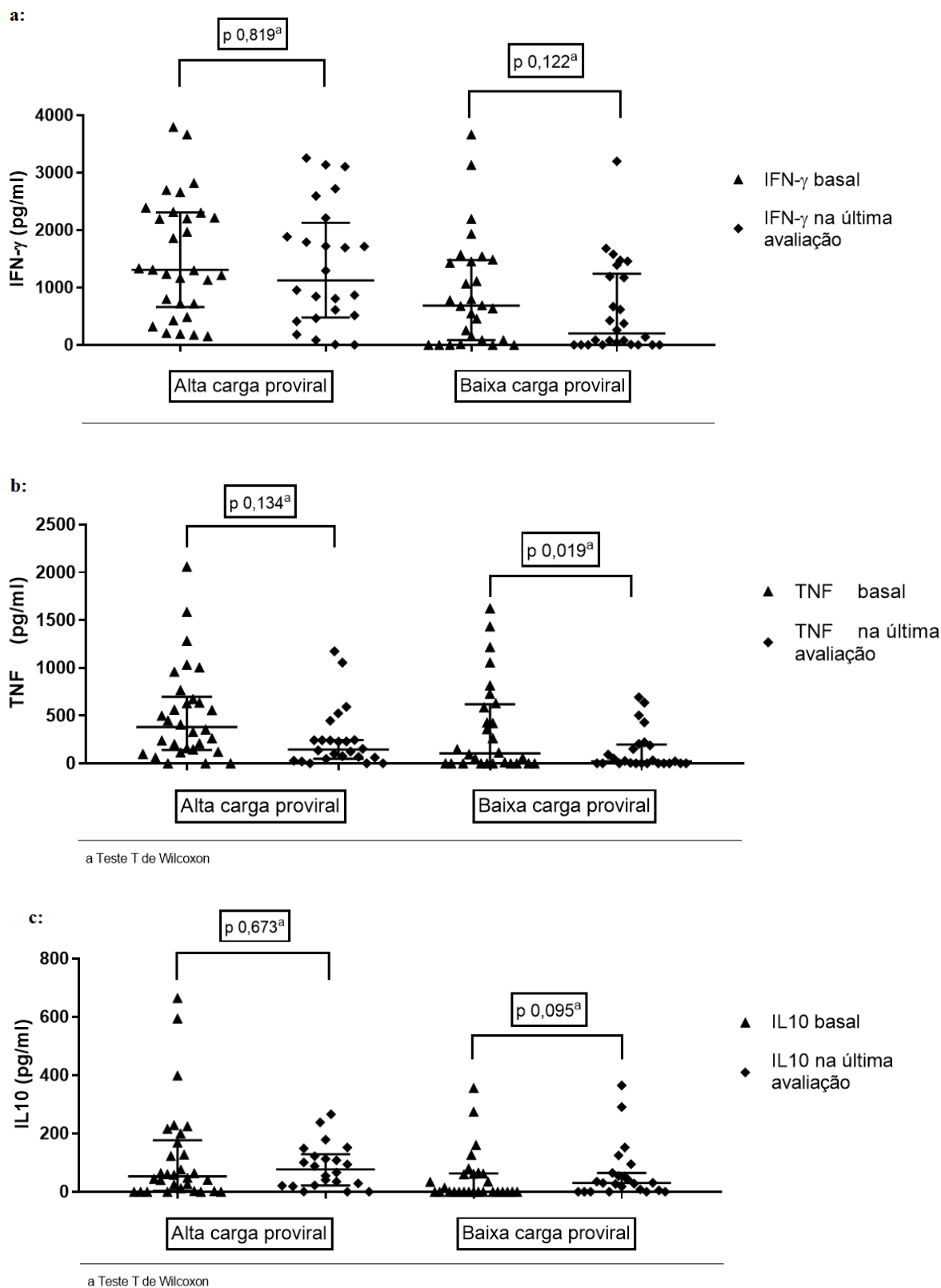


houve mudança significativa na carga proviral nos indivíduos que apresentavam baixa carga (4.821 na admissão e 6.141 cópias/10<sup>6</sup>CMSP na última avaliação,  $p > 0,99$ ).

### ***Produção de citocinas***

A produção de citocinas por ocasião da admissão e na última avaliação em indivíduos portadores HTLV-1 sem HAM/TSP com alta e baixa carga proviral é mostrada na figura 2.

**Figura 2a-c. Concentração de citocinas em sobrenadantes de culturas de células mononucleares não estimuladas de portadores de HTLV-1 com alta e baixa carga proviral por ocasião da admissão no estudo e na última avaliação.**

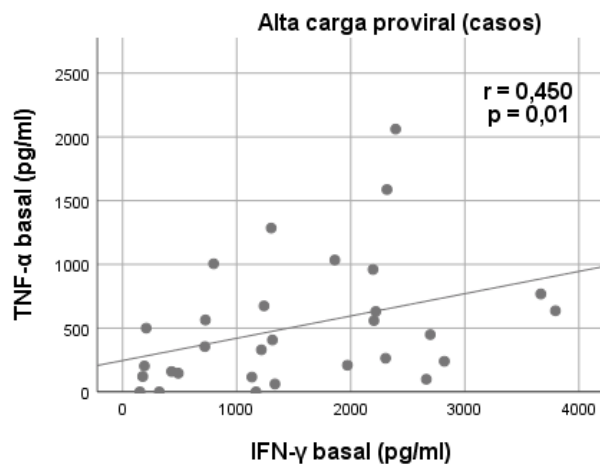


Por ocasião da admissão, a produção de IFN- $\gamma$  e de IL10 foi maior nos portadores com alta carga proviral do que nos portadores com baixa carga proviral. A produção de TNF- $\alpha$  nos indivíduos com alta carga proviral foi de 381 (140-697pg/ml), sendo maior que nos portadores com baixa carga [105 (0-619pg/ml)], mas essa diferença não teve significância estatística (p 0,06). Nossos dados, avaliando portadores do vírus com alta e baixa carga proviral durante a coorte, mostraram que enquanto não houve diferença na produção de interferon- $\gamma$  nos indivíduos com alta carga proviral durante o período da coorte [1.308 (623-2.308pg/ml) na admissão e 1496 (451-2.307pg/ml) na avaliação final], foi observada uma redução na produção de TNF nos indivíduos com baixa carga proviral (p <0,02).

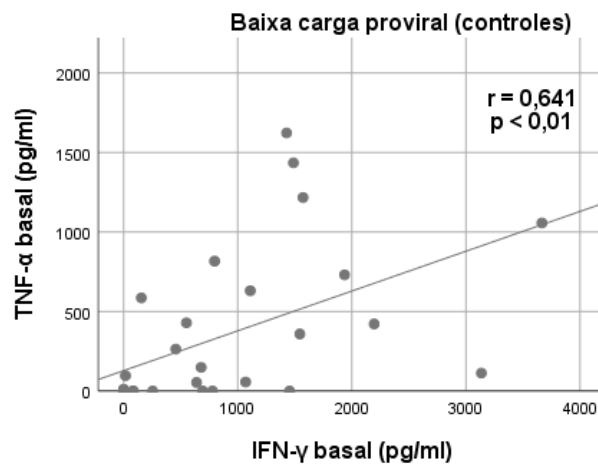
Avaliamos também a existência de correlação entre as citocinas determinadas e a correlação entre as citocinas com a carga proviral. O coeficiente de correlação de Spearman e sua significância foi utilizado para avaliar a correlação das concentrações séricas das citocinas IFN- $\gamma$  e TNF (figura 3a-d).

**Figura 3a-d: Correlação de Spearman entre as citocinas interferon- $\gamma$  e TNF nos indivíduos com alta e baixa carga proviral por ocasião da admissão e na avaliação final**

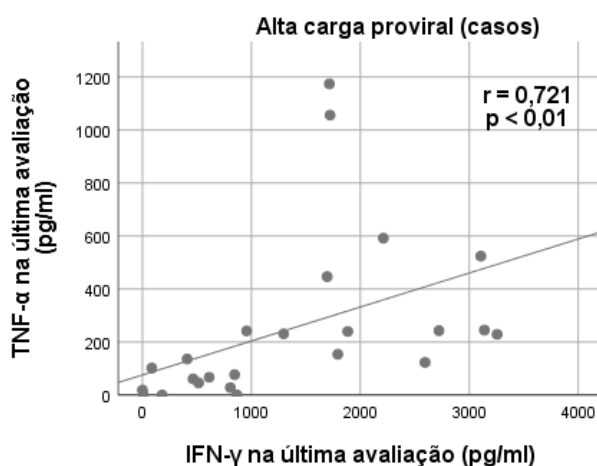
**a:**



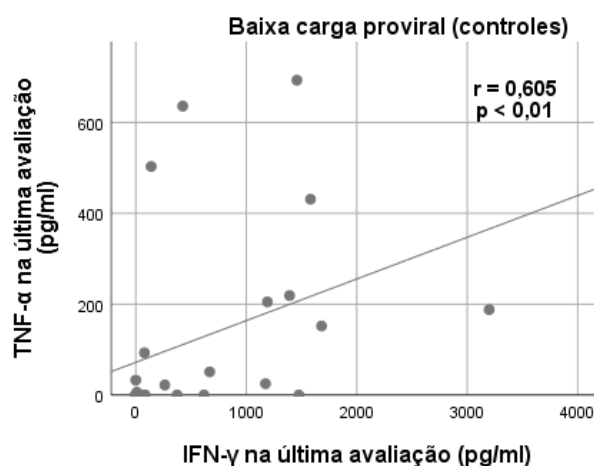
**b:**



**c:**



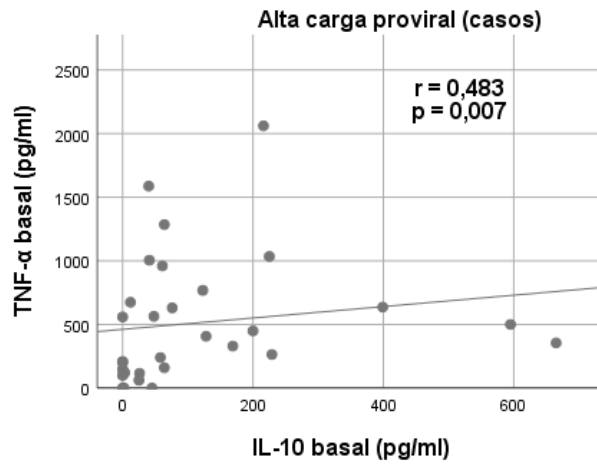
**d:**



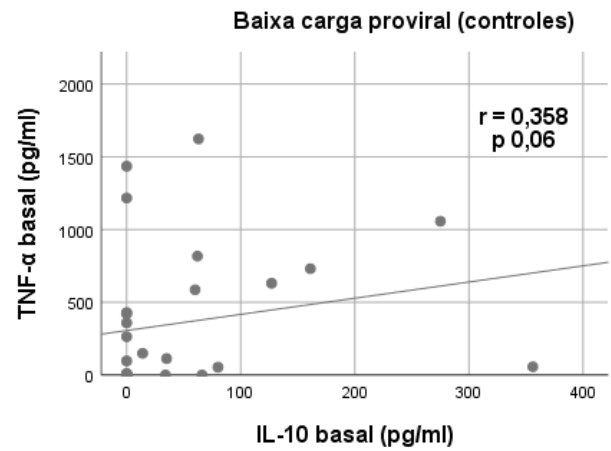
Houve uma correlação direta entre IFN- $\gamma$  e TNF nos indivíduos com alta carga proviral na primeira avaliação  $r = 0,45$  ( $p = 0,01$ ) e também nos portadores com baixa carga proviral  $r = 0,641$  ( $p < 0,01$ ). Essa correlação se manteve positiva na avaliação final tanto nos indivíduos com alta carga pro  $r = 0,721$   $p < 0,01$  como nos indivíduos com baixa carga proviral  $r = 0,605$  ( $p < 0,01$ ). A correlação entre a produção de TNF e IL10 em portadores com alta e baixa carga proviral por ocasião da admissão e na última avaliação é mostrada na figura 4a-d.

**Figura 4a-d: Correlação de Spearman entre as citocinas IL-10 e TNF nos indivíduos com alta e baixa carga proviral por ocasião da admissão e na avaliação final**

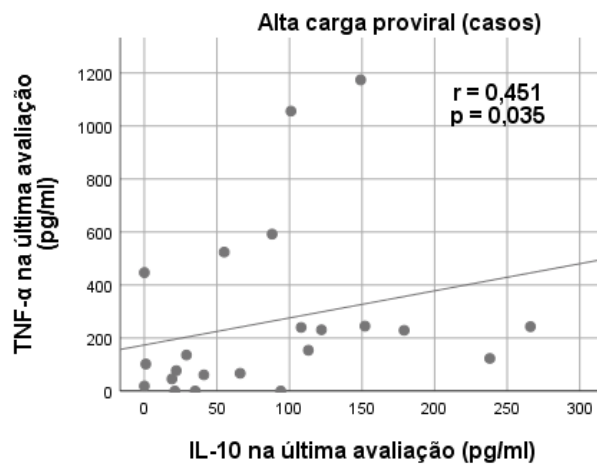
**a:**



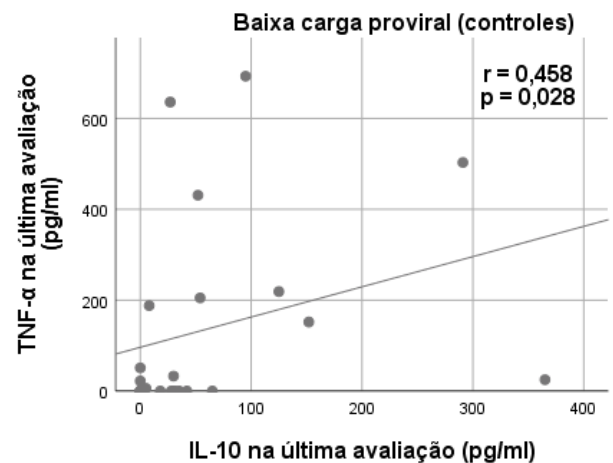
**b:**



**c:**

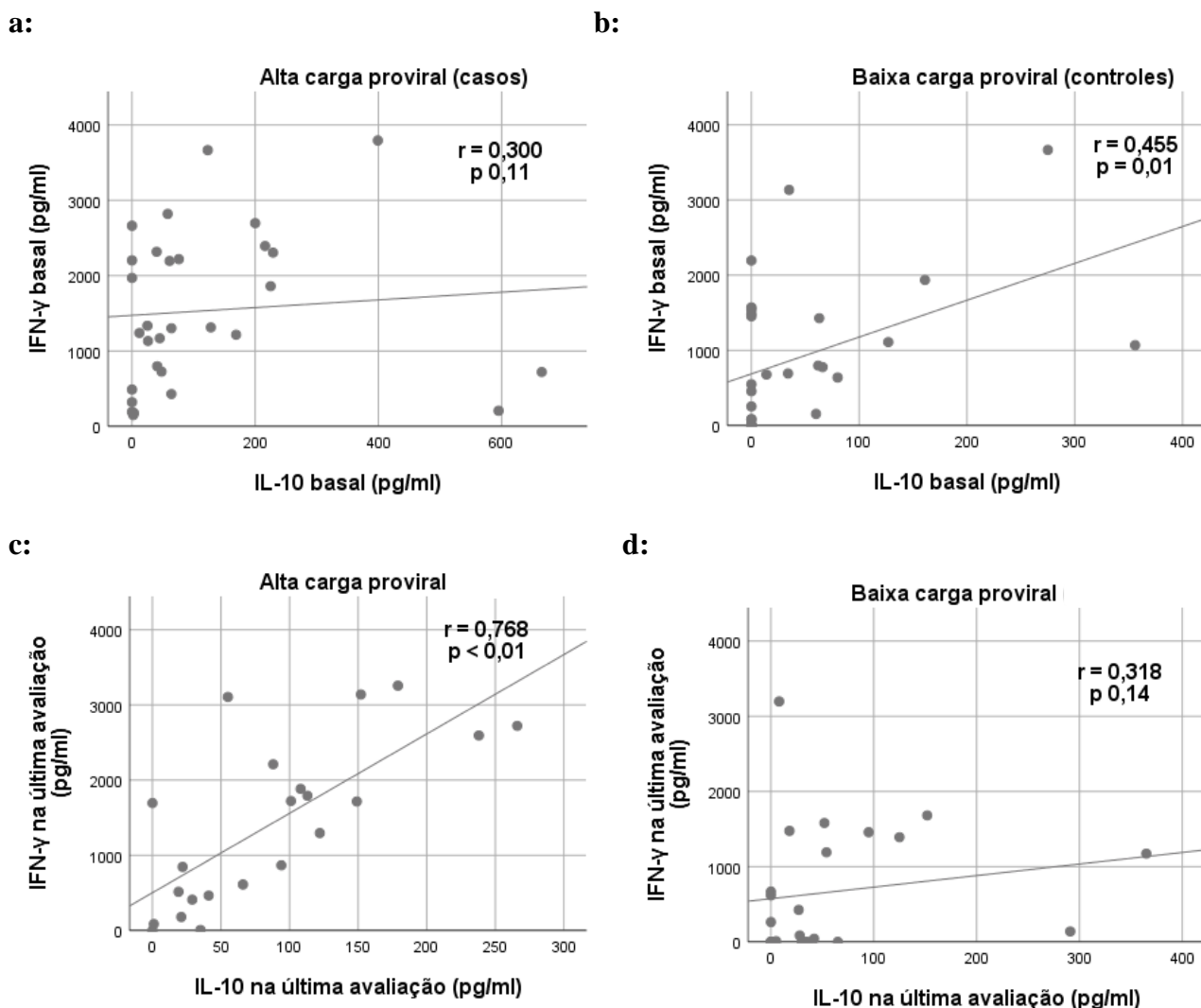


**d:**



Enquanto houve uma correlação direta entre TNF- $\alpha$  e IL-10 na avaliação inicial ( $r = 0,483$   $p < 0,01$ ), isso não foi observado nos indivíduos com baixa carga ( $r = 0,358$   $p = 0,06$ ). Por ocasião da última avaliação houve uma correlação positiva tanto nos indivíduos com alta carga proviral quanto com baixa proviral. A correlação entre a produção de IFN- $\gamma$  e IL-10 em portadores com alta e baixa carga proviral por ocasião da admissão e na última avaliação é mostrada na figura 5.

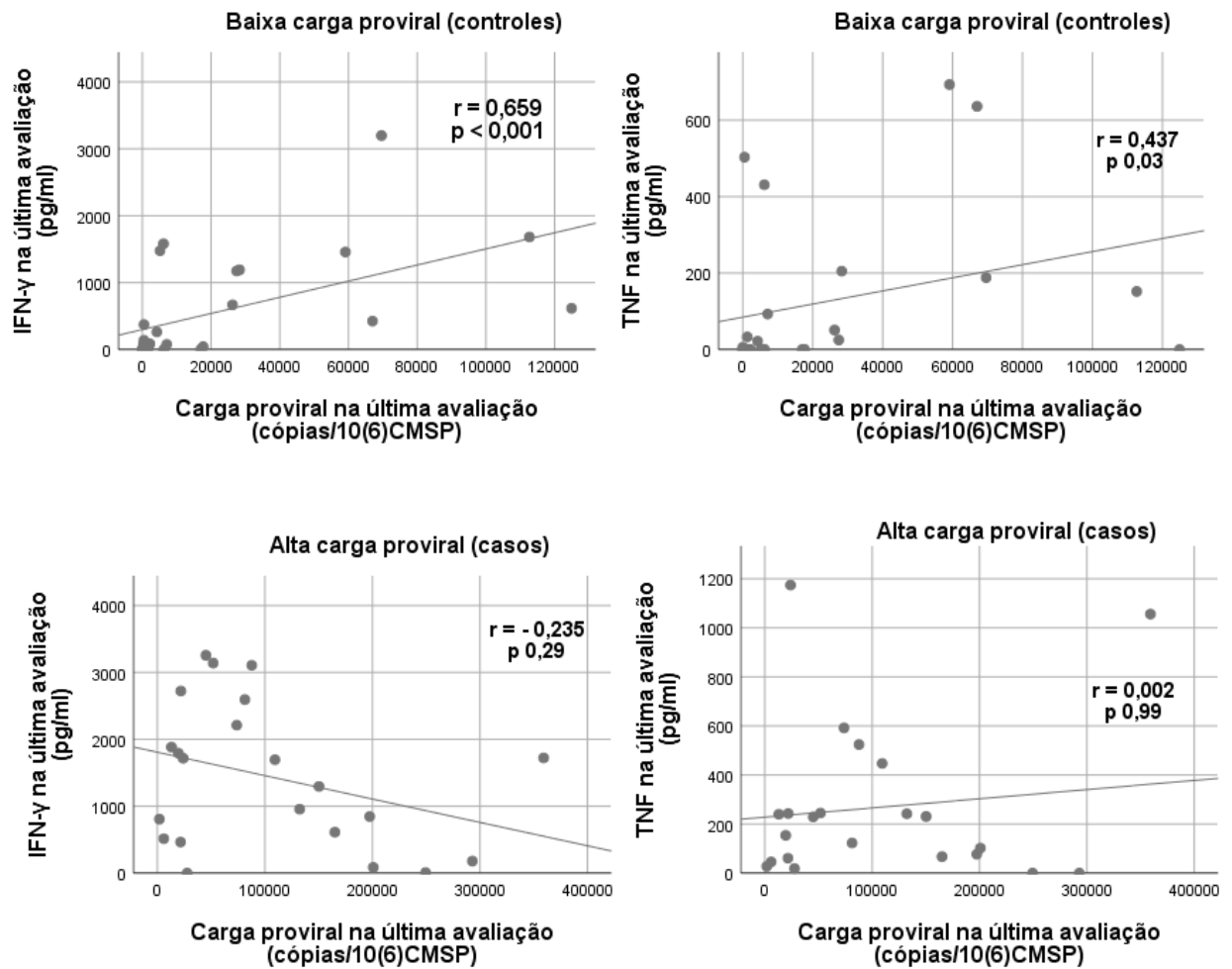
**Figura 5a-d: Correlação de Spearman entre as citocinas IFN- $\gamma$  e IL-10 nos indivíduos com alta e baixa carga proviral por ocasião da admissão e na avaliação final**



Enquanto na primeira avaliação não foi documentada uma correlação entre IFN- $\gamma$  e IL-10 ( $r = 0,300$ ,  $p = 0,11$ ) nos indivíduos com alta carga proviral, na avaliação final houve uma forte correlação entre IFN- $\gamma$  e IL-10 ( $r = 0,768$ ,  $p < 0,01$ ).

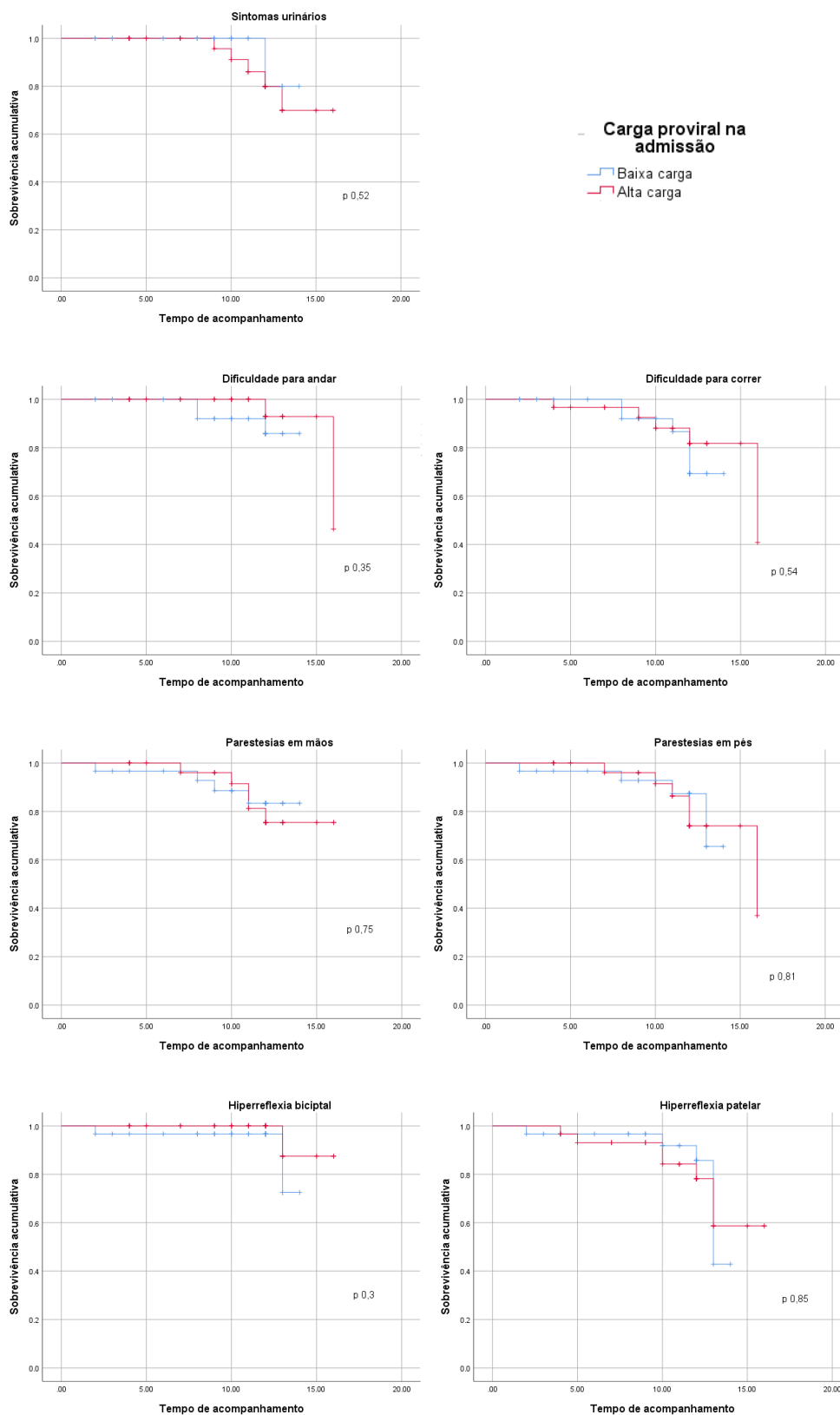
Avaliamos também a existência de associação entre a produção de citocinas e a carga proviral. Os dados significantes encontrados foram quando correlacionamos a carga proviral e a produção de IFN- $\gamma$  e TNF na última avaliação (figura 6).

**Figura 6: Correlação de Spearman entre IFN- $\gamma$ , TNF e a carga proviral nos indivíduos com alta e baixa carga proviral na avaliação final**



As curvas individuais de Kaplan-Meier e testes *log-rank* de comparação para os principais sintomas são apresentados na figura 7. Manifestações clínicas só foram modificadas após um período longo de acompanhamento e não houve diferença entre os sintomas urinários, dificuldade para andar e correr, parestesias em mãos e pés e hiperreflexia bicipital e patelar.

**Figura 7: Curvas de Kaplan-Meier para os principais sintomas nos indivíduos infectados pelo HTLV-1, conforme carga proviral na admissão.**



Tempo de acompanhamento em anos



## VI. DISCUSSÃO

A carga proviral é considerada isoladamente como principal fator de risco para o desenvolvimento da mielopatia associada ao HTLV-1. Vários estudos têm documentado que a carga proviral em pacientes com HAM/TSP é mais elevada do que em portadores do vírus (GRASSI et al., 2011; MATSUZAKI et al., 2001; NAGAI et al., 1998; OLINDO et al., 2005). Adicionalmente estudos mais recentes têm mostrado que diferente do conceito tradicional que a infecção pelo HTLV-1 é associada com baixa morbidade, a maioria dos indivíduos infectados por esse vírus apresentam sintomas relacionados com o sistema neurológico (BISWAS et al., 2009; CASKEY et al., 2008; TANAJURA et al., 2015) e com outros aparelhos e sistemas, como maior frequência de distúrbios urinários característicos de bexiga neurogênica (CASTRO et al., 2007; TROISGROS et al., 2017), maior frequência de disfunção erétil (DE OLIVEIRA et al., 2017), xerostomia, xeroftalmia (LIMA et al., 2016), poliartropatia (FRENZEL et al., 2014) e doença periodontal (GARLET et al., 2010). Apesar da associação entre alta carga proviral e a HAM/TSP, bexiga neurogênica e dermatite infecciosa (NAGAI et al., 1998; NASCIMENTO et al., 2009; PRIMO et al., 2009; SANTOS et al., 2012) é conhecido uma subpopulação de indivíduos infectados pelo vírus que não apresentam doença neurológica (DEMONTEIS; HILBURN; TAYLOR, 2013; GRASSI et al., 2011; MARTINS et al., 2017).

Um outro marcador de comprometimento neurológico associado a infecção pelo HTLV-1 é a produção exagerada de citocinas pró-inflamatórias. Pacientes com HAM/TSP apresentam concentrações mais elevadas de citocinas pró-inflamatórias como IFN- $\gamma$  e TNF, CXCL9, CXCL10, IL-1 beta e IL-6 (DOMINGOS et al., 2017; GUERREIRO et al., 2006; SOUZA et al., 2012). Com a finalidade de melhor entender a importância da carga proviral e das alterações imunológicas no desenvolvimento de sintomas associados ao HTLV-1 em portadores do vírus, comparamos em um estudo de coorte as manifestações neurológicas e clínicas e a resposta imune em indivíduos infectados pelo HTLV-1 sem HAM/TSP que por ocasião da admissão do estudo apresentavam alta ou baixa carga proviral.

Aproximadamente 1 a 4% dos indivíduos infectados pelo HTLV-1 desenvolvem HAM/TSP, dependendo da etnia (BANGHAM, 2018). A idade de início da mielopatia associada ao HTLV-1 está em torno de 50 anos (GOTUZZO et al., 2004; MARTIN et al., 2010; MATSUZAKI et al., 2001; OLINDO et al., 2006, 2018). Os dois grupos de

portadores de HTLV-1 do presente estudo apresentaram perfil demográfico e epidemiológico semelhante, com uma idade média superior a 50 anos na última avaliação, e nos 2 - 16 anos de acompanhamento, não apresentaram evidências de HAM/TSP. Admite-se que a transfusão sanguínea é um fator associado a HAM/TSP (GOUT et al., 1990; KURODA et al., 1992). Coinfecções podem também modificar a evolução clínica dos indivíduos infectados pelo HTLV-1 (BEILKE et al., 2004; TURPIN et al., 2018). No nosso estudo, esses aspectos foram comparados nos dois grupos não demonstrando diferença da história de transfusão sanguínea, nem na existência de coinfecções.

No estudo realizado por Biswas e colaboradores (BISWAS et al., 2009) com infectados com HTLV-1 e HTLV-2, sem mielopatia associada, comparados com controles soronegativos foi mostrado que os infectados com HTLV-1 tiveram a ocorrência maior de sintomas neurológicos, como fraqueza em membros inferiores, hiperreflexia, sinal de Babinski e alteração da sensibilidade vibratória, do que os últimos. Sintomas urinários também foram mais prevalentes em grupos de HTLV-1 e HTLV-2. Em estudo transversal prévio comparando sintomas em indivíduos infectados pelo HTLV-1 e doadores sadios, foi evidenciado que indivíduos soropositivos eram mais propensos a apresentar fraqueza em membros, parestesias, sintomas urinários, hiperreflexia, sinal de Babinski e disfunção erétil (CASKEY et al., 2008).

Tanajura e colaboradores (TANAJURA et al., 2015) também observaram que muitos portadores de HTLV-1 apresentam queixas neurológicas relacionadas às manifestações sensoriais, como parestesias em mãos e pés, dificuldade para deambular ou correr e sintomas urinários. Cabe ressaltar que no trabalho citado indivíduos classificados inicialmente como assintomáticos, mas que apresentavam queixas urinárias características de bexiga neurogênica poderiam ter o diagnóstico de provável HAM/TSP. No nosso estudo, houve uma baixa incidência de sintomas neurológicos e urinários auto-reportados, sendo afastado após avaliação com neurologista e urologista o diagnóstico de HAM/TSP provável e definida. Na análise de sobrevida pelo método de Kaplan-Meier, Tanajura e colaboradores (2015), também demonstraram que, de acordo com a piora de pelo menos 1 ponto na escala de EDSS, indivíduos do sexo feminino e indivíduos com alta carga proviral tiveram uma pior sobrevida. No presente estudo, apesar da observação de que as manifestações clínicas foram modificadas após um período longo de acompanhamento, não houve diferença entre os sintomas urinários e neurológicos.

Além das queixas urinárias e neurológicas avaliamos no presente estudo se houve diferença entre os grupos com relação a poliartralgia, xerostomia, xeroftalmia e doença periodontal. Todas essas manifestações foram semelhantes nos dois grupos por ocasião da admissão, exceto pela maior frequência de parestesias em mãos no grupo de indivíduos com alta CPV quando comparados com o grupo controle e pela maior presença de xerostomia no grupo com alta carga proviral durante o acompanhamento. Apesar de ter sido reportada previamente em outros estudos com a mesma base populacional (CASKEY et al., 2008; POETKER et al., 2011; TANAJURA et al., 2015), a frequência de parestesias em mãos é difícil de se justificar. Os participantes do estudo poderiam ter sido mais propensos a relatar um sintoma que julgavam estar relacionados à infecção pelo vírus, outra possibilidade seria a presença de etiologias alternativas ou fatores adicionais, como a síndrome do túnel do carpo. Estudos de condução nervosa precisam ser realizados para elucidação deste achado.

Estudos prévios comparando portadores de HTLV-1 e controles soronegativos encontraram uma maior frequência de xerostomia nos indivíduos infectados pelo vírus, entretanto a carga proviral não foi avaliada (CASKEY et al., 2008; POETKER et al., 2011). Em um estudo transversal comparando carga viral entre indivíduos infectados pelo HTLV-1 com ou sem síndrome seca e sem mielopatia associada, não foi encontrada uma diferença entre a carga proviral nos grupos (LIMA et al., 2016). No entanto, no presente estudo, encontramos uma maior frequência de xerostomia no grupo com alta carga proviral durante o acompanhamento.

Diferenças significativas da carga proviral tem sido observadas entre carreadores e indivíduos sintomáticos, incluindo pacientes com HAM/TSP, em estudos transversais prévios (COELHO-DOS-REIS et al., 2013; KAMIHIRA et al., 2003; LEZIN et al., 2005; MANNS et al., 1999; NAGAI et al., 1998; ROSA et al., 2018; STARLING et al., 2013). Em nosso estudo foram identificados inicialmente 92 indivíduos acompanhados no ambulatório que apresentavam alta ou baixa carga proviral sem evidência de mielopatia, sendo incluídos na análise 60 pacientes, 30 desses indivíduos com alta carga proviral. Demontis e colaboradores (DEMONTIS; HILBURN; TAYLOR, 2013) demonstraram em estudo anterior uma diminuição significativa da carga proviral entre a primeira e a última avaliação em portadores de HTLV-1, entretanto os indivíduos não foram estratificados conforme a carga proviral inicial para análise.

Ao contrário do observado em estudos prévios, nos quais foram demonstradas uma relativa estabilidade da carga proviral ao longo do período de acompanhamento (KWAAN et al., 2006; MARTINS et al., 2017; NILLA OLAVARRIA et al., 2012; TAKENOUCI et al., 2003; TAYLOR et al., 1999), no nosso estudo houve uma diferença significativa entre o valor da carga proviral na admissão (mediana 120.848 cópias/ $10^6$ PBMC) e na última avaliação (71.896 cópias/ $10^6$ PBMC;  $p < 0,02$ ) nos indivíduos com alta carga proviral por ocasião da admissão, fato não observado nos indivíduos com baixa carga proviral. Cabe ressaltar que nenhum dos indivíduos fizeram uso de imunossuppressores ou corticoides, bem como não estavam em uso de medicações que podem ter um efeito supressivo no sistema imune, como valproato (GILLET et al., 2007; QUEIROZ; MULLEN, 1992) e alguns antidepressivos (EYRE et al., 2016). Embora não seja possível afastar que a redução da carga proviral represente apenas uma variação que possa ocorrer durante a infecção, é possível que a redução observada nos portadores com alta carga proviral represente uma capacidade de controlar a infecção.

Apesar do aumento na carga proviral já ter sido observada antes da progressão para leucemia/linfoma de células T do adulto em estudo prévio (OKAYAMA et al., 2004) e ter sido considerado um marcador de progressão da HAM/TSP (MATSUZAKI et al., 2001; OLINDO et al., 2005), não se sabe ao certo se o aumento da carga proviral é o resultado ou a causa do desenvolvimento das doenças associadas ao HTLV-1. Ademais, foi observado em um estudo, que em geral, não houve um aumento progressivo da carga proviral antes do desenvolvimento de HAM/TSP, entretanto foram avaliados apenas 6 pacientes (MARTINS et al., 2017). A alta carga proviral leva à ativação das células T que contribuem para a passagem das células através da barreira hematoencefálica. Estudos recentes mostraram que as células da glia infectadas na medula espinhal produzem concentrações mais elevadas de CXCL10 (ANDO et al., 2013; SATO et al., 2013), uma citocina conhecida por recrutar células T para o sítio de inflamação. É conhecido que os pacientes com HAM/TSP tem carga proviral maior que os portadores do vírus e que essa carga poderá ter uma grande variação (NILLA OLAVARRIA et al., 2012). Um estudo anterior mostrou que uma carga proviral superior a 50.000 cópias para  $10^6$  / linfócitos é um bom preditor para o diagnóstico de HAM/TSP (GRASSI et al., 2011).

Sabe-se que a HAM/TSP é uma manifestação tardia de infecção pelo HTLV-1 ocorrendo geralmente após a quarta década. No entanto, crianças que tiveram história prévia de dermatite infecciosa desenvolvem HAM/TSP durante a adolescência ou quando

adultos jovens (DE OLIVEIRA et al., 2005). A documentação de que crianças com dermatite infecciosa sem evidência de HAM/TSP apresentam carga proviral e citocinas pró-inflamatórias tão elevadas quanto pacientes com mielopatia dá suporte para o importante papel da alta carga proviral do HTLV-1 na indução da progressão precoce dos portadores de HTLV-1 para HAM/TSP. No entanto, no presente estudo portadores de HTLV-1 com alta carga proviral e acompanhados por longo período não apresentaram uma maior frequência de doenças clínicas ou neurológicas que portadores do HTLV-1 com baixa carga proviral.

Estudos prévios sugerem que fatores adicionais podem determinar a carga proviral do HTLV-1 e o risco de HAM/TSP. Na população japonesa, por exemplo, a presença de dois genes de HLA classe 1 (HLA-A\*02 ou HLA-Cw\*08) foi associada a um menor carga proviral e diminuição da prevalência de HAM/TSP (ARAUJO, 2015; ASSONE et al., 2016; JEFFERY et al., 2000), enquanto outros foram associados a um risco aumentado como o HLA-DRB1\*0101 e o HLA-B\*5401 (ASSONE et al., 2016; TREVIÑO et al., 2013). Estudo recente sugere que o polimorfismo do gene IFN- $\gamma$  +874 T/A em portadores do vírus pode estar associado a progressão para sintomas e doenças relacionadas ao HTLV-1 (QUEIROZ et al., 2018), fatores não investigados na nossa coorte.

O perfil Th1 predomina na resposta imune à infecção pelo HTLV-1, com produção de citocinas como IFN- $\gamma$  e TNF, além de IL-6 e quimiocinas como CCL3 e CCL4 (NECO et al., 2017). Como o HTLV-1 infecta predominantemente células T e tem a capacidade de induzir a proliferação e ativação celular, os indivíduos infectados pelo HTLV-1 produzem citocinas mesmo em culturas de células não estimuladas. Células mononucleares de portadores produzem altos níveis de citocinas regulatórias como a IL-10 quando comparados com indivíduos soronegativos (CARVALHO et al., 2001). A alta produção de IL-10 em indivíduos assintomáticos e a capacidade de modular a resposta imune com redução da resposta inflamatória pode explicar o estado clínico desses indivíduos (SOUZA et al., 2012). Existem muitos estudos mostrando que a concentração de citocinas pró-inflamatórias no soro e no sobrenadantes de CMSP são mais elevados em pacientes com HAM/TSP que portadores de HTLV-1 (GRASSI et al., 2011; MATSUZAKI et al., 2001; NAGAI et al., 1998; OLINDO et al., 2005). Porém, além da produção elevada de citocinas pró-inflamatórias, pacientes com mielopatia exibem uma capacidade reduzida de modular a resposta de células T. Enquanto tanto a IL-10 quanto a TGF- $\beta$  reduzem a produção de IFN- $\gamma$  e TNF em portadores de HTLV-1, a resposta

imunológica não é afetada por citocinas ou seus antagonistas nos indivíduos com HAM/TSP (SANTOS et al., 2006). É importante avaliar se nos portadores de HTLV-1 com alta carga proviral a resposta imunológica mediada pelas células T é modulada pela IL-10.

No nosso estudo houve uma grande variação na produção de IFN- $\gamma$  nos grupos, havendo concentrações semelhantes entre alguns indivíduos com alta e baixa carga proviral, mas a mediana da produção dessa citocina no grupo com alta carga proviral foi maior que o observado nos indivíduos com baixa carga proviral tanto por ocasião da admissão quanto na avaliação final. Foi observado uma sobreposição de valores de IFN- $\gamma$  em portadores em comparação com indivíduos com HAM/TSP em estudos prévios realizados com a mesma base populacional, embora a produção de IFN- $\gamma$  tenha sido maior nos pacientes com HAM/TSP do que em portadores (SANTOS et al., 2004, 2006). O IFN- $\gamma$  está envolvido em vários mecanismos da resposta imune mediada por células T CD4<sup>+</sup> ou T CD8<sup>+</sup> em indivíduos infectados pelo HTLV-1 (STARLING et al., 2013). O fato de portadores de HTLV-1 com anormalidades imunológicas semelhantes a pacientes com HAM/TSP não desenvolverem a doença pode ser devido a mecanismos reguladores *in vivo* que diminuem a proliferação e secreção de citocinas pró-inflamatórias (SANTOS et al., 2006).

O IFN- $\gamma$  é frequentemente expresso em lesões ativas-crônicas, além de poder ativar monócitos e macrófagos de modo que eles produzem mais mediadores que contribuem para a amplificação da resposta imune *in situ* (UMEHARA et al., 1994). Seu papel em células residentes no SNC permanece menos explorado. Aliás, vários estudos têm questionado o papel apenas patogênico do IFN- $\gamma$ , e evidências acumulativas atribuem a ele um papel protetor em doenças autoimunes como a esclerose múltipla. O IFN- $\gamma$  também pode exercer efeitos opostos na função e integridade da barreira hematoencefálica e da barreira sanguínea da medula espinhal (OTTUM et al., 2015). Nas células infectadas pelo HTLV-1 no SNC a inflamação crônica seria resultado de um feedback positivo, no qual a produção de IFN- $\gamma$  induz os astrócitos a secretar CXCL10, que recruta mais células infectadas para a área via CXCR3 (ANDO et al., 2013). Foi evidenciado que astrócitos reativos “A1” contribuem para a morte de neurônios e oligodendrócitos. A microglia ativada, induzida provavelmente por mudanças na ativação clássica (IFN- $\gamma$ /LPS) e alternativa (IL4/IL-10) leva a ativação dos astrócitos A1 secretando Il-1 $\alpha$ , TNF e C1q. Os astrócitos A1 perdem a capacidade de promover a

sobrevivência neuronal e induzem a morte de neurônios e oligodendrócitos, sugerindo os efeitos sinérgicos da micróglia e dos astrócitos nas doenças relacionadas à neuroinflamação (LIDDELOW et al., 2017).

A análise da existência de correlação entre a carga proviral e as citocinas nos dois grupos estudados mostrou perfis distintos. Enquanto os portadores de baixa carga proviral apresentaram uma correlação direta entre a produção de IFN- $\gamma$  e TNF e a carga proviral na última avaliação, no grupo de indivíduos com alta carga proviral essa correlação não foi observada. A existência de uma correlação entre carga proviral e a produção de citocinas foi observada em outros estudos (LIMA et al., 2016; STARLING et al., 2013). É possível que enquanto em indivíduos com baixa carga proviral exista uma maior interferência com relação a produção de citocinas, nos indivíduos com alta carga proviral, onde um grande número de citocinas podem estar elevadas, a relação entre a maior inflamação e a carga proviral não influencia uma produção esperada de citocinas inflamatórias.

Vários estudos demonstraram uma produção de TNF em indivíduos assintomáticos e pacientes com HAM/TSP (SANTOS et al., 2004; STARLING et al., 2013, 2015). Esta citocina estimula a secreção de quimiocinas e outras citocinas, suprimindo a atividade de células T reguladoras (NECO et al., 2017). Além disso, em conformidade com estudo prévio (BRITO-MELO et al., 2007), foi observado uma correlação direta entre os níveis de TNF e IL-10. A IL-10 é uma importante citocina imunorreguladora que inibe a resposta imune tanto do tipo 1 quanto do tipo 2. No nosso estudo, foi evidenciado uma correlação positiva e direta entre IL-10 e IFN- $\gamma$  na última avaliação no grupo de indivíduos com alta carga proviral. Foi relatado que a IL-10 é capaz de modular a produção de IFN- $\gamma$  em indivíduos portadores de HTLV-1 (CARVALHO et al., 2001). Espíndola e colaboradores sugerem que a alta taxa de expressão de IFN- $\gamma$  / IL-10 em pacientes com alta carga proviral, podem auxiliar na identificação de portadores com alto risco de desenvolver HAM/TSP (ESPÍNDOLA et al., 2015).

Nosso estudo tem algumas limitações. A amostra de 60 indivíduos infectados com o vírus pode ser considerada pequena e não pode ser afastado que se o grupo de portadores de HTLV-1 fosse acompanhado por um período maior de tempo, o desenvolvimento de doenças associadas poderia ocorrer no grupo de indivíduos com alta carga proviral. Todavia a redução da carga proviral no grupo de indivíduos com alta carga na admissão

e a não ocorrência de tal fato no outro grupo dá apoio a ideia que a despeito da carga proviral e uma resposta inflamatória exagerada, outros fatores estejam envolvidos na proteção da infecção pelo HTLV-1 e no desenvolvimento de HAM/TSP.



## VII. CONCLUSÃO

Os participantes deste estudo foram seguidos por um longo período. Ao contrário do observado em estudos prévios nos quais a carga proviral manteve uma certa estabilidade ao longo dos anos, no nosso estudo foi observado uma queda na carga proviral no grupo de indivíduos com alta carga proviral. A ausência de desenvolvimento de HAM/TSP definitiva ou provável em indivíduos infectados pelo HTLV-1 com alta carga proviral indica que outros fatores que não os níveis da carga proviral possam contribuir para o desenvolvimento de doenças associadas ao HTLV-1 ou que mecanismos de defesa capazes de reduzir a infecção viral podem ser desenvolvidos durante a infecção pelo HTLV-1

A existência de uma correlação direta entre as citocinas pro-inflamatórias (IFN- $\gamma$  e TNF) com a citocina anti-inflamatória (IL10) durante o acompanhamento pode ter contribuído para a ausência de observação de doença nos portadores com alta carga proviral. Apesar da correlação direta entre carga proviral e produção de citocinas pró-inflamatórias foi observada uma grande sobreposição dos valores relacionados com a produção das citocinas pró-inflamatórias IFN- $\gamma$  e TNF em infectados com alta e baixa carga proviral, indicando que outros fatores além da ativação celular e a produção exagerada de citocinas pró-inflamatórias contribuem para a passagem de células para o SNC.

## VIII. SUMMARY

**Introduction.** The human T cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) associated myelopathy/ Tropical Spastic Paraparesis (HAM/TSP) is the main neurologic disease caused by HTLV-1 but other neurologic and clinic manifestations associated to the virus are documented in more than 50% of infected subjects. A high proviral load (PVL) is recognized as a risk factor for HAM but there is a lack of prospective studies evaluating if HTLV-1 carriers with high PVL are at risk to develop HAM/TSP or other HTLV-1 related diseases. In this study we compare the incidence of clinic manifestations and the cytokine levels in HTLV-1 carries with high and low proviral load. **Methods.** Participants were 30 HTLV-1 high PVL carriers (> 50,000 copies/10<sup>6</sup>PBMC) and equal number of subjects with PVL lower than 50,000 copies/10<sup>6</sup>PBMC. They were followed by 3 to 16 years (median of 11 years). The PVL was measured by real time PCR and IFN- $\gamma$ , TNF and IL-10 levels were quantified by Elisa in supernatants of unstimulated mononuclear cells at entry and at the end of the follow-up. Abnormalities in the neurologic examination, development of HAM/TSP, urinary dysfunction, erectile dysfunction, periodontal disease and the occurrence of sicca syndrome were recorded annually. **Results.** Among the self-reported symptoms in the initial evaluation, only the presence of paresthesia on hands was more frequent in the group with high PVL (p .04). The production of IFN- $\gamma$  was higher in the group with high PVL group (median 1308 versus 686pg/ml, p<.011) when compared to the control group in the first assessment. During the follow-up there was a decreasing in the proviral load only among the cases. Moreover, there was no difference in the occurrence of urinary or erectile dysfunction, periodontal disease, sicca syndrome, neurologic signs between the two groups and non-patients developed HAM/TSP. **Conclusion.** HTLV-1 carries with high proviral load and with exaggerated inflammatory response may not progressed to HAM/TSP, indicating that other factors in addition to the proviral load are involved in the passage of HTLV-1 infected cells from the blood to the central nervous system.

Keywords: HTLV-1 associated myelopathy; HTLV-1; proviral load; HTLV-1 carriers; myelopathy

## IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAMY, A. H. et al. Dysautonomia in human T-cell lymphotropic virus type I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **Annals of neurology**, v. 50, n. 5, p. 681–5, nov. 2001.

ALFAHAD, T.; NATH, A. Retroviruses and amyotrophic lateral sclerosis. **Antiviral research**, v. 99, n. 2, p. 180–7, ago. 2013.

ANDO, H. et al. Positive feedback loop via astrocytes causes chronic inflammation in virus-associated myelopathy. **Brain**, v. 136, n. 9, p. 2876–2887, 2013.

ANDO, Y. et al. Long-term follow up study of vertical HTLV-I infection in children breast-fed by seropositive mothers. **Journal of Infection**, v. 46, n. 3, p. 177–179, 2003.

ANYANWU, N. C. J. S. et al. Re-emergence of human T-lymphotropic viruses in West Africa. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 22, n. 3, p. 224–234, 2018.

ARAKAWA, K. et al. Chronic polyradiculoneuropathy associated with human T-cell lymphotropic virus type I infection. **Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry**, v. 53, n. 4, p. 358–9, abr. 1990.

ARAUJO, A. Q. C. Update on Neurological Manifestations of HTLV-1 Infection. **Current Infectious Disease Reports**, v. 17, n. 2, p. 1–7, 2015.

ARAÚJO, A. Q. C. et al. HTLV-1 and neurological conditions: When to suspect and when to order a diagnostic test for HTLV-1 infection? **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 67, n. 1, p. 132–138, 2009.

ARAUJO, A. Q.; SILVA, M. T. T. The HTLV-1 neurological complex. **Lancet Neurology**, v. 5, n. 12, p. 1068–1076, 2006.

ASSONE, T. et al. Genetic markers of the host in persons living with HTLV-1, HIV and HCV infections. **Viruses**, v. 8, n. 2, 2016.

BANGHAM, C. R. M. et al. HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 1, n. August, p. 15012, 2015.

BANGHAM, C. R. M. Human T Cell Leukemia Virus Type 1: Persistence and Pathogenesis. **Annual review of immunology**, v. 36, n. November 2017, p. 43–71, 26 abr. 2018.

BEILKE, M. A. et al. Clinical outcomes and disease progression among patients coinfecting with HIV and human T lymphotropic virus types 1 and 2. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 39, n. 2, p. 256–63, 2004.

BISWAS, H. H. et al. Neurologic abnormalities in HTLV-I- and HTLV-II-infected individuals without overt myelopathy. **Neurology**, v. 73, n. 10, p. 781–9, 8 set. 2009.

BRITES, C. et al. Severe and Norwegian scabies are strongly associated with retroviral (HIV-1/HTLV-1) infection in Bahia, Brazil. **Aids**, v. 16, n. 9, p. 1292–1293, 2002.

BRITO-MELO, G. E. A. et al. IL-10 produced by CD4+ and CD8+ T cells emerge as a putative immunoregulatory mechanism to counterbalance the monocyte-derived TNF- $\alpha$  and guarantee asymptomatic clinical status during chronic HTLV-I infection. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 147, n. 1, p. 35–44, 2007.

CALATTINI, S. et al. Discovery of a new human T-cell lymphotropic virus (HTLV-3) in Central Africa. **Retrovirology**, v. 2, p. 4–7, 2005.

CARVALHO, E. M. et al. Cytokine profile and immunomodulation in asymptomatic human T-lymphotropic virus type 1-infected blood donors. **Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)**, v. 27, n. 1, p. 1–6, 1 maio 2001.

CARVALHO, N. B. et al. Impaired TNF, IL-1 $\beta$ , and IL-17 production and increased susceptibility to Mycobacterium tuberculosis infection in HTLV-1 infected individuals. **Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)**, v. 108, n. October 2017, p. 35–40, 2018.

CASKEY, M. F. et al. Clinical Manifestations Associated with HTLV Type I Infection: A Cross-Sectional Study. **Aids**, v. 23, n. 3, p. 365–371, 2008.

CASTILLO, L. C. et al. Spinocerebellar syndrome in patients infected with human T-lymphotropic virus types I and II (HTLV-I/HTLV-II): report of 3 cases from Panama. **Acta neurologica Scandinavica**, v. 101, n. 6, p. 405–12, jun. 2000.

CASTRO-COSTA, C. M. D. E. et al. Proposal for Diagnostic Criteria of Tropical Spastic Paraparesis/HTLV-I- Associated Myelopathy (HAM/TSP). **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 22, n. 10, p. 931–935, 2006.

CASTRO, N. M. et al. Urinary symptoms associated with human T-cell lymphotropic virus type I infection: evidence of urinary manifestations in large group of HTLV-I carriers. **Urology**, v. 69, n. 5, p. 813–8, maio 2007.

COELHO-DOS-REIS, J. G. A. et al. Immunological Profile of HTLV-1-Infected Patients Associated with Infectious or Autoimmune Dermatological Disorders. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 7, 2013.

CRAWSHAW, A. A. et al. Human T-cell lymphotropic virus (HTLV)-associated encephalopathy: an under-recognised cause of acute encephalitis? Case series and literature review. **Journal of Neurology**, v. 265, n. 4, p. 871–879, 2018.

CRUICKSHANK, E. K. A neuropathic syndrome of uncertain origin: review of 100 cases. **The West Indian medical journal**, v. 5, n. 3, p. 147–58, 1956.

DALAKAS, M. C. Inflammatory, immune, and viral aspects of inclusion-body myositis. **Neurology**, v. 66, n. Issue 1, Supplement 1, p. S33–S38, 2006.

DE CARVALHO, M. M. N. et al. Frequency of rheumatic diseases in individuals infected with HTLV-1. [Portuguese]. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 46, n. 5, p. 315–322, 2006.

DE CASTRO, N. M. et al. Urodynamic features of the voiding dysfunction in HTLV-1 infected individuals. **International Braz J Urol**, v. 33, n. 2, p. 238–244, 2007.

DE LOURDES BASTOS, M. et al. Prevalence of human T-cell lymphotropic virus type 1 infection in hospitalized patients with tuberculosis. **The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease**, v. 13, n. 12, p. 1519–23, dez. 2009.

DE OLIVEIRA, C. J. V. et al. Risk Factors for Erectile Dysfunction in Men With HTLV-1. **Journal of Sexual Medicine**, v. 14, n. 10, p. 1195–1200, 2017.

DE OLIVEIRA, M. D. F. S. P. et al. Infective Dermatitis Associated with the Human T

Cell Lymphotropic Virus Type I in Salvador, Bahia, Brazil. **Clinical Infectious Diseases**, v. 40, n. 11, p. e90–e96, 2005.

DEHÉE, A. et al. Quantitation of HTLV-I proviral load by a TaqMan real-time PCR assay. **Journal of Virological Methods**, v. 102, n. 1–2, p. 37–51, 2002.

DEMONTIS, M. A.; HILBURN, S.; TAYLOR, G. P. Human T cell lymphotropic virus type 1 viral load variability and long-term trends in asymptomatic carriers and in patients with human T cell lymphotropic virus type 1-related diseases. **AIDS research and human retroviruses**, v. 29, n. 2, p. 359–64, fev. 2013.

DOMINGOS, J. A. et al. Cytokine profile and proviral load among Japanese immigrants and non-Japanese infected with HTLV-1 in a non-endemic area of Brazil. **PloS one**, v. 12, n. 4, p. e0174869, 2017.

DOUEN, A. G.; PRINGLE, C. E.; GUBERMAN, A. Human T-cell lymphotropic virus type 1 myositis, peripheral neuropathy, and cerebral white matter lesions in the absence of spastic paraparesis. **Archives of neurology**, v. 54, n. 7, p. 896–900, 1 jul. 1997.

DOURADO, I. et al. HTLV-I in the general population of Salvador, Brazil: a city with African ethnic and sociodemographic characteristics. **Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)**, v. 34, n. 5, p. 527–31, 15 dez. 2003.

EINSIEDEL, L. et al. Bronchiectasis is associated with human T-lymphotropic virus 1 infection in an Indigenous Australian population. **Clinical Infectious Diseases**, v. 54, n. 1, p. 43–50, 2012.

ESPÍNDOLA, O. M. et al. 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. **Intervirolgy**, v. 58, n. 2, p. 106–114, 2015.

EYRE, H. A. et al. Modulatory Effects of Antidepressant Classes on the Innate and Adaptive Immune System in Depression. **Pharmacopsychiatry**, v. 49, n. 3, p. 85–96, maio 2016.

FERRAZ-CHAOU, A. K. et al. Study of autoantibodies in patients with

keratoconjunctivitis sicca infected by the human T cell lymphotropic virus type 1. **Rheumatology international**, v. 30, n. 6, p. 775–8, abr. 2010.

FERREIRA, A. S. et al. Polymyositis in childhood as clinical manifestation associated with HTLV-1. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 68, n. 6, p. 962–964, 2010.

FERRO, F. et al. One year in review 2017: Primary Sjögren's syndrome. **Clinical and Experimental Rheumatology**, v. 35, n. 2, p. 179–191, 2017.

FEUER, G.; GREEN, P. L. Comparative biology of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2. **Oncogene**, v. 24, n. 39, p. 5996–6004, 5 set. 2005.

FRENZEL, L. et al. HTLV-1-associated arthropathy treated with anti-TNF-alpha agent. **Joint Bone Spine**, v. 81, n. 4, p. 360–361, 2014.

FUTSCH, N.; MAHIEUX, R.; DUTARTRE, H. HTLV-1, the Other Pathogenic Yet Neglected Human Retrovirus: From Transmission to Therapeutic Treatment. **Viruses**, v. 10, n. 1, p. 1–25, 2017.

GALVÃO-CASTRO B, ALCÂNTARA LCJ, GRASSI MFR, MOTA-MIRANDA ACA, QUEIROZ ATL, REGO FFA, ET AL. Epidemiologia e origem do HTLV-1 em Salvador Estado da Bahia: a cidade com a mais elevada prevalência desta infecção no Brasil. **Gaz Med Bahia**, v. 79, p. 3–10, 2009.

GALVÃO-CASTRO B, LOURES L, RODRIQUES LG, SERENO A, FERREIRA JÚNIOR OC, FRANCO LG, MULLER M, SAMPAIO DA, SANTANA A, PASSOS LM, P. F. Distribution of human T-lymphotropic virus type I among blood donors: a nationwide Brazilian study. **Transfusion**, v. 37, n. February, p. 242–243, 1997.

GARLET, G. P. et al. Association of Human T Lymphotropic Virus 1 Amplification of Periodontitis Severity with Altered Cytokine Expression in Response to a Standard Periodontopathogen Infection. **Clinical Infectious Diseases**, v. 50, n. 3, p. e11–e18, 2010.

GASCÓN, M. R. P. et al. Cognitive impairment is frequent among symptomatic carriers of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1), regardless of their clinical status. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 377, p. 185–189, 2017.

GESSAIN, A. et al. Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. **Lancet (London, England)**, v. 2, n. 8452, p. 407–10, 24 ago. 1985.

GESSAIN, A.; CASSAR, O. Epidemiological aspects and world distribution of HTLV-1 infection. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, n. NOV, p. 1–23, 2012.

GESSAIN, A.; MAHIEUX, R. Tropical spastic paraparesis and HTLV-1 associated myelopathy: Clinical, epidemiological, virological and therapeutic aspects. **Revue Neurologique**, v. 168, n. 3, p. 257–269, 2012.

GILBERT, D. T. et al. HTLV-1 associated polymyositis in Jamaica. **Acta Neurologica Scandinavica**, v. 104, n. 2, p. 101–104, 2001.

GILLET, N. et al. Histone deacetylase – mediated transcriptional activation reduces proviral loads in HTLV-1 – associated myelopathy / tropical spastic paraparesis patients. **Blood**, v. 110, n. 10, p. 3722–3728, 2007.

GOMES, J. A. S. et al. Evidence that development of severe cardiomyopathy in human Chagas' disease is due to a Th1-specific immune response. **Infection and Immunity**, v. 71, n. 3, p. 1185–1193, 2003.

GOTUZZO, E. et al. Strongyloides stercoralis hyperinfection associated with human T cell lymphotropic virus type-1 infection in Peru. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 60, n. 1, p. 146–149, 1999.

GOTUZZO, E. et al. Clinical Characteristics of Patients in Peru with Human T Cell Lymphotropic Virus Type 1–Associated Tropical Spastic Paraparesis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 39, n. 7, p. 939–944, 2004.

GOUT, O. et al. Rapid development of myelopathy after HTLV-I infection acquired by transfusion during cardiac transplantation. **The New England journal of medicine**, v. 322, n. 6, p. 383–8, 8 fev. 1990.

GRASSI, M. F. R. et al. Human T cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) proviral load of HTLV-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) patients according to new diagnostic criteria of HAM/TSP. **Journal of Medical Virology**, v. 83,



n. 7, p. 1269–1274, jul. 2011.

GUERREIRO, J. B. et al. Levels of serum chemokines discriminate clinical myelopathy associated with human T lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) disease from HTLV-1 carrier state. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 145, n. 2, p. 296–301, 2006.

HANSSON, G. K. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 352, n. 16, p. 1685–1695, 2005.

HARRIS, P. A. et al. Research Electronic Data Capture (REDCap) - A metadata driven methodology and workflow process for providing translational research informatic support. **Journal of Biomedical Informatics**, v. 42, n. 2, p. 377–81, 2009.

HERMINE, O.; RAMOS, J. C.; TOBINAI, K. A Review of New Findings in Adult T-cell Leukemia–Lymphoma: A Focus on Current and Emerging Treatment Strategies. **Advances in Therapy**, v. 35, n. 2, p. 135–152, 2018.

IJICHI, S. et al. An autoaggressive process against bystander tissues in HTLV-I-infected individuals: A possible pathomechanism of HAM TSP. **Medical Hypotheses**, v. 41, n. 6, p. 542–547, 1993.

IMAMURA, A. et al. Clinical manifestation of human T-cell lymphotropic virus type-I-associated myelopathy and vesicopathy. **Urologia Internationalis**, v. 46, n. 2, p. 149–153, 1991.

ISHITSUKA, K.; TAMURA, K. Human T-cell leukaemia virus type I and adult T-cell leukaemia-lymphoma. **The Lancet Oncology**, v. 15, n. 11, p. e517–e526, 2014.

IZUMO, S. Neuropathology of HTLV-1-associated myelopathy (HAM/TSP): The 50th Anniversary of Japanese Society of Neuropathology. **Neuropathology**, v. 30, n. 5, p. 480–485, 2010.

JEFFERY, K. J. M. et al. The Influence of HLA Class I Alleles and Heterozygosity on the Outcome of Human T Cell Lymphotropic Virus Type I Infection. **The Journal of Immunology**, v. 165, n. 12, p. 7278–7284, 2000.

KAMIHIRA, S. et al. Significance of HTLV-1 proviral load quantification by real-time

PCR as a surrogate marker for HTLV-1-infected cell count. **Clinical and Laboratory Haematology**, v. 25, n. 2, p. 111–117, 2003.

KINANE, D. F.; STATHOPOULOU, P. G.; PAPAPANOU, P. N. Periodontal diseases. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, p. 1–14, 2017.

KIRA, J. ICHI et al. Chronic progressive spinocerebellar syndrome associated with antibodies to human T-lymphotropic virus type I: clinico-virological and magnetic resonance imaging studies. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 115, n. 1, p. 111–116, 1993.

KIWAKI, T. et al. The clinical and pathological features of peripheral neuropathy accompanied with HTLV-I associated myelopathy. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 206, n. 1, p. 17–21, 2003.

KORN, G. P. et al. Correlação entre o grau de xerostomia e o resultado da sialometria em pacientes com Síndrome de Sjögren TT - Correlation between xerostomic level and the result of the sialometry in patients with Sjögren Syndrome. **Rev Bras Otorrinolaringol**, v. 68, n. 5, p. 624–628, 2002.

KURIYAMA, N. et al. Evaluation of autonomic malfunction in HTLV-1 associated myelopathy (HAM). **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 150, n. 1–2, p. 131–135, 2009.

KURODA, Y. et al. Development of HTLV-I-associated myelopathy after blood transfusion in a patient with aplastic anemia and a recipient of a renal transplant. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 109, n. 2, p. 196–199, 1992.

KURODA, Y.; FUJIYAMA, F.; NAGUMO, F. Analysis of factors of relevance to rapid clinical progression in HTLV-I-associated myelopathy. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 105, n. 1, p. 61–66, 1991.

KURTZKE, J. F. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: An expanded disability status scale (EDSS). **Neurology**, v. 33, n. 11, p. 1444–1444, 1983.

KWAAN, N. et al. Long-term variations in human T lymphotropic virus (HTLV)-I and HTLV-II proviral loads and association with clinical data. **The Journal of infectious**

**diseases**, v. 194, n. 11, p. 1557–64, 1 dez. 2006.

LECLERCQ, M. et al. Paralysie faciale à bascule révélatrice d'une infection à Human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1). **Revue de Medecine Interne**, v. 36, n. 10, p. 701–705, 2015.

LEITE, A. C. C. et al. Peripheral neuropathy in HTLV-I infected individuals without tropical spastic paraparesis/HTLV-I-associated myelopathy. **Journal of Neurology**, v. 251, n. 7, p. 877–881, 2004.

LEVIN, M. C. et al. Autoimmunity due to molecular mimicry as a cause of neurological disease. **Nature medicine**, v. 8, n. 5, p. 509–13, maio 2002.

LEZIN, A. et al. Human T lymphotropic virus type I (HTLV-I) proviral load in cerebrospinal fluid: a new criterion for the diagnosis of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis? **The Journal of infectious diseases**, v. 191, n. 11, p. 1830–4, 1 jun. 2005.

LIDDELOW, S. A. et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. **Nature**, v. 541, n. 7638, p. 481–487, 2017.

LIMA, C. M. et al. Association of sicca syndrome with proviral load and proinflammatory cytokines in HTLV-1 infection. **Journal of Immunology Research**, v. 2016, p. 1–6, 2016.

LINS, L. et al. 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**, v. 84, n. 9, p. 1428–36, set. 2012.

MAHIEUX, R.; GESSAIN, A. [New human retroviruses: HTLV-3 and HTLV-4]. **Medecine tropicale : revue du Corps de sante colonial**, v. 65, n. 6, p. 525–8, nov. 2005.

MAHIEUX, R.; GESSAIN, A. The human HTLV-3 and HTLV-4 retroviruses: New members of the HTLV family. **Pathologie Biologie**, v. 57, n. 2, p. 161–166, 2009.

MANNS, A. et al. Quantitative proviral DNA and antibody levels in the natural history of HTLV-I infection. **Journal of Infectious Diseases**, v. 180, n. 5, p. 1487–1493, 1999.

MARINHO, J. et al. Increased risk of tuberculosis with human T-lymphotropic virus-1 infection: a case-control study. **Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)**, v. 40, n. 5, p. 625–8, 15 dez. 2005.

MARTIN, F. et al. A 15-year prospective longitudinal study of disease progression in patients with HTLV-1 associated myelopathy in the UK. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, v. 81, n. 12, p. 1336–1340, 2010.

MARTIN, J. L. et al. Molecular studies of HTLV-1 replication: An update. **Viruses**, v. 8, n. 2, p. 1–22, 2016.

MARTINEZ, A. R. M. et al. Sensory neuropathy heralding human T cell lymphotropic virus type I myelopathy. **Journal of neurovirology**, v. 24, n. 3, p. 369–371, jun. 2018.

MARTINS, M. L. et al. Long-term follow-up of HTLV-1 proviral load in asymptomatic carriers and in incident cases of HAM/TSP: what is its relevance as a prognostic marker for neurologic disease? **Journal of NeuroVirology**, v. 23, n. 1, p. 125–133, 2017.

MATSUOKA, M. Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I) infection and the onset of adult T-cell leukemia (ATL). **Retrovirology**, v. 2, p. 1–13, 2005.

MATSUZAKI, T. et al. HTLV-1 proviral load correlates with progression of motor disability in HAM/TSP: Analysis of 239 HAM/TSP patients including 64 patients followed up for 10 years. **Journal of NeuroVirology**, v. 7, n. 3, p. 228–234, 2001.

MONTGOMERY, R. D. et al. CLINICAL AND PATHOLOGICAL OBSERVATIONS ON JAMAICAN NEUROPATHY; A REPORT ON 206 CASES. **Brain : a journal of neurology**, v. 87, n. September, p. 425–62, set. 1964.

MORGAN, D. J. et al. Brain magnetic resonance imaging white matter lesions are frequent in HTLV-I carriers and do not discriminate from HAM/TSP. **AIDS research and human retroviruses**, v. 23, n. 12, p. 1499–504, dez. 2007.

MORGAN, O. S. et al. HTLV-1 and polymyositis in Jamaica. **Lancet (London, England)**, v. 2, n. 8673, p. 1184–7, 18 nov. 1989.

MOTOKAWA, S. et al. High prevalence of arthropathy in HTLV-I carriers on a Japanese island. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 55, n. 3, p. 193–5, mar. 1996.

MURPHY, E. et al. Human t-lymphotropic virus type I (HTLV-I) seroprevalence in Jamaica: I. Demographic determinants. **American Journal of Epidemiology**, v. 133, n. 11, p. 1114–1124, 1991.

NAGAI, M. et al. Analysis of HTLV-I proviral load in 202 HAM/TSP patients and 243 asymptomatic HTLV-I carriers: high proviral load strongly predisposes to HAM/TSP. **Journal of neurovirology**, v. 4, n. 6, p. 586–93, dez. 1998.

NAKAO, K. et al. Clinical course of HTLV-I-associated uveitis. **Japanese Journal of Ophthalmology**, v. 43, n. 5, p. 404–409, 1999.

NAKAO, K.; ABEMATSU, N.; SAKAMOTO, T. Systemic diseases in patients with HTLV-1-associated uveitis. **The British journal of ophthalmology**, v. 102, n. 3, p. 373–376, 2018.

NASCIMENTO, M. C. F. et al. Infective dermatitis has similar immunological features to human T lymphotropic virus-type 1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 156, n. 3, p. 455–462, 2009.

NASCIMENTO, O. J. M.; MARQUES, W. Human T-cell leukemia virus (HTLV)-associated neuropathy. **Handbook of Clinical Neurology**, v. 115, p. 531–541, 2013.

NECO, H. V. P. DA C. et al. Mediators Go Together: High Production of CXCL9, CXCL10, IFN- $\gamma$ , and TNF- $\alpha$  in HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis. **AIDS research and human retroviruses**, v. 33, n. 11, p. 1134–1139, nov. 2017.

NILLA OLAVARRIA, V. et al. Evolution of HTLV-1 proviral load in patients from Salvador, Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 4, p. 357–360, 2012.

NISHIOKA, K. et al. Chronic inflammatory arthropathy associated with HTLV-I. **Lancet (London, England)**, v. 1, n. 8635, p. 441, 25 fev. 1989.

NISHIOKA, K. HTLV-I arthropathy and Sjögren syndrome. **Journal of acquired immune deficiency syndromes and human retrovirology : official publication of the International Retrovirology Association**, v. 13 Suppl 1, p. S57-62, 1996.

NUNES, D. et al. HTLV-1 is predominantly sexually transmitted in Salvador, the city

with the highest HTLV-1 prevalence in Brazil. **PLoS ONE**, v. 12, n. 2, p. 1–10, 2017.

OKAYAMA, A. et al. Role of HTLV-1 proviral DNA load and clonality in the development of adult T-cell leukemia/lymphoma in asymptomatic carriers. **International Journal of Cancer**, v. 110, n. 4, p. 621–625, 2004.

OLINDO, S. et al. HTLV-1 proviral load in peripheral blood mononuclear cells quantified in 100 HAM/TSP patients: A marker of disease progression. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 237, n. 1–2, p. 53–59, 2005.

OLINDO, S. et al. Natural History of Human T-Lymphotropic Virus 1–Associated Myelopathy. **Archives of neurology**, v. 63, p. 1560–1566, 2006.

OLINDO, S. et al. Temporal trends in Human T-Lymphotropic virus 1 (HTLV-1) associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) incidence in Martinique over 25 years (1986-2010). **PLoS neglected tropical diseases**, v. 12, n. 3, p. e0006304, 2018.

OLIVEIRA, P. et al. Prevalence of erectile dysfunction in HTLV-1-infected patients and its association with overactive bladder. **Urology**, v. 75, n. 5, p. 1100–3, maio 2010.

OLIVEIRA, P.; CASTRO, N. M. DE; CARVALHO, E. M. Urinary and sexual manifestations of patients infected by HTLV-I. **Clinics Sao Paulo Brazil**, v. 62, n. 2, p. 191–196, 2007.

OLIVEIRA, W. N. et al. The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of human tegumentary leishmaniasis. **Cytokine**, v. 66, n. 2, p. 127–132, 2014.

ORGANIZATION, W. H. Human T lymphotropic virus type I , HTLV-I MALADIES À VIRUS Virus T-lymphotrope humain type I , HTLV-I. **Weekly Epidemiological Record = Relevé épidémiologique hebdomadaire**, v. 64, n. (49), p. 382–383, 1989.

ORTIZ, B. D. M. et al. Infective dermatitis in an adult patient with HTLV-1. **American Journal of Dermatopathology**, v. 37, n. 12, p. 944–948, 2015.

OSAME, M. et al. HTLV-I associated myelopathy, a new clinical entity. **Lancet (London, England)**, v. 1, n. 8488, p. 1031–2, 3 maio 1986.

OSAME, M. Pathological mechanisms of human T-cell lymphotropic virus type I-associated myelopathy (HAM/TSP). **Journal of Neurovirology**, v. 8, n. 5, p. 359–364, 2002.

OTTUM, P. A. et al. Opposing roles of interferon-gamma on cells of the central nervous system in autoimmune neuroinflammation. **Frontiers in Immunology**, v. 6, n. OCT, p. 1–8, 2015.

OZDEN, S. et al. Direct Evidence for a Chronic CD8+-T-Cell-Mediated Immune Reaction to Tax within the Muscle of a Human T-Cell Leukemia/Lymphoma Virus Type 1-Infected Patient with Sporadic Inclusion Body Myositis. **Journal of Virology**, v. 78, n. 19, p. 10320–10327, 2004.

PAIVA, A.; CASSEB, J. Origin and prevalence of human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and type 2 (HTLV-2) among indigenous populations in the Americas. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 57, n. 1, p. 1–13, 2015.

PANDYA, J. M. et al. Blood chemokine profile in untreated early rheumatoid arthritis: CXCL10 as a disease activity marker. **Arthritis Research and Therapy**, v. 19, n. 1, p. 1–12, 2017.

PHILLIPS, A. A.; HAREWOOD, J. C. K. Adult T Cell Leukemia-Lymphoma (ATL): State of the Art. **Current Hematologic Malignancy Reports**, v. 13, n. 4, p. 300–307, 2018.

POETKER, S. K. W. et al. Clinical manifestations in individuals with recent diagnosis of HTLV type I infection. **Journal of Clinical Virology**, v. 51, n. 1, p. 54–58, 2011.

POIESZ, B. J. et al. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 77, n. 12, p. 7415–7419, 1980.

POVEDA, C. et al. Cytokine profiling in chagas disease: Towards understanding the association with infecting *Trypanosoma cruzi* discrete typing units (A benefit trial sub-study). **PLoS ONE**, v. 9, n. 3, p. 1–8, 2014.

PRIMO, J. et al. Infective dermatitis and human T cell lymphotropic virus type 1-

associated myelopathy/tropical spastic paraparesis in childhood and adolescence.

**Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 41, n. 4, p. 535–541, 2005.

PRIMO, J. et al. High HTLV-1 proviral load, a marker for HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis, is also detected in patients with infective dermatitis associated with HTLV-1. **Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas**, v. 42, n. 8, p. 761–4, ago. 2009.

QUARESMA, J. A. S. et al. HTLV-1, immune response and autoimmunity. **Viruses**, v. 8, n. 1, p. 2–11, 2015.

QUEIROZ, M. A. F. et al. IFNG +874A/T Polymorphism Among Asymptomatic HTLV-1-Infected Individuals Is Potentially Related to a Worse Prognosis. **Frontiers in microbiology**, v. 9, n. May, p. 795, 2018.

QUEIROZ, M. L.; MULLEN, P. W. Effects of sodium valproate on the immune response. **International journal of immunopharmacology**, v. 14, n. 7, p. 1133–7, out. 1992.

RAULINO GONCALVES, L. et al. Characterization of cognitive performance and evaluation of quality of life among patients with HTLV-1. **Clinical neurology and neurosurgery**, v. 160, n. September 2016, p. 142–146, set. 2017.

RAZA, S. M. S.; PYATT, J. R. Nocturnal hypertension and autonomic dysfunction due to human T-lymphotropic virus type-1 (HTLV-1)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) [4]. **International Journal of Cardiology**, v. 107, n. 3, p. 424–426, 2006.

RIBEIRO, I. P. et al. HTLV-1 and -2 in a first-time blood donor population in Northeastern Brazil: Prevalence, molecular characterization, and evidence of intrafamilial transmission. **Journal of medical virology**, 2018.

RODGERS-JOHNSON, P. et al. HTLV-I and HTLV-III antibodies and tropical spastic paraparesis. **Lancet (London, England)**, v. 2, n. 8466, p. 1247–8, 30 nov. 1985.

ROSA, D. V. et al. Plasma and cerebrospinal fluid levels of cytokines as disease markers



of neurologic manifestation in long-Term HTLV-1 infected individuals. **Biomarkers in Medicine**, v. 12, n. 5, p. 447–454, 2018.

RUDIN, W. et al. Interferon- $\gamma$  is essential for the development of cerebral malaria. **European Journal of Immunology**, v. 27, n. 4, p. 810–815, 1997.

SANTOS, S. B. et al. Exacerbated inflammatory cellular immune response characteristics of HAM/TSP is observed in a large proportion of HTLV-I asymptomatic carriers. **BMC infectious diseases**, v. 4, p. 7, 2 mar. 2004.

SANTOS, S. B. et al. Modulation of T cell responses in HTLV-1 carriers and in patients with myelopathy associated with HTLV-1. **Neuroimmunomodulation**, v. 13, n. 3, p. 145–51, 2006.

SANTOS, S. B. et al. Immunological and viral features in patients with overactive bladder associated with human T-cell lymphotropic virus type 1 infection. **Journal of medical virology**, v. 84, n. 11, p. 1809–17, nov. 2012.

SATO, T. et al. CSF CXCL10, CXCL9, and Neopterin as Candidate Prognostic Biomarkers for HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 10, p. 1–11, 2013.

SATO, T. et al. Proposal of Classification Criteria for HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis Disease Activity. **Frontiers in microbiology**, v. 9, n. July, p. 1651, 2018a.

SATO, T. et al. Mogamulizumab (Anti-CCR4) in HTLV-1-Associated Myelopathy. **The New England journal of medicine**, v. 378, n. 6, p. 529–538, 8 fev. 2018b.

SHIMAZAKI, R. et al. Chronic sensory neuronopathy associated with human T-cell lymphotropic virus type I infection. **Journal of the neurological sciences**, v. 194, n. 1, p. 55–8, 15 fev. 2002.

SHIMOYAMA, M. Diagnostic criteria and classification of clinical subtypes of adult T-cell leukaemia-lymphoma. A report from the Lymphoma Study Group (1984-87). **British journal of haematology**, v. 79, n. 3, p. 428–37, nov. 1991.

SILVA, M. T. T. et al. Neuropsychological assessment in HTLV-1 infection: A

comparative study among TSP/HAM, asymptomatic carriers, and healthy controls. **Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry**, v. 74, n. 8, p. 1085–1089, 2003.

SILVA, M. T. T. et al. ALS syndrome in HTLV-I infection. **Neurology**, v. 65, n. 8, p. 1332–3, 25 out. 2005.

SOUZA, A. et al. Immunopathogenesis and neurological manifestations associated to HTLV-1 infection. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 45, n. 5, p. 545–552, 2012.

STARLING, A. L. B. et al. 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**, v. 125, n. 1, p. 75–81, 2013.

STARLING, A. L. B. et al. Immunological signature of the different clinical stages of the HTLV-1 infection: Establishing serum biomarkers for HTLV-1-associated disease morbidity. **Biomarkers**, v. 20, n. 6–7, p. 502–512, 2015.

STEGLICH, R. B. et al. HTLV-1-associated infective dermatitis and probable HTLV-1-associated myelopathy in an adolescent female. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 90, n. 3 Suppl 1, p. 55–8, 2015.

TAKAHASHI, T. et al. Treatment for HTLV-I associated arthropathy: A case study and synovial tissue culture analysis. **Rheumatology International**, v. 26, n. 1, p. 74–79, 2005.

TAKENOUCHI, N. et al. Usefulness of proviral load measurement for monitoring of disease activity in individual patients with human T-lymphotropic virus type I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **Journal of NeuroVirology**, v. 9, n. 1, p. 29–35, 2003.

TAKI, M. et al. A case report of HTLV-I associated myelopathy presenting with cerebellar ataxia and nystagmus. **Auris Nasus Larynx**, v. 38, n. 3, p. 411–414, 2011.

TANAJURA, D. et al. Neurological Manifestations in Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1)-Infected Individuals Without HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis: A Longitudinal Cohort Study. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of**

**America**, v. 61, n. 1, p. 49–56, 1 jul. 2015.

TANIGUCHI, A. et al. Adult T cell leukemia presenting with proliferative synovitis. **Arthritis and rheumatism**, v. 31, n. 8, p. 1076–7, ago. 1988.

TAYLOR, G. P. et al. Prospective study of HTLV-I infection in an initially asymptomatic cohort. **Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)**, v. 22, n. 1, p. 92–100, 1 set. 1999.

TREVIÑO, A. et al. Association between HLA alleles and HAM/TSP in individuals infected with HTLV-1. **Journal of Neurology**, v. 260, n. 10, p. 2551–2555, 2013.

TROISGROS, O. et al. Retrospective clinic and urodynamic study in the neurogenic bladder dysfunction caused by human T cell lymphotropic virus type 1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). **Neurourology and Urodynamics**, v. 36, n. 2, p. 449–452, fev. 2017.

TURPIN, J. et al. Impact of Hepatitis B Virus Coinfection on Human T-Lymphotropic Virus Type 1 Clonality in an Indigenous Population of Central Australia. **The Journal of infectious diseases**, n. Xx Xxxx, p. 1–6, 2018.

UCHIYAMA, T. et al. Adult T-cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases. **Blood**, v. 50, n. 3, p. 481–92, set. 1977.

UMEHARA, F. et al. Cytokine expression in the spinal cord lesions in HTLV-I-associated myelopathy. **Journal of neuropathology and experimental neurology**, v. 53, n. 1, p. 72–7, jan. 1994.

UTSUNOMIYA, A. et al. Recent advances in the treatment of adult T-cell leukemia-lymphomas. **Cancer Science**, v. 106, n. 4, p. 344–351, 2015.

YAMANO, Y. et al. Abnormally high levels of virus-infected IFN- $\gamma$  +CCR4+CD4+CD25+ T cells in a retrovirus-associated neuroinflammatory disorder. **PLoS ONE**, v. 4, n. 8, 2009.

## ANEXO I

## Serviço de Imunologia - Ambulatório Multidisciplinar de HTLV-1

## Questionário de admissão na coorte de HTLV-1

## I- Identificação

1-Nome: \_\_\_\_\_

2-Registro da Pesquisa: |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_| 3- Data da entrevista \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

4-Registro do HUPES: |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|

5-Origem: O Banco de Sangue  
 O Clínica Neurológica  
 O Outras clínicas  
 O Familiar  
 O Pré-natal  
 O Outros \_\_\_\_\_

6-Sexo: O Feminino / O Masculino

7-Idade: \_\_\_\_\_ anos 8- Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

9-Estado civil: O Solteiro  
 O Casado ou morando junto  
 O Divorciado ou separado  
 O Viúvo

10-Naturalidade: \_\_\_\_\_ UF \_\_\_\_\_

11-Endereço Atual: \_\_\_\_\_

Cidade \_\_\_\_\_ CEP |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_| - |\_|\_|\_|\_|\_| UF \_\_\_\_\_

12-Telefones para contato:

Telefone1 ( ) \_\_\_\_\_ Telefone2 ( ) \_\_\_\_\_

13-Raça: O Branca / O Mulata / O Negra / O Outra

14- Atividade Profissional (Trabalho) : \_\_\_\_\_

15- Familiar acompanhando nesse ambulatório? O Sim / O Não

Se sim, quem: \_\_\_\_\_



10-Você já utilizou drogas injetáveis? O Sim / O Não / O Sem Informação

### III- Ficha de Comorbidades

1-Você tem ou já teve alguma dessas doenças?

	SIM	NÃO
Diabetes (DM)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Hipertensão Arterial (HAS)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Hipotireoidismo	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Anemia Falciforme	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Tuberculose	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Insuficiência renal com dialise	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Câncer	<input type="radio"/>	O qual: _____
Transplante	<input type="radio"/>	O qual: _____

2-Você bebe bebida alcoólica? O Sim / O Não

3-Você fuma? O Sim / O Não

### IV – Questionário Clínico Geral

Data da entrevista \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

1. Você está em uso de algum medicamento? O Sim / O Não

Med1: \_\_\_\_\_

Med2: \_\_\_\_\_

Med3: \_\_\_\_\_

Med4: \_\_\_\_\_

Med5: \_\_\_\_\_

2. Em média quantas vezes por dia você urina? O. Menos que 4 vezes

O. 4 a 6 vezes

O. 7 a 10 vezes

O. Mais que 10 vezes

O. Não informado

3. Você levanta a noite para urinar habitualmente? O Sim / O Não / O Sem Informação

4. Se sim, em média, quantas vezes por noite você levanta para urinar? O. De 1 a 2 vezes

O. De 3 a 4 vezes

O. Mais que 4 vezes

5. Quando você tem vontade de urinar tem que ir correndo ao banheiro porque não consegue controlar a bexiga?  O Sim /  O Não /  O Sem Informação

6. Você perde urina na roupa?  O Sim /  O Não /  O Sem Informação

Se sim, provocado por esforço ou não?  O provocado por esforço /  O sem esforço

7. Você faz força para esvaziar a bexiga?  O Sim /  O Não /  O Sem Informação

8. Você sente dor ou ardor ao urinar?  O Sim /  O Não /  O Sem Informação

9. Nos últimos 12 meses:

a. Você sentiu fraqueza nos braços que durou mais que uma semana?  O Sim /  O Não

b. Você sentiu fraqueza nas pernas que durou mais que uma semana?  O Sim /  O Não

c. Você sentiu alguma dificuldade para andar?  O Sim /  O Não

d. Você sentiu alguma dificuldade para correr?  O Sim /  O Não

e. Você tem sentido dormência ou formigamento em suas mãos?  O Sim /  O Não

f. Você tem sentido dormência ou formigamento nos seus pés?  O Sim /  O Não

10. Você já teve a sensação de areia nos olhos?  O Sim /  O Não

11. você sente falta de lágrimas/olhos secos?  O Sim /  O Não

12. Você tem sensação de boca seca?  O Sim /  O Não

13. Você tem sangramento nas gengivas?  O Sim /  O Não

## V - Avaliação Sorológica

1-WB HTLV:  O negativo  
 O HTLV-1  
 O HTLV-2  
 O HTLV-1/2  
 O indeterminado  
 O soro positivo para HTLV

2- Anti-HIV :  O Negativo /  O Positivo /  O não realizado

3- AgHBs (Hepatite B)  O Negativo /  O Positivo /  O não realizado

4- Anti-HBc total (Hepatite B)  O Negativo /  O Positivo /  O não realizado

5- Anti-HBs (Hepatite B)  O Negativo /  O Positivo /  O não realizado

Se positivo, título: 1/|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|

- 6- Anti-HBC (Hepatite C) O Negativo / O Positivo / O não realizado  
 7- VDRL (Sífilis ) O Negativo / O Positivo / O não realizado  
 Se positivo, título: 1/|\_|\_|\_|\_|\_|  
 8- Doença de Chagas O Negativo / O Positivo / O não realizado

9- Realizou exame de Líquor:

O Sim / O Não Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

- Leucócitos (LCR): |\_|\_|\_|\_|\_|\_| células  
 Proteínas (LCR): |\_|\_|\_|\_|\_| mg  
 Glicose (LCR): |\_|\_|\_|\_|\_|g/dl  
 HTLV no líquido: O Negativo / O Positivo / O não realizado

#### VI – Avaliação Laboratorial anual:

1- Hemograma:

- hematócrito (HCT) |\_|\_|\_|, |\_|\_|\_| %  
 hemoglobina (HB) |\_|\_|\_|, |\_|\_|\_| g/dl  
 leucócitos |\_|\_|\_|\_|\_|\_| células  
 bastões |\_|\_|\_|, |\_|\_|\_| %  
 segmentados |\_|\_|\_|, |\_|\_|\_| %  
 linfócitos |\_|\_|\_|, |\_|\_|\_| %  
 linf. atípicos |\_|\_|\_|, |\_|\_|\_| %  
 eosinófilos |\_|\_|\_|, |\_|\_|\_| %  
 monócitos |\_|\_|\_|, |\_|\_|\_| %  
 basófilos |\_|\_|\_|, |\_|\_|\_| %  
 plaquetas |\_|\_|\_|\_| x 1000

2- Sumário de Urina

Leucócitos: O numerosos / O raros

Nº de cels /campo: \_\_\_\_\_ (se numerosos =100, se raros ou sem alterações= 0)

Fator reumatóide ( Se  $\geq 1:20=P$ , se  $< 1:20=N$ ): O Negativo / O Positivo / O não realizado

PCR (Se  $> 6 =P$ , se  $<6=N$ ): O Negativo / O Positivo / O não realizado



PCR quantitativo:     |\_|\_|, |\_|\_|

Fator anti-núcleo (FAN):     O Negativo / O Positivo / O não realizado

VHS: \_\_\_\_\_

### 3- Parasitológico de fezes

1ª amostra: O Negativo / O Positivo / O não realizado     Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

2ª amostra: O Negativo / O Positivo / O não realizado     Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

3ª amostra: O Negativo / O Positivo / O não realizado     Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Se positivo:

O Strongiloides stercoralis

O Entamoeba hystolitica

O Schistosoma mansoni

O Entamoeba nana

O Ascaris lumbricoides

O Enterobius vermicularis

O Ancylostomo duodenalis

O I. butschili

O Trichiurus trichiurus

O Giardia lamblia

### VII- Ficha Reumatológica

1. Nos últimos 12 meses você teve dores em alguma de suas articulações que duraram mais que uma semana? O Sim / O Não . Se sim: O monoarticular / O Oligoarticular / O Poliarticular

2 Presença de **sinovite**? O Sim / O Não

ombro D     ( )                      ombro E     ( )

cotovelo D     ( )                      cotovelo E     ( )

punho D     ( )                      punho E     ( )

mão D     ( )                      mão E     ( )

quadril D     ( )                      quadril E     ( )

joelho D     ( )                      joelho E     ( )

tornozelo D     ( )                      tornozelo E     ( )

pé D     ( )                      pé E     ( )

3. Presença de **rigidez articular**:     O Sim / O Não

ombro D     ( )                      ombro E     ( )

cotovelo D     ( )                      cotovelo E     ( )

punho D     ( )                      punho E     ( )

mão D     ( )                      mão E     ( )

quadril D     ( )                      quadril E     ( )

joelho D ( ) joelho E ( )  
 tornozelo D ( ) tornozelo E ( )  
 pé D ( ) pé E ( )

4. Presença de **deformidade articular:** O Sim / O Não

ombro D ( ) ombro E ( )  
 cotovelo D ( ) cotovelo E ( )  
 punho D ( ) punho E ( )  
 mão D ( ) mão E ( )  
 quadril D ( ) quadril E ( )  
 joelho D ( ) joelho E ( )  
 tornozelo D ( ) tornozelo E ( )  
 pé D ( ) pé E ( )

5. Diminuição da mobilidade articular? O Sim / O Não

6. **Doença articular associada ao HTLV?** O Sim / O Não / O Suspeita

**VIII\_ - Ficha Neurológica**

1. – Escala EDSS

Funções Piramidais	( )	Funções Vesicais	( )
Funções Cerebelares	( )	Funções Intestinais	( )
Funções de Tronco cerebral	( )	Funções Visuais	( )
Funções Sensitivas	( )	Funções Mentais	( )
		Outras funções	( )

2- Escala EDSS (0-10) ( )

3- Escala OSAME (0-13) ( )

4- Ambulatorial (tempo / 8m) ( )

5- Escala Espasticidade (Escala de Ashworth modificada)

O Tônus muscular normal

O Aumento leve do tônus muscular, sinal do canivete (resistência inicial e facilita no final)

O Aumento leve do tônus muscular (resistência maior inicial e resistência mínima no restante)

O Aumento acentuado do tônus muscular na maior parte da extensão do movimento, mas facilmente movimentada passivamente

O Aumento acentuado do tônus muscular na maior parte da extensão do movimento, com

movimento passivo dificultado

O postura viciosa da parte afetada

6. Escala motora (graus: 0 a 5 em cada segmento)

Superior proximal D ( )

Superior proximal E ( )

Superior distal D ( )

Superior distal E ( )

Inferior proximal D ( )

Inferior proximal E ( )

Inferior distal D ( )

Inferior distal E ( )

7. Reflexos Profundos (graus 0 a 4)

bíceps D ( )

bíceps E ( )

tríceps D ( )

tríceps E ( )

braquiorradial D ( )

braquiorradial E ( )

patelar D ( )

patelar E ( )

aquíleo D ( )

aquíleo E ( )

Cutâneo - plantar D: O flexor / O extensor / O indiferente

Cutâneo - plantar E: O flexor / O extensor / O indiferente

8- Classificação Neurológica:

O Assintomático

O Provável HAM/TSP (O Bexiga neurogênica O Espasticidade O Hiperreflexia em membros inferiores O Sinal de Babinski)

O HAM/TSP

O Outras manifestações neurológicas

9- Se outras manifestações neurológicas:

O Polineuropática

O Radiculopatia

O Miopatia

O Demência

O Outras manifestações: \_\_\_\_\_

**IX- Ficha Disfunção Erétil – (Para homens)**

1. Você apresenta diminuição ou perda de libido: O Sim / O Não

2. Você faz uso de medicação para disfunção erétil? O Sim / O Não

3. Utilizando as categorias a seguir, como você se descreve:

O. Sempre capaz de ter e manter uma ereção boa o suficiente para uma relação sexual

O. Geralmente capaz de ter e manter uma ereção boa o suficiente para uma relação sexual

O. Às vezes capaz de ter e manter uma ereção boa o suficiente para uma relação sexual

O. Nunca capaz de ter e manter uma ereção boa o suficiente para uma relação sexual

4. Você possui atividade sexual ativa (nos últimos 6 meses)? O Sim / O Não

Apenas se sim, Continuar as questões abaixo.

**5.Questionário IIEF-5**

A. Qual foi o seu nível de confiança em obter uma ereção?

( ) 1 = Muito baixa

( ) 2 = Baixa

( ) 3 = Moderada

( ) 4 = Alta

( ) 5 = Muito Alta

B. Suas ereções foram duras o suficiente para conseguir penetração?

( ) 1 = Quase nunca ou nunca

( ) 2 = Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes)

( ) 3 = Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes)

( ) 4 = A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes)

( ) 5 = Quase sempre ou sempre

C. Foi capaz de manter a ereção após ter penetrado sua parceira?

( ) 1 = Quase nunca ou nunca

( ) 2 = Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes)

( ) 3 = Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes)

( ) 4 = A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes)

( ) 5 = Quase sempre ou sempre

D. Durante a relação sexual, quanto foi difícil para manter a ereção até o fim da relação sexual?

- ( ) 1 =. Extremamente difícil
- ( ) 2 =. Muito difícil
- ( ) 3 =. Difícil
- ( ) 4 =. Pouco difícil
- ( ) 5 =. Não foi difícil

E. Suas relações sexuais foram satisfatórias nas últimas quatro semanas?

- ( ) 1 =. Quase nunca ou nunca
- ( ) 2 =. Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes)
- ( ) 3 =. Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes)
- ( ) 4 =. A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes)
- ( ) 5 =. Quase sempre ou sempre

Obs: Escore IIEF-5 será gerado no RedCap

## **X - Ficha Urológica**

1- Tratamentos no último ano para bexiga hiperativa? O Sim / O Não

- |            |                     |               |
|------------|---------------------|---------------|
| 2- Se sim: | Oxibutinina         | O Sim / O Não |
|            | Propantelina        | O Sim / O Não |
|            | Toxina botulínica   | O Sim / O Não |
|            | Eletroestimulação   | O Sim / O Não |
|            | Cateterismo vesical | O Sim / O Não |
|            | Cirurgia urológica  | O Sim / O Não |

3-Escore de sintomas de Bexiga hiperativa (OABSS- 2006)

a. Quantas vezes você urina do momento que acorda até a hora de dormir?

- ( ) 1 =. até 7 vezes
- ( ) 2 =. 8-14 vezes
- ( ) 3 =. mais que 15 vezes

b. Quantas vezes você acorda a noite para urinar, do momento que vai dormir até o amanhecer?

- ( ) 0 =. nenhuma
- ( ) 1 =. 1 vez
- ( ) 2 =. 2 vezes
- ( ) 3 =. 3 vezes ou mais

- c. Quantas vezes você sente um desejo súbito para urinar, que é difícil de segurar?
- ( ) 0 =. nenhuma
- ( ) 1 =. Menos de 01 vez/semana
- ( ) 2 =. Mais de 01 vez/semana
- ( ) 3 =. Cerca de 01 vez/dia
- ( ) 3 =. 2-4 vez/dia
- ( ) 3 =. Mais que 5 vez/dia
- d. Quantas vezes você perde urina por não conseguir conter o desejo súbito de urinar?
- ( ) 0 =. nenhuma
- ( ) 1 =. Menos de 01 vez/semana
- ( ) 2 =. Mais de 01 vez/semana
- ( ) 3 =. Cerca de 01 vez/dia
- ( ) 3 =. 2-4 vez/dia
- ( ) 3 =. Mais que 5 vez/dia

Obs: Escore OABSS será gerado no RedCap

#### 4. Diagnóstico urológico:

O assintomático

O Bexiga hiperativa

O Bexiga hiperativa intermitente

O outro diagnóstico. Qual: \_\_\_\_\_

#### Ficha de Avaliação Urodinâmica

Data do exame: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

##### 1. Cistometria

- |                                                      |                              |
|------------------------------------------------------|------------------------------|
| a. Sensibilidade:                                    | O diminuída / O normal / O   |
| aumentada                                            |                              |
| b. Capacidade vesical funcional:                     | _ _ _ _  ml                  |
| c. CCM:                                              | _ _ _ _  ml                  |
| d. Complacência:                                     | O diminuída / O normal       |
| e. Hiperatividade detrusora:                         | O Sim / O Não                |
| f. Vol. da 1ª contração detrusora involuntária(CDI): | _ _ _ _  ml                  |
| g. DLPP:                                             | _ _ _ _  cm/H <sub>2</sub> O |
| h. PDet na primeira CDI:                             | _ _ _ _  cm/H <sub>2</sub> O |
| i. PDet máxima na vigência de CDI:                   | _ _ _ _  cm/H <sub>2</sub> O |
| j. Perdas aos esforços associadas:                   | O Sim / O Não                |

## 2. Estudo miccional

- a. Volume urinado: |||| ml
- b. Resíduo pós miccional: |||| ml
- c. PDet de abertura: |||| cm/H<sub>2</sub>O
- d. PDet máxima: |||| cm/H<sub>2</sub>O
- e. Qmax: |||| ml/s
- f. Déficit de contração:  Sim /  Não
- g. Obstrução:  Sim /  Não

## 3. Diagnósticos possíveis

- sem alterações
- Hiperatividade detrusora
- Obstrução infra vesical
- Dissinergia vesico esfinteriana
- Hipocontratilidade
- Acontratilidade

**XI- Ficha Tuberculose**

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**1- Passado de tuberculose?**       Sim /  Não

Se sim:

a. Quantas vezes teve diagnóstico de tuberculose?  1 vez /  2 vezes /  > 2 vezesb. Quando foi o primeiro episódio de tuberculose?  <5 anos  $\geq 5$  anos < 10 anos  $\geq 10$  anos < 20 anos  $\geq 20$  anosc. Localização:  Pulmonar /  Não Extra-pulmonar**2 -Sintomas durante o episódio de tuberculose:**a. Febre  Sim /  Nãob. Tosse  Sim /  Nãoc. Expectoração  Sim /  Nãod. Escarro purulento  Sim /  Nãoe. Escarro com sangue (Hemoptise)  Sim /  Nãof. Anorexia  Sim /  Nãog. Astenia  Sim /  Nãoh. Falta de ar (dispneia)  Sim /  Nãoi. Dor torácica  Sim /  Nãoj. Perda de peso  Sim /  Não**2- Atualmente tem algumas destas manifestações respiratória?**  Sim /  Não

Se sim:

a. Tosse  Sim /  Nãob. Expectoração  Sim /  Nãoc. Escarro purulento  Sim /  Nãod. Escarro com sangue (Hemoptise)  Sim /  Nãoe. Falta de ar (dispneia)  Sim /  Nãof. Dor torácica  Sim /  Nãog. Nódulos subcutâneos  Sim /  Não**3- Dados laboratoriais**a. PPD  <5 mm  $\geq 5$  mm < 10 mm  $\geq 10$  mm       não realizado

b. PPD quantitativo: \_\_\_\_\_mm



c. BAAR de escarro: O Negativo / O Positivo / O não realizado

#### 4-Dados radiológicos

- a. Raio X de tórax: O Normal / O alterado / O não realizado  
Se alterado:
- b. Nº de lobos envolvidos: O 1 lobo / O 2 lobos / O 3 lobos
- c. Lateralidade das lesões: O unilateral D / O Unilateral E / O bilateral
- d. Cavidades: O Sim / O Não
- e. Bronquiectasias: O Sim / O Não
- f. Atelectasias: O Sim / O Não
- g. Fibrose O Sim / O Não
- h. Espessamento Pleural O Sim / O Não
- i. Destruição parenquimatosa O Sim / O Não
- j. Nódulo residual O Sim / O Não
- k. Linfonodo calcificado O Sim / O Não
- l. Infiltrado alveolar O Sim / O Não
- m. Infiltrado intersticial O Sim / O Não

#### 5. Alocação no grupo do estudo:

- O Sem tuberculose
- O tuberculose latente (TBL)
- O tuberculose

#### XII-Avaliação Odontológica (mediante exame odontológico)

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

- 1- Presença de mucosa seca? O Sim / O Não
- 2- Presença de gengivite? O Sim / O Não
- 3- Presença de periodontite? O Sim / O Não
- 4- Periodontite crônica:
- O ausente
- O leve
- O moderada
- O grave
- 5- Presença de Síndrome Seca? O Sim / O Não

**ANEXO II****Serviço de Imunologia - Ambulatório Multidisciplinar de HTLV-1****Questionário de retornos anuais****I-Identificação**

Número do retorno: |\_|\_|

- 1-Nome: \_\_\_\_\_
- 2-Registro da Pesquisa: |\_|\_|\_|\_|\_| 3- Data da entrevista \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
- 4-Registro do HUPES: |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|
- 5-Idade: |\_|\_| anos
- 6-Endereço Atual: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_
- Cidade \_\_\_\_\_ CEP |\_|\_|\_|\_|\_|\_| - |\_|\_|\_|\_| UF \_\_\_\_\_
- 7-Telefones para contato:  
Telefone1 ( ) \_\_\_\_\_ Telefone2 ( ) \_\_\_\_\_
- 8- Familiar acompanhando nesse ambulatório? O Sim / O Não  
Se sim, quem: \_\_\_\_\_

**II – Questionário Clínico Geral**

- 1.No último ano você teve alguma doença nova? O Sim / O Não  
Se sim, qual: \_\_\_\_\_
- 2.No último ano você teve algum episódio de infecção urinária? O Sim / O Não  
Se sim, quantos: \_\_\_\_\_
3. Você está em uso de algum medicamento? O Sim / O Não
- Med1: \_\_\_\_\_
- Med2: \_\_\_\_\_
- Med3: \_\_\_\_\_
- Med4: \_\_\_\_\_
- Med5: \_\_\_\_\_

4. Em média quantas vezes por dia você urina? O. Menos que 4 vezes  
 O. 4 a 6 vezes  
 O. 7 a 10 vezes  
 O. Mais que 10 vezes  
 O. Não informado
5. Você levanta a noite para urinar habitualmente? O Sim / O Não / O Sem Informação
6. Se sim, em média, quantas vezes por noite você levanta para urinar? O. De 1 a 2 vezes  
 O. De 3 a 4 vezes  
 O. Mais que 4 vezes
7. Quando você tem vontade de urinar tem que ir correndo ao banheiro porque não consegue controlar a bexiga? O Sim / O Não / O Sem Informação
8. Você perde urina na roupa? O Sim / O Não / O Sem Informação  
 Se sim, provocado por esforço ou não? O provocado por esforço / O sem esforço
9. Você faz força para esvaziar a bexiga? O Sim / O Não / O Sem Informação
10. Você sente dor ou ardor ao urinar? O Sim / O Não / O Sem Informação
11. Nos últimos 12 meses:
- a. Você sentiu fraqueza nos braços que durou mais que uma semana? O Sim / O Não  
 b. Você sentiu fraqueza nas pernas que durou mais que uma semana? O Sim / O Não  
 c. Você sentiu alguma dificuldade para andar? O Sim / O Não  
 d. Você sentiu alguma dificuldade para correr? O Sim / O Não  
 e. Você tem sentido dormência ou formigamento em suas mãos? O Sim / O Não  
 f. Você tem sentido dormência ou formigamento nos seus pés? O Sim / O Não
12. Você já teve a sensação de areia nos olhos? O Sim / O Não
13. Você sente falta de lágrimas/olhos secos? O Sim / O Não
14. Você tem sensação de boca seca? O Sim / O Não
15. Você tem sangramento nas gengivas? O Sim / O Não

#### **V - Avaliação Sorológica**

- 1-WB HTLV:            O negativo  
                           O HTLV-1  
                           O HTLV-2  
                           O HTLV-1/2  
                           O indeterminado  
                           O soro positivo para HTLV
- 2- Anti-HIV :                            O Negativo / O Positivo / O não realizado
- 3- AgHBs (Hepatite B)                    O Negativo / O Positivo / O não realizado
- 4- Anti-HBc total (Hepatite B)            O Negativo / O Positivo / O não realizado
- 5- Anti-HBs (Hepatite B)                    O Negativo / O Positivo / O não realizado  
                                                   Se positivo, título: 1/|\_|\_|\_|\_|\_|
- 6- Anti-HBC (Hepatite C)                    O Negativo / O Positivo / O não realizado
- 7- VDRL (Sífilis )                            O Negativo / O Positivo / O não realizado  
                                                   Se positivo, título: 1/|\_|\_|\_|\_|\_|
- 8- Doença de Chagas                        O Negativo / O Positivo / O não realizado

9- Realizou exame de Líquor:

O Sim / O Não Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

- Leucócitos (LCR): |\_|\_|\_|\_|\_|\_| células
- Proteínas (LCR): |\_|\_|\_|\_|\_| mg
- Glicose (LCR): |\_|\_|\_|\_|\_|g/dl
- HTLV no líquido:        O Negativo / O Positivo / O não realizado

## VI – Avaliação Laboratorial anual:

1- Hemograma:

- hematócrito (HCT) |\_|\_|\_|, |\_|\_|\_| %
- hemoglobina (HB) |\_|\_|\_|, |\_|\_|\_| g/dl
- leucócitos            |\_|\_|\_|\_|\_|\_| células
- bastões              |\_|\_|\_|, |\_|\_|\_| %
- segmentados        |\_|\_|\_|, |\_|\_|\_| %
- linfócitos            |\_|\_|\_|, |\_|\_|\_| %
- linf. atípicos        |\_|\_|\_|, |\_|\_|\_| %

eosinófilos       |\_|\_|, |\_|\_| %  
 monócitos        |\_|\_|, |\_|\_| %  
 basófilos        |\_|\_|, |\_|\_| %  
 plaquetas        |\_|\_|\_| x 1000

## 2- Sumário de Urina

Leucócitos: O numerosos / O raros

Nº de cels /campo: \_\_\_\_\_ (se numerosos =100, se raros ou sem alterações= 0)

Fator reumatóide ( Se  $\geq$  1:20=P, se  $<$  1:20=N): O Negativo / O Positivo / O não realizado

PCR (Se  $>$  6 =P, se  $<$ 6=N): O Negativo / O Positivo / O não realizado

PCR quantitativo: |\_|\_|, |\_|\_|

Fator anti-núcleo (FAN): O Negativo / O Positivo / O não realizado

VHS: \_\_\_\_\_

## 3- Parasitológico de fezes

1ª amostra: O Negativo / O Positivo / O não realizado       Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

2ª amostra: O Negativo / O Positivo / O não realizado       Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

3ª amostra: O Negativo / O Positivo / O não realizado       Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Se positivo, qual/quais parasito(s):

<input type="checkbox"/> Strongiloides stercoralis	<input type="checkbox"/> Entamoeba hystolítica
<input type="checkbox"/> Schistosoma mansoni	<input type="checkbox"/> Entamoeba nana
<input type="checkbox"/> Ascaris lumbricoides	<input type="checkbox"/> Enterobius vermicularis
<input type="checkbox"/> Ancylostomo duodenalis	<input type="checkbox"/> I. butschili
<input type="checkbox"/> Trichiurus trichiurus	<input type="checkbox"/> Giardia lamblia

## VII- Ficha Reumatológica

1. Nos últimos 12 meses você teve dores em alguma de suas articulações que duraram mais que uma semana? O Sim / O Não . Se sim: O monoarticular / O Oligoarticular / O Poliarticular

2 Presença de **sinovite**? O Sim / O Não

ombro D       ( )	ombro E       ( )
cotovelo D   ( )	cotovelo E   ( )
punho D       ( )	punho E       ( )
mão D         ( )	mão E         ( )

quadril D	( )	quadril E	( )
joelho D	( )	joelho E	( )
tornozelo D	( )	tornozelo E	( )
pé D	( )	pé E	( )

3. Presença de **rigidez articular:** O Sim / O Não

ombro D	( )	ombro E	( )
cotovelo D	( )	cotovelo E	( )
punho D	( )	punho E	( )
mão D	( )	mão E	( )
quadril D	( )	quadril E	( )
joelho D	( )	joelho E	( )
tornozelo D	( )	tornozelo E	( )
pé D	( )	pé E	( )

4. Presença de **deformidade articular:** O Sim / O Não

ombro D	( )	ombro E	( )
cotovelo D	( )	cotovelo E	( )
punho D	( )	punho E	( )
mão D	( )	mão E	( )
quadril D	( )	quadril E	( )
joelho D	( )	joelho E	( )
tornozelo D	( )	tornozelo E	( )
pé D	( )	pé E	( )

5. Diminuição da mobilidade articular? O Sim / O Não

6. Doença articular associada ao HTLV? O Sim / O Não / O Suspeita

### VIII\_ - Ficha Neurológica

1. – Escala EDSS

Funções Piramidais	( )	Funções Vesicais	( )
Funções Cerebelares	( )	Funções Intestinais	( )
Funções de Tronco cerebral	( )	Funções Visuais	( )
Funções Sensitivas	( )	Funções Mentais	( )
		Outras funções	( )

- 2- Pontuação Escala EDSS (0-10) ( )
- 3- Escala OSAME (0-13) ( )
- 4- Ambulatorial (tempo / 8m) ( )

5- Escala Espasticidade (Escala de Ashworth modificada)

- O Tônus muscular normal
- O Aumento leve do tônus muscular, sinal do canivete (resistência inicial e facilita no final)
- O Aumento leve do tônus muscular (resistência maior inicial e resistência mínima no restante)
- O Aumento acentuado do tônus muscular na maior parte da extensão do movimento, mas facilmente movimentada passivamente
- O Aumento acentuado do tônus muscular na maior parte da extensão do movimento, com movimento passivo dificultado
- O postura viciosa da parte afetada

6. Escala motora (graus: 0 a 5 em cada segmento)

- |                         |                         |
|-------------------------|-------------------------|
| Superior proximal D ( ) | Superior proximal E ( ) |
| Superior distal D ( )   | Superior distal E ( )   |
| Inferior proximal D ( ) | Inferior proximal E ( ) |
| Inferior distal D ( )   | Inferior distal E ( )   |

7. Reflexos Profundos (graus 0 a 4)

- |                      |                      |
|----------------------|----------------------|
| bíceps D ( )         | bíceps E ( )         |
| tríceps D ( )        | tríceps E ( )        |
| braquiorradial D ( ) | braquiorradial E ( ) |
| patelar D ( )        | patelar E ( )        |
| aquíleo D ( )        | aquíleo E ( )        |

Cutâneo - plantar D: O flexor / O extensor / O indiferente

Cutâneo - plantar E: O flexor / O extensor / O indiferente

8- Classificação Neurológica:

- O Assintomático
- O Provável HAM/TSP (O Bexiga neurogênica O Espasticidade O Hiperreflexia em membros inferiores O Sinal de Babinski)
- O HAM/TSP
- O Outras manifestações neurológicas

9- Se outras manifestações neurológicas:

- O Polineuropática
- O Radiculopatia

- O miopatia
- O demencia
- O Outras manifestações: \_\_\_\_\_

### **IX- Ficha Disfunção Erétil – (Para homens)**

1. Você apresenta diminuição ou perda de libido: O Sim / O Não
2. Você faz uso de medicação para disfunção erétil? O Sim / O Não
  
3. Utilizando as categorias a seguir, como você se descreve:
  - O. Sempre capaz de ter e manter uma ereção boa o suficiente para uma relação sexual
  - O. Geralmente capaz de ter e manter uma ereção boa o suficiente para uma relação sexual
  - O. Às vezes capaz de ter e manter uma ereção boa o suficiente para uma relação sexual
  - O. Nunca capaz de ter e manter uma ereção boa o suficiente para uma relação sexual
  
4. Você possui atividade sexual ativa (nos últimos 6 meses)? O Sim / O Não  
 Apenas se sim, Continuar as questões abaixo.

### **5.Questionário IIEF-5**

- A. Qual foi o seu nível de confiança em obter uma ereção?
  - ( ) 1 = Muito baixa
  - ( ) 2 = Baixa
  - ( ) 3 = Moderada
  - ( ) 4 = Alta
  - ( ) 5 = Muito Alta
  
- B. Suas ereções foram duras o suficiente para conseguir penetração?
  - ( ) 1 = Quase nunca ou nunca
  - ( ) 2 = Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes)
  - ( ) 3 = Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes)
  - ( ) 4 =. A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes)
  - ( ) 5 =. Quase sempre ou sempre
  
- C. Foi capaz de manter a ereção após ter penetrado sua parceira?
  - ( ) 1 = Quase nunca ou nunca
  - ( ) 2 = Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes)



- ( ) 3 = Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes)  
 ( ) 4 = A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes)  
 ( ) 5 = Quase sempre ou sempre

D. Durante a relação sexual, quanto foi difícil para manter a ereção até o fim da relação sexual?

- ( ) 1 = Extremamente difícil  
 ( ) 2 = Muito difícil  
 ( ) 3 = Difícil  
 ( ) 4 = Pouco difícil  
 ( ) 5 = Não foi difícil

E. Suas relações sexuais foram satisfatórias nas últimas quatro semanas?

- ( ) 1 = Quase nunca ou nunca  
 ( ) 2 = Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes)  
 ( ) 3 = Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes)  
 ( ) 4 = A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes)  
 ( ) 5 = Quase sempre ou sempre

Obs: Escore IIEF-5 será gerado no RedCap

## **X - Ficha Urológica**

1- Tratamentos no último ano para bexiga hiperativa? O Sim / O Não

- |            |                     |               |
|------------|---------------------|---------------|
| 2- Se sim: | Oxibutinina         | O Sim / O Não |
|            | Propantelina        | O Sim / O Não |
|            | Toxina botulínica   | O Sim / O Não |
|            | Eletroestimulação   | O Sim / O Não |
|            | Cateterismo vesical | O Sim / O Não |
|            | Cirurgia urológica  | O Sim / O Não |

3-Escore de sintomas de Bexiga hiperativa (OABSS- 2006)

- e. Quantas vezes você urina do momento que acorda até a hora de dormir?
- ( ) 1 = até 7 vezes  
 ( ) 2 = 8-14 vezes  
 ( ) 3 = mais que 15 vezes

- f. Quantas vezes você acorda a noite para urinar, do momento que vai dormir até o amanhecer?
- ( ) 0 =. nenhuma
- ( ) 1 =. 1 vez
- ( ) 2 =. 2 vezes
- ( ) 3 =. 3 vezes ou mais
- g. Quantas vezes você sente um desejo súbito para urinar, que é difícil de segurar?
- ( ) 0 =. nenhuma
- ( ) 1 =. Menos de 01 vez/semana
- ( ) 2 =. Mais de 01 vez/semana
- ( ) 3 =. Cerca de 01 vez/dia
- ( ) 3 =. 2-4 vez/dia
- ( ) 3 =. Mais que 5 vez/dia
- h. Quantas vezes você perde urina por não conseguir conter o desejo súbito de urinar?
- ( ) 0 =. nenhuma
- ( ) 1 =. Menos de 01 vez/semana
- ( ) 2 =. Mais de 01 vez/semana
- ( ) 3 =. Cerca de 01 vez/dia
- ( ) 3 =. 2-4 vez/dia
- ( ) 3 =. Mais que 5 vez/dia

Obs: Escore OABSS será gerado no RedCap

#### 4. Diagnóstico urológico:

O assintomático

O Bexiga hiperativa

O Bexiga hiperativa intermitente

O outro diagnóstico. Qual: \_\_\_\_\_

#### Ficha de Avaliação Urodinâmica

Data do exame: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

#### 4. Cistometria

a. Sensibilidade:  
aumentada

O diminuída / O normal / O

b. Capacidade vesical funcional:

|\_|\_|\_|\_| ml

c. CCM:

|\_|\_|\_|\_| ml

- d. Complacência: O diminuída / O normal  
 e. Hiperatividade detrusora: O Sim / O Não  
 f. Vol. da 1ª contração detrusora involuntária(CDI): |\_|\_|\_|\_| ml  
 g. DLPP: |\_|\_|\_|\_| cm/H<sub>2</sub>O  
 h. PDet na primeira CDI: |\_|\_|\_|\_| cm/H<sub>2</sub>O  
 i. PDet máxima na vigência de CDI: |\_|\_|\_|\_| cm/H<sub>2</sub>O  
 j. Perdas aos esforços associadas: O Sim / O Não

## 5. Estudo miccional

- a. Volume urinado: |\_|\_|\_|\_| ml  
 b. Resíduo pós miccional: |\_|\_|\_|\_| ml  
 c. PDet de abertura: |\_|\_|\_|\_| cm/H<sub>2</sub>O  
 d. PDet máxima: |\_|\_|\_|\_| cm/H<sub>2</sub>O  
 e. Qmax: |\_|\_|\_|\_| ml/s  
 f. Déficit de contração: O Sim / O Não  
 g. Obstrução: O Sim / O Não

## 6. Diagnósticos possíveis

- O sem alterações  
 O Hiperatividade detrusora  
 O Obstrução infra vesical  
 O Dissinergia vesico esfínteriana  
 O Hipocontratilidade  
 O Acontratilidade

**XI- Ficha Tuberculose**

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**4- Passado de tuberculose?**       Sim /  Não

Se sim:

d. Quantas vezes teve diagnóstico de tuberculose?  1 vez /  2 vezes /  > 2 vezese. Quando foi o primeiro episódio de tuberculose?  <5 anos  $\geq 5$  anos < 10 anos  $\geq 10$  anos < 20 anos  $\geq 20$  anosf. Localização:  Pulmonar /  Não Extra-pulmonar**2 -Sintomas durante o episódio de tuberculose:**

- |                                   |                                                             |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| k. Febre                          | <input type="checkbox"/> Sim / <input type="checkbox"/> Não |
| l. Tosse                          | <input type="checkbox"/> Sim / <input type="checkbox"/> Não |
| m. Expectoração                   | <input type="checkbox"/> Sim / <input type="checkbox"/> Não |
| n. Escarro purulento              | <input type="checkbox"/> Sim / <input type="checkbox"/> Não |
| o. Escarro com sangue (Hemoptise) | <input type="checkbox"/> Sim / <input type="checkbox"/> Não |
| p. Anorexia                       | <input type="checkbox"/> Sim / <input type="checkbox"/> Não |
| q. Astenia                        | <input type="checkbox"/> Sim / <input type="checkbox"/> Não |
| r. Falta de ar (dispneia)         | <input type="checkbox"/> Sim / <input type="checkbox"/> Não |
| s. Dor torácica                   | <input type="checkbox"/> Sim / <input type="checkbox"/> Não |
| t. Perda de peso                  | <input type="checkbox"/> Sim / <input type="checkbox"/> Não |

**5- Atualmente tem algumas destas manifestações respiratória?**  Sim /  Não

Se sim:

- |                                   |                                                             |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| h. Tosse                          | <input type="checkbox"/> Sim / <input type="checkbox"/> Não |
| i. Expectoração                   | <input type="checkbox"/> Sim / <input type="checkbox"/> Não |
| j. Escarro purulento              | <input type="checkbox"/> Sim / <input type="checkbox"/> Não |
| k. Escarro com sangue (Hemoptise) | <input type="checkbox"/> Sim / <input type="checkbox"/> Não |
| l. Falta de ar (dispneia)         | <input type="checkbox"/> Sim / <input type="checkbox"/> Não |
| m. Dor torácica                   | <input type="checkbox"/> Sim / <input type="checkbox"/> Não |
| n. Nódulos subcutâneos            | <input type="checkbox"/> Sim / <input type="checkbox"/> Não |

**6- Dados laboratoriais**

- |        |                                              |
|--------|----------------------------------------------|
| d. PPD | <input type="checkbox"/> <5 mm               |
|        | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ mm < 10 mm |
|        | <input type="checkbox"/> $\geq 10$ mm        |
|        | <input type="checkbox"/> não realizado       |

- e. PPD quantitativo: \_\_\_\_\_mm
- f. BAAR de escarro: O Negativo / O Positivo / O não realizado

#### 4-Dados radiológicos

- a. Raio X de tórax: O Normal / O alterado / O não realizado  
Se alterado:
- b. Nº de lobos envolvidos: O 1 lobo / O 2 lobos / O 3 lobos
- c. Lateralidade das lesões: O unilateral D / O Unilateral E / O bilateral
- d. Cavidades: O Sim / O Não
- e. Bronquiectasias: O Sim / O Não
- f. Atelectasias: O Sim / O Não
- g. Fibrose O Sim / O Não
- h. Espessamento Pleural O Sim / O Não
- i. Destruição parenquimatosa O Sim / O Não
- j. Nódulo residual O Sim / O Não
- k. Linfonodo calcificado O Sim / O Não
- l. Infiltrado alveolar O Sim / O Não
- m. Infiltrado intersticial O Sim / O Não

5. Alocação no grupo do estudo: O Sem tuberculose  
O tuberculose latente (TBL)  
O tuberculose

#### XII-Avaliação Odontológica (mediante exame odontológico)

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

- 6- Presença de mucosa seca? O Sim / O Não
- 7- Presença de gengivite? O Sim / O Não
- 8- Presença de periodontite? O Sim / O Não
- 9- Periodontite crônica:  
O ausente  
O leve  
O moderada  
O grave
- 10- Presença de Síndrome Seca? O Sim / O Não

## **ANEXO III**

### **ESCALA EXPANDIDA DO ESTADO DE INCAPACIDADE - EDSS**

#### **ESCORE EDSS**

#### **FUNÇÕES PIRAMIDAIAS:**

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

#### **FUNÇÕES CEREBELARES:**

0. Normal.
1. Sinais anormais sem incapacidade motora.
2. Ataxia discreta em qualquer membro.
3. Ataxia moderada do tronco ou de membros.
4. Ataxia severa dos quatro membros.
5. Incapacidade de realizar movimentos coordenados devido a ataxia.
- V. Desconhecido.

#### **FUNÇÕES DO TRONCO CEREBRAL:**

0. Normal.
1. Somente sinais anormais.
2. Nistagmo moderado ou outra incapacidade leve.
3. Nistagmo grave, acentuada paresia da musculatura extra-ocular ou incapacidade moderada de outros nervos cranianos.
4. Disartria acentuada ou outra incapacidade acentuada.

5. Incapacidade de deglutir ou falar.

V. Desconhecido.

#### FUNÇÕES MENTAIS:

0. Normal.

1. Alteração apenas do humor (não altera o índice de incapacidade).

2. Leve comprometimento mental.

3. Moderado comprometimento mental.

4. Acentuado comprometimento mental (moderada síndrome cerebral crônica).

5. Demência ou grave síndrome crônica.

V. Desconhecido.

#### FUNÇÕES SENSITIVAS:

0. Normal.

1. Sensibilidade vibratória ou estereognosia diminuída, somente em um ou dois membros.

2. Diminuição leve da sensibilidade tátil ou dolorosa ou de posição, e/ou diminuição moderada da sensibilidade vibratória em um ou dois membros; ou diminuição somente da vibratória (com ou sem estereognosia) em três ou quatro membros.

3. Diminuição moderada da sensibilidade tátil ou dolorosa ou de posição, e/ou perda da sensibilidade vibratória em um ou dois membros; ou leve diminuição da sensibilidade tátil dolorosa e/ou diminuição moderada da sensibilidade proprioceptiva, em três ou quatro membros.

4. Diminuição acentuada da sensibilidade tátil ou dolorosa e/ou perda da sensibilidade proprioceptiva em um a dois membros; ou diminuição moderada da sensibilidade tátil dolorosa e/ou diminuição severa da sensibilidade proprioceptiva em mais de dois membros.

5. Perda da sensibilidade de um ou dois membros; ou moderada diminuição de sensibilidade tátil ou dolorosa e/ou perda da sensibilidade proprioceptiva na maior parte do corpo abaixo da linha da cabeça.

6. Perda da sensibilidade abaixo da cabeça.

V. Desconhecido.

**FUNÇÕES VESICAIS:**

0. Normal.
  1. Sintomas urinários sem incontinência.
  2. Incontinência menor ou uma vez por semana.
  3. Incontinência mais de uma vez por semana.
  4. Incontinência diária ou mais que 01 vez por dia.
  5. Cateterização contínua.
  6. Grau 5 para bexiga e grau 5 para disfunção retal.
- V. Desconhecido.

**FUNÇÕES INTESTINAIS:**

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

**FUNÇÕES VISUAIS:**

0. Normal.
1. Escotoma com acuidade visual (corrigida) igual ou melhor que 20/30.
2. Pior olho com escotoma com acuidade visual máxima (corrigida) de 20/30 a 20/59.
3. Pior olho com amplo escotoma, ou diminuição moderada nos campos, porém com acuidade visual máxima (corrigida) de 20/60 a 20/99.
4. Pior olho com diminuição acentuada nos campos e acuidade visual máxima (corrigida) de 20/100 a 20/200; ou grau 3 com acuidade visual do melhor olho igual ou menor que 20/60.



5. Pior olho com acuidade visual máxima (corrigida) menor que 20/200; ou grau 4 com acuidade visual do melhor olho igual ou menor que 20/60.

6. Grau 5 com acuidade visual do melhor olho igual ou menor que 20/60.

V. Desconhecido.

X. É adicionado aos graus de 0 a 6 se existir palidez temporal.

#### ESCALA DE INCAPACIDADE FUNCIONAL AMPLIADA (EDSS)

(KURTZKE, 1965; KURTZKE, 1983)

0. Exame neurológico normal (grau 0) em todas as avaliações do sistema funcional - SF.

1,0. Nenhuma incapacidade; sinais mínimos em um SF (ou seja grau 1).

1,5. Nenhuma incapacidade; sinais mínimos em mais de um SF (mais de um SF grau 1).

2,0. Incapacidade mínima em um SF (um SF grau 2; outros graus 0 ou 1).

2,5. Incapacidade em dois SF (dois SF grau 2; outros graus 0 ou 1).

3,0. Incapacidade moderada em um SF (um SF grau 3, outros grau 0 ou 1), ou discreta incapacidade em três ou quatro SF (três ou quatro SF grau 2 ;outros 0 ou 1) embora completamente ambulatorial.

3,5. Deambulação plena, com incapacidade moderada em um SF (um SF grau 3) e um ou dois SF grau 2; ou dois SF grau 3; ou cinco SF grau 2 (outros 0 ou 1).

4,0. Deambulação plena sem ajuda; auto-suficiente; ativo por cerca de 12 horas por dia, apesar da incapacidade relativamente grave consistindo de um SF grau 4 (outros 0 ou 1), ou combinações de graus menores excedendo os limites das etapas anteriores capaz de caminhar cerca de 500 metros sem ajuda ou descanso.

4,5. Deambulação plena sem ajuda; ativo durante grande parte do dia; capaz de trabalhar por um dia inteiro; porém, pode apresentar alguma limitação da atividade completa ou precisar de um pouco de ajuda; caracteriza-se por incapacidade relativamente grave, geralmente consistindo de um SF grau 4 (outros 0 ou 1), ou combinações de graus menores excedendo os limites das etapas anteriores; capaz de caminhar cerca de 300 metros sem ajuda ou descanso.

5,0. Deambulação sem ajuda ou descanso para caminhar cerca de 200 metros; incapacidade grave o suficiente para comprometer as atividades diárias (por exemplo, trabalhar o dia inteiro sem dispositivos especiais); os equivalentes comuns do SF são de

grau 5, isoladamente (outros 0 ou 1), ou combinações de graus menores, geralmente excedendo os limites da etapa 4,0.

5,5. Deambulação sem ajuda ou descanso para caminhar por 100 metros; incapacidade grave o suficiente para impedir a realização de atividades diárias; os equivalentes comuns do SF são de grau 5, isoladamente (outros 0 ou 1), ou combinações de graus menores, geralmente excedendo os limites da etapa 4,0.

6,0. Assistência intermitente ou com auxílio unilateral constante (bengala, muleta ou suporte) para caminhar cerca de 100 metros com ou sem descanso; os equivalentes comuns do SF são combinações com mais de 2 SF grau 3+.

6,5. Assistência bilateral constante (bengala, muleta, suporte) para caminhar cerca de 20 metros sem descanso; os equivalentes comuns do SF são combinações com mais de dois SF grau 3 +.

7,0. Incapacidade para caminhar além de cerca de 5 metros, mesmo com auxílio; restrito a cadeira de rodas; capaz de conduzir a cadeira de rodas comum sem auxílio, além de entrar e sair da cadeira sem ajuda; consegue permanecer em atividade, na cadeira de rodas, por cerca de 12 horas por dia; os equivalentes comuns do SF são combinações com mais de um SF grau 4+; muito raramente, função piramidal grau 5 isoladamente.

7,5. Incapacidade para dar mais do que alguns passos; confinamento à cadeira de rodas; pode precisar de ajuda para sair e sentar na cadeira; capaz de conduzir a cadeira sem ajuda, mas não consegue permanecer na cadeira de rodas comum o dia inteiro; precisa de cadeira de rodas motorizada; os equivalentes comuns do SF são combinações com mais de um SF grau 4+.

8,0. Restrito ao leito ou a cadeira, ou consegue se locomover com a cadeira de rodas, porém não consegue ficar fora da cama por muito tempo; consegue realizar algumas funções para cuidar da sua própria higiene e mantém o uso dos braços; os equivalentes comuns do SF são combinações com grau 4+ em diferentes sistemas.

8,5. Essencialmente confinado a cama na maior parte do dia; consegue realizar algumas funções para cuidar de sua própria higiene e mantém algum uso dos braços; os equivalentes comuns do SF são combinações com grau 4+ em diferentes sistemas.

9,0. Paciente acamado e desamparado; consegue se comunicar e comer; os equivalentes comuns do SF são combinações, em sua maioria, do grau 4+

9,5. Paciente totalmente desamparado e acamado; incapaz de se comunicar com eficácia ou comer/ engolir; os equivalentes comuns do SF são combinações, quase todos do grau 4+.

10. Morte devida a complicações da Esclerose Múltipla.

---

**Referência: Kurtzke. Neurology 1983; 33:1444-52.**

## **ANEXO IV**

### **ESCALA DE INCAPACIDADE MOTORA DE OSAME (OMDS)**

(IZUMO et al., 1996)

0. anda e corre normalmente.
1. Marcha normal, mas corre lentamente.
2. Marcha anormal.
3. Marcha anormal e não consegue correr.
4. Necessita de apoio em escadas.
5. Necessita de apoio em uma das mãos para andar.
6. Necessita de apoio bilateral para andar.
7. Necessita de apoio bilateral para andar, mas é limitado a 10 metros.
8. Necessita de apoio bilateral para andar, mas é limitado a 5 metros.
9. Não consegue andar, mas pode engatinhar com a ajuda das mãos e joelhos.
10. Rasteja com as mãos.
11. Não consegue rastejar, mas pode se virar na cama.
12. Não se vira, mas pode movimentar os dedos dos pés acamado e imóvel.
13. Completamente restrito ao leito

## ANEXO V



MINISTÉRIO DA SAÚDE  
Conselho Nacional de Saúde  
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

## PARECER Nº 159/2005

**Registro CONEP: 11071** (Este nº deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto)

**Registro CEP: 149** **Processo nº 25000.158231/2004-74**

**Projeto de Pesquisa:** "Resposta imunológica e expressão da doença na infecção pelo HTLV-1."

**Pesquisador Responsável:** Dr. Edgar Marcelino de Carvalho Filho

**Instituição:** Hospital Universitário Prof. Edgard Santos/Universidade Federal da Bahia – HUPES/UFBA. CEP Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz- CPqGM/ FIOCRUZ - Salvador/Bahia

**Área Temática Especial:** Cooperação estrangeira

Ao se proceder à análise do projeto de pesquisa em questão, em resposta ao Parecer nº 2472/04, cabem as seguintes considerações:

a) as informações enviadas relativas atendem, de forma geral, aos aspectos fundamentais da Res. CNS 196/96 sobre diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos.


b) o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – CEP da instituição supracitada.

c) Entretanto, nos Termos de Consentimento Livre e Esclarecido de nºs 01 e 02 relativos à coleta de sangue e suas implicações no item que trata sobre Riscos e Benefícios, não foi atendida a pendência do parecer anterior, tendo sido acrescido apenas a medida de secreção da saliva.

d) No item referente à Confidencialidade, deve ser adequada nos termos da legislação brasileira, ou seja: Constituição Federal Brasileira de 1988 (arts. 5º e 21); Código Civil (arts. 20 e 21); Código Penal (arts. 153 e 154); Código de Processo Civil (arts. 347, 363 e 406); Código de Defesa do Consumidor (arts. 43 e 44); Medida Provisória nº 2.200-2; Resoluções da ANS (Lei nº 9.961 de 28/01/2000) em particular a de nº 21; Código de Ética Médica CFM (arts. 11, 70, 102, 103, 105, 106 e 108); Resoluções do CFM nºs 1.605/2000, 1.638/2002, 1.642/2002; Padrões de creditações hospitalares do Consórcio Brasileiro de Acreditação, em particular Gl. 2 e Gl 7.1.2. Considera-se, ainda, essencial, para a preservação e proteção do sujeito da pesquisa, a anuência do médico responsável pelo paciente e da autoridade responsável pelos prontuários. Desta forma não basta a citação dos que teriam acesso, mas deve estar explícito o cumprimento da legislação brasileira

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto, com a recomendação acima citada, devendo esta ser acompanhada pelo CEP, para posterior início da pesquisa.

**Situação:** Projeto aprovado com recomendação  
Brasília, 28 de janeiro de 2005.

  
WILLIAM SAAD HOSSNE  
Coordenador da CONEP/CNS/MS

## ANEXO VI - ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

### Neurologic, Clinical Profile and Immunologic Response in a Cohort of HTLV-1 Carriers with High Proviral Loads

Sheila N. Ferraz<sup>a</sup>, Gabriela F. Costa<sup>b</sup>, José Abraão Carneiro Neto<sup>a</sup>, Thiago Hebert<sup>b</sup>,

Cassius J. V. de Oliveira<sup>a</sup>, Mariele Guerra<sup>a</sup>, Lívia M. A. Oliveira<sup>a</sup>, Edgar M.

Carvalho<sup>a,c,d</sup>

a Immunology Service, Professor Edgard Santos University Hospital, Federal University of Bahia, Salvador

b Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Salvador, Bahia, Brazil

c Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Bahia, Brazil

d National Institute of Science and Technology in Tropical Diseases (INCT-DT), CNPq, Brazil.

#### Abstract

A high proviral load (PVL) is recognized as a risk factor for HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP), but there are a lack of prospective studies evaluating whether or not HTLV-1 carriers with high PVL are at risk of developing HAM/TSP or other HTLV-1 related diseases. In this paper, we compare the incidence of clinical manifestations and the cytokine levels in 30 HTLV-1 carriers with high (> 50,000 copies/10<sup>6</sup>PBMC) and an equal number of subjects with low proviral loads. Participants were followed for 3 to 16 years (median of 11 years). The PVL, IFN- $\gamma$ , TNF and IL-10 levels were quantified at entry and at the end of the follow-up. Among the self-reported symptoms in the initial evaluation, only the presence of paresthesia on

the hands was more frequent in the group with high PVL ( $p < .04$ ). The production of IFN- $\gamma$  was higher in the group with high PVL group (median 1308 versus 686pg/ml,  $p < .011$ ) when compared to the control group in the first assessment. During the follow-up, there was a decrease in the proviral load only among carriers with high PVL. Moreover, there was no difference in the occurrence of urinary or erectile dysfunction, periodontal disease, sicca syndrome, and neurologic signs between the two groups. While non-patients developed HAM/TSP. HTLV-1 carriers with high PVL and with exaggerated inflammatory response did not progress to HAM/TSP, indicating that other factors in addition to the proviral load are involved in the passage of HTLV-1 infected cells from the blood to the central nervous system.

Keywords: HTLV-1 associated myelopathy; HTLV-1; proviral load; HTLV-1 carriers; myelopathy

## Introduction

The human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) was the first retrovirus to be described (POIESZ et al., 1980), and is the etiologic agent of adult T-cell leukemia/lymphoma and HTLV-1 associated myelopathy or tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) (MAHIEUX; GESSAIN, 2009; MARTIN et al., 2016; OSAME et al., 1986). The HTLV-1 virus preferentially infects CD4 T cells, but is also found in CD8 T cells, B cells, and dendritic cells (BANGHAM, 2018; MARTIN et al., 2016). HTLV-1 infection activates genes that induce T cell proliferation and activation with an exaggerated production of proinflammatory cytokines such as TNF, IFN- $\gamma$ , CXCL-9 and CXCL-10 (ANDO et al., 2013; SATO et al., 2013). The high proviral load usually above 50,000 copies per  $10^6$  cells (GRASSI et al., 2011), and the exacerbated inflammatory response are considered the main biomarkers of HAM/TSP (Olindo et al. 2006; Santos et al. 2012). HAM/TSP is characterized by a slowly progressive spastic paraparesis, neurogenic bladder, and less visible sensory signals (ARAÚJO et al., 2009; BANGHAM et al., 2015). About 20% of individuals infected with HTLV-1 without HAM/TSP have urinary dysfunctions, especially due to overactive bladder (CASTRO et al., 2007). Erectile dysfunction is also observed in more than 50% of infected subjects with the virus (Oliveira et al. 2017). In addition to the aforementioned diseases, individuals infected with HTLV-1 have more chronic periodontitis, sicca syndrome, and arthropathy than seronegative individuals (CASKEY et al., 2008; LIMA et al., 2016; MOTOKAWA et al., 1996; POETKER et al., 2011).

Previous studies with HTLV-1-infected individuals who did not fulfill the criteria for HAM/TSP have shown a greater occurrence of neurological symptoms, such as weakness in the lower limbs, hyperreflexia, and altered vibratory sensitivity, as well as urinary dysfunction and erectile dysfunction, than in seronegative controls (BISWAS et



al., 2009; CASKEY et al., 2008). It has also been observed that many HTLV-1 infected individuals who do not meet the criteria for HAM/TSP present neurological complaints related to sensorial, motor, urinary, or autonomic manifestations (TANAJURA et al., 2015). Usually in virus-infected individuals who exhibit these symptoms or diseases, the proviral load is high or virus proteins are documented in the compromised tissue, supporting the important role of PVL in the passage of viruses to the tissues as a risk factor for carrier progress to disease. However, a significant rate of HTLV-1 carriers have PVL as high as patients with HAM/TSP (Santos et al. 2006; Martins et al. 2017). The majority of the studies correlating viral load and immunologic responses with clinical manifestations in HTLV-1 are cross-sectional. There are no prospective studies evaluating subjects with high viral burdens for long periods of time, who develop other HTLV-1 associated diseases as well as immunological abnormalities similar to those observed in patients with HAM/TSP.

## **Methods**

### **Type of Study and Participants**

This is a prospective cohort study with the participation of HTLV-1 infected subjects admitted between 2001 and 2016 in the Multidisciplinary HTLV-1 Clinic of the University Hospital Prof. Edgard Santos, Salvador, Bahia, Brazil. The study subjects were classified as exposed (high PVL) or non-exposed (low PVL). The exposed group had proviral loads greater than 50,000 copies/ $10^6$ PBMC (GRASSI et al., 2011) without any evidence of probable or definitive myelopathy (Castro-Costa et al. 2006). Non-exposed subjects were defined as HTLV-1 carriers with proviral loads lower than 50,000 copies/ $10^6$  cells at admission and did not have signs of HAM/TSP.

The HTLV-1 infection was diagnosed by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) - (Cambridge Biotech Corp., Worcester, MA, USA), and confirmed by Western blot test, HTLV blot (Genelab, Singapore). Initially, 92 HTLV-1 carriers were identified and 31 had high proviral load. As one of these patients had neurosyphilis, he was excluded. Thus, 30 patients with a high proviral load and 30 patients with a low proviral load matched for age ( $\pm$  5 years) and gender participated in the study. None of the subjects had immunosuppressants. This study was approved by the ethics Committee of the Federal University of Bahia and all subjects involved agreed to participate and signed an informed consent.

### **Study Design**

The subjects answered a standard questionnaire and had a clinical and neurological physical examination performed once a year. Information about how they were referred to the clinic, previous history of blood transfusions, breast feeding, and sexual behavior were recorded. Patients were evaluated by neurologists, urologists, rheumatologists, dentists, and psychologists. The outcomes determined were sicca syndrome, periodontitis, urinary dysfunction, erectile dysfunction, walking difficulty, running difficulty, hyperreflexia (grade 3 or 4), and Babinski reflexes. Sicca syndrome was defined by xerophthalmia and evidence of dry mouth and chronic periodontal diseases by the criteria established by the International Association of Periodontal disease. Low urinary tract symptoms such as nocturia, frequency, urgency, and incontinence were recorded, as well void dysfunction. The erectile dysfunction was determined by the International Index of Erectile Function (IIEF-5).

### **Cell Separation, Cell Culture, and Determination of Cytokine**

Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated from heparinized blood samples by density gradient centrifugation with Ficoll-Hypaque (GE Healthcare

Bio-Sciences, Uppsala, Sweden). The cells were cultured in RPMI 1640 (Life Technologies Gibco BRL, Grand Island, NY), 10% human AB serum (Sigma, St. Louis, MO), glutamine, HEPES, and antibiotics (complete RPMI). Cytokines were determined in supernatants of unstimulated PBMC cultures as previously described (Santos et al. 2012). Briefly, after mononuclear cell separation, the cells were washed twice in saline and were adjusted to the concentration of  $3 \times 10^6$  cells/ml in RPMI 1640 (Life Technologies Gibco BRL, Gran Island, New York) supplemented with 10% of fetal bovine serum (Sigma, St Louis, MO), glutamine, HEPES, and antibiotics. Unstimulated cells,  $3 \times 10^6$  cells/ml were incubated for 72 hours at 37°C 5% CO<sub>2</sub> and the supernatants were harvested. Cytokines were determined in supernatants of unstimulated PBMC cultures by sandwich ELISA using reagents from BD Biosciences Pharmingen, San Jose, CA and the results are expressed in pg/ml.

### **Determination of the Proviral Load**

The DNA was extracted from  $10^6$  PBMCs using proteinase K and salting-out method. The HTLV-1 proviral load was quantified using a real-time Taq-Man PCR method as previously described using the ABI Prism 7700 Sequence detector system (Applied Biosystems) (DEHÉE et al., 2002). Albumin DNA was used as an endogenous reference. The normalized value of the HTLV-1 proviral load was calculated as the ratio of HTLV-1 DNA average copy number/albumin DNA average copy number  $\times 2 \times 10^6$  and expressed as the number of HTLV-1 copies per  $10^6$  PBMCs.

### **Statistical Analysis**

All the data were kept in an electronic data bank, the Research Electronic Data Capture (HARRIS et al., 2009). Data was expressed as median and interquartile (IQ) range in all figures. Categorical variables were analyzed using the Pearson Chi-square

test or Fisher exact test. The proviral load and cytokine levels were expressed in median and the comparison was performed by the Mann-Whitman test. For the paired samples, we used the McNemar test. Correlations between two variables were examined by Spearman rank correlation analysis. All statistical analysis was performed using SPSS version 17 and were considered significant when  $P < .05$ .

## Results

A total of sixty individuals infected by HTLV-1 were eligible for this study and included in the analysis. The demographic, epidemiological, and clinical features of the participants are shown in table 1. There was a predominance of female individuals (66.7%). These patients were mainly referred by blood banks; 60% of the total in the group of subjects with high proviral load, and 80% in patients with low proviral load. The mean age was slightly higher in the group of non-exposed subjects, 56.2 years versus 55.5 years ( $p = .81$ ). In the group of carriers with high proviral load, subjects were followed a median of 11 years versus 11.5 years in the non-exposed group ( $p = .57$ ).

The comparative analysis of HTLV-1 carriers at study entry and in the last evaluation are shown in table 2. No significant differences were identified between the neurological signs and symptoms at the final follow-up evaluation in the exposed group. Carriers with high proviral load were not significantly more likely than controls to report complaints about the ability to run (16.7% versus 20%  $p = .74$ ), to walk (6.7% versus 10%  $p > .99$ ), urinary tract symptoms (16.7% versus 13.3%  $p = .99$ ), and paresthesia in the feet (20% versus 13.3%  $p = .49$ ). There was also no difference in the frequency of joint pain and periodontal disease during the follow-up. The cases had more xerostomia at the last evaluation compared to the entry.

The comparative analyses of the proviral load between the two groups at the entry and during the follow-up are shown in table 3. While there was a decrease in the high proviral load carriers during the follow-up, there was no significant change in proviral load among the controls.

The serum concentration of IFN- $\gamma$  was higher in the group with a high proviral load (median 1308 versus 686 pg/ml,  $p = .011$ ) when compared to the control group in the first evaluation, as well as the concentration of IL-10 (median 53 versus 0pg/ml,  $p = .01$ ). There were no differences in the level of IFN- $\gamma$  and IL-10 at baseline, and in the last evaluation there was a decrease in serum TNF concentration in both groups, with a significant difference in the group with low proviral load (median 105 pg/ml at admission versus 22 pg/ml in the last evaluation,  $p = .019$ ) (Fig.1).

The IL-10 is the most important cytokine in human cells, and there is a direct correlation between the levels of proinflammatory cytokines in IL10 and IFN- $\gamma$  (table 4). While there was no correlation between IFN- $\gamma$  and IL10 in carriers with a high proviral load, there was a direct correlation of these cytokines in subjects with a low proviral load. During the follow-up, more specifically in the last evaluation, there was a positive correlation between IFN- $\gamma$  and IL-10 in carriers with high proviral load; in subjects with low proviral load, this correlation disappeared.

We also evaluated the correlation between cytokines and proviral load (table 4). The significant correlation finding was between IFN- $\gamma$  and proviral load in carriers with low proviral load, and between TNF and proviral load in the same group.

## **Discussion**

The HAM/TSP only occurs in less than 5% of HTLV-1 infected subjects (MARTIN et al., 2016), but there are other clinical manifestations associated with this

virus such as sicca syndrome, periodontal disease, and arthropathy (FRENZEL et al., 2014; GARLET et al., 2010; LIMA et al., 2016). Moreover, a large proportion of HTLV-1 infected subjects, despite not fulfilling the criteria for HAM/TSP, have neurologic symptoms and signs related to spinal cord involvement, such as paresthesia, weakness in the inferior limbs, difficult walking, urologic manifestations of neurogenic bladder, and erectile dysfunction (BISWAS et al., 2009; CASKEY et al., 2008; POETKER et al., 2011; TANAJURA et al., 2015). The HTLV-1 proviral load has been considered the most important biomarker of HAM/TSP; patients with HAM/TSP also have higher production of proinflammatory cytokines than HTLV-1 carriers (Domingos et al. 2017; Guerreiro et al. 2006; Santos et al. 2012). Alternatively, HTLV-1 carriers may present proviral loads and proinflammatory cytokine levels as high as what is observed in HAM/TSP (Santos et al. 2004). However, there is no longitudinal study evaluating if overtime carriers with high HTLV-1 proviral loads develop more clinical and neurogenic diseases than carriers with low proviral loads, or if they are at a high risk to develop HAM/TSP. In the present study, we showed in a cohort study that HTLV-1 carriers who have a high viral burden also produce high levels of pro-inflammatory cytokines, but do not develop more clinical and neurological signs and symptoms than HTLV-1 carriers with low proviral load. Moreover, a decrease in the PVL was observed in carriers with high PVL over time.

The two groups of HTLV-1 carriers of the present study had similar demographic and epidemiologic profiles at admission, but they differ regarding the proviral load and the production of proinflammatory cytokines. Also, as carriers both groups had no difference in the clinical or neurological examination at admission. The only exception was the presence of paresthesia on the hands, which was more frequent in the group with a high PVL. It is relevant that two previous studies aimed to identify clinical and neurological manifestations related to HTLV-1 found higher frequencies of sicca

syndrome, periodontal disease, urinary complaints of neurogenic bladder, hyperreflexia, and even difficulty walking in HTLV-1 carriers than in the infected subjects (Caskey et al., 2008; Poetker 2012). The higher frequency of clinical and neurological manifestations in carriers in these previous studies compared with our data may be explained by the improvement in knowledge about the clinical spectrum of HTLV-1 infection in the last 10 years. In the present study, HTLV-1 carriers were defined as patients who did not have HAM/TSP or probable HAM/TSP, a form of HTLV-1 infection characterized mainly by urinary dysfunction (CASTRO-COSTA et al., 2006).

The high proviral load leads to T cell activation, which contributes to the passage of cells through the brain-blood barrier. Recent studies have shown that infected glial cells in the spinal cord produce higher levels of CXCL10 (ANDO et al., 2013; SATO et al., 2013), a cytokine known to recruit T cells to the inflammatory sites. A previous study has shown that a proviral load higher than 50,000 copies for  $10^6$ /lymphocytes is a good predictor for the diagnosis of HAM/TSP (GRASSI et al., 2011). It is known that HAM/TSP is a late manifestation of HTLV-1 infection occurring usually after the fourth decade of life. However, children who had a previous history of infective dermatitis develop HAM/TSP during adolescence or as young adults (de Oliveira et al. 2005). The documentation that children with infective dermatitis without evidence of HAM/TSP present proviral loads and proinflammatory cytokines as high as patients with HAM/TSP supports the important role of high HTLV-1 proviral load in early progression of HTLV-1 carriers to HAM/TSP (NASCIMENTO et al., 2009). However, in the present study HTLV-1 carriers with high proviral loads, followed for long periods of time, did not develop more clinical or neurological disease than HTLV-1 carriers with low proviral load.

Previous studies have shown that proinflammatory cytokine levels in serum and supernatants of PBMC are higher in patients with HAM/TSP than in HTLV-1 carriers (GRASSI et al., 2011; MATSUZAKI et al., 2001; NAGAI et al., 1998; OLINDO et al., 2005). The proinflammatory cytokines such as IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF, CXCL9 and CXCL10 and IFN- $\gamma$  participate in the pathology of several chronic inflammatory diseases including rheumatoid arthritis (PANDYA et al., 2017), coronary diseases (HANSSON, 2005), cerebral malaria (RUDIN et al., 1997), tegumentary leishmaniasis (Oliveira et al. 2014), and Chagas diseases (GOMES et al., 2003; POVEDA et al., 2014). We have previously shown that patients with HAM/TSP display a decreased ability to down modulate T cell response (Santos et al. 2006) in comparison with HTLV-1 carriers, and that CD8 T cells participate in the pathogenesis of HAM/TSP (Santos et al. 2004). We don't know the mechanism through which HTLV-1 infection induces central nervous system damage, but there is much evidence of the participation of proinflammatory cytokines, as well as cytotoxicity mediated by CD8 T cells in the pathology of infectious diseases. Although baseline production of IFN- $\gamma$  was higher in cases with high proviral loads than in control groups, both groups produced high amounts of IFN- $\gamma$  and TNF, indicating that a high production of proinflammatory cytokines may occur even in the absence of neurological disease.

A correlation between proinflammatory and anti-inflammatory cytokines has been observed in subjects with HTLV infection, and there is a direct correlation between IFN- $\gamma$  and IL-10 as well in TNF and IL-10 in HTLV-1 carriers (CARVALHO et al., 2001). In the present study, we evaluated if there was a correlation between the cytokines in carriers with high and low PVL. Interestingly, there was no correlation between IFN- $\gamma$  and IL-10 in the cases at entry, but a strong correlation among these cytokines was found in the last evaluation. It is possible that the correlation between the anti-inflammatory



cytokine IL-10 with the pro-inflammatory cytokine during the follow-up contribute to attenuate the damage caused by exacerbated inflammatory response observed in HTLV-1 infection.

An analysis of the correlation between proviral load and cytokines in the two groups studied showed different profiles. While low proviral load carriers showed a direct correlation between IFN- $\gamma$  and TNF production and proviral load in the last evaluation, in the group of subjects with a high proviral load this correlation was not observed. The existence of a correlation between proviral load and cytokine production was observed in other studies (LIMA et al., 2016; STARLING et al., 2013). It is possible that in individuals with a high proviral load, the exaggerated production of cytokines and the increase in T cell activation prevent the detection of the influence of the proviral load in cytokine production.

The participants in this study were followed for a long period of time. Although it cannot be ruled out that if they were followed for a longer period, we would observe clinical and neurological diseases or even the development of HAM/TSP, in the present study we observed neither the appearance of neurological manifestations nor other diseases associated with HTLV-1 in carriers with high proviral load. While during the follow-up, there was a significant decrease in the proviral load in carriers with a high proviral load at admission, no significant changes in cytokine profiles were observed in this group of subjects. Only in carriers with low proviral load was there a significant decrease in the in TNF levels. While variability in the proviral load has been observed in other studies during the follow-up of HTLV-1 infected subjects, it cannot be ruled out that in these carriers, host defense mechanisms developed during the course of the viral infection contributed to the decrease in the proviral load and the maintenance of a carrier state.

Our data indicate that a large number of HTLV-1 infected subjects with a high proviral load and an exaggerated inflammatory response do not develop neurological manifestations, urinary and erectile dysfunction, nor other diseases associated with HTLV-1. These findings suggest that other factors, in addition to the proviral load and the inflammatory response observed in the peripheral blood, are necessary for carriers to develop disease associated with HTLV-1.

### **Aknowledgements**

This study was supported by the CNPq and the Fundação Maria Emília Freire Pedreira de Carvalho. We thank Cristiano Franco for the support in the preparation of this manuscript.

### **References**

- Ando, Hitoshi, Tomoo Sato, Utano Tomaru, Mari Yoshida, Atae Utsunomiya, Junji Yamauchi, Natsumi Araya, et al. 2013. "Positive Feedback Loop via Astrocytes Causes Chronic Inflammation in Virus-Associated Myelopathy." *Brain* 136 (9): 2876–87. <https://doi.org/10.1093/brain/awt183>.
- Araújo, Abelardo Q C, Ana Claudia C Leite, Marco Antonio S D Lima, and Marcus Tullius T Silva. 2009. "HTLV-1 and Neurological Conditions: When to Suspect and When to Order a Diagnostic Test for HTLV-1 Infection?" *Arquivos de Neuro-Psiquiatria* 67 (1): 132–38. <https://doi.org/10.1590/S0004-282X2009000100036>.
- Bangham, Charles R. M., Abelardo Araujo, Yoshihisa Yamano, and Graham P. Taylor. 2015. "HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis." *Nature Reviews Disease Primers* 1 (August): 15012. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.12>.
- Bangham, Charles R M. 2018. "Human T Cell Leukemia Virus Type 1: Persistence and Pathogenesis." *Annual Review of Immunology* 36 (November 2017): 43–71. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042617-053222>.
- Biswas, H. H., J. W. Engstrom, Z. Kaidarova, G. Garratty, J. W. Gibble, B. H. Newman, J. W. Smith, et al. 2009. "Neurologic Abnormalities in Htlv-i- and Htlv-ii-Infected

Individuals without Overt Myelopathy." *Neurology* 73 (10): 781–89. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181b6bba9>.

Carvalho, Edgar M., Olívia Bacellar, Aurélia F. Porto, Silvane Braga, Bernardo Galvão-Castro, and Franklin Neva. 2001. "Cytokine Profile and Immunomodulation in Asymptomatic Human T-Lymphotropic Virus Type 1-Infected Blood Donors." *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* (1999) 27 (1): 1–6. <https://doi.org/10.1097/00126334-200105010-00001>.

Caskey, Marina F, Daniel J Morgan, Aurelia F Porto, Silvana P Giozza, Andre L Muniz, Glória O Orge, Maria J Travassos, Yolanda Barrón, Edgar M Carvalho, and Marshall J Glesby. 2008. "Clinical Manifestations Associated with HTLV Type I Infection: A Cross-Sectional Study." *Aids* 23 (3): 365–71. <https://doi.org/10.1089/aid.2006.0140.Clinical>.

Castro-Costa, Carlos M D E, Abelardo Q C Araújo, Márcio M Barreto, Osvaldo M Takayanagui, Marzia P Sohler, Eduardo L M D A Silva, Sônia M B D E Paula, et al. 2006. "Proposal for Diagnostic Criteria of Tropical Spastic Paraparesis/HTLV-I-Associated Myelopathy (HAM/TSP)." *AIDS Research and Human Retroviruses* 22 (10): 931–35. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1089/aid.2006.22.931>.

Castro, Néviton M., Waldyr Rodrigues, Daniel M. Freitas, André Muniz, Paulo Oliveira, and Edgar M. Carvalho. 2007. "Urinary Symptoms Associated with Human T-Cell Lymphotropic Virus Type I Infection: Evidence of Urinary Manifestations in Large Group of HTLV-I Carriers." *Urology* 69 (5): 813–18. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2007.01.052>.

Dehée, Axelle, Raymond Césaire, Nathalie Désiré, Agnès Lézin, Olivier Bourdonné, Odile Béra, Yves Plumelle, Didier Smadja, and Jean Claude Nicolas. 2002. "Quantitation of HTLV-I Proviral Load by a TaqMan Real-Time PCR Assay." *Journal of Virological Methods* 102 (1–2): 37–51. [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(01\)00445-1](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(01)00445-1).

Domingos, João Américo, Luana Silva Soares, Larissa M. Bandeira, Camila Mareti Bonin, Ana C P Vicente, Louise Zanella, Marco Antonio Moreira Puga, Inês Aparecida Tozetti, Ana Rita Coimbra Motta-Castro, and Rivaldo Venâncio da Cunha. 2017. "Cytokine Profile and Proviral Load among Japanese Immigrants and Non-Japanese Infected with HTLV-1 in a Non-Endemic Area of Brazil." *PloS One* 12 (4): e0174869. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174869>.

Frenzel, Laurent, Bertrand Moura, Ambroise Marcais, Hugo Chapdelaine, and Olivier Hermine. 2014. "HTLV-1-Associated Arthropathy Treated with Anti-TNF-Alpha Agent." *Joint Bone Spine* 81 (4): 360–61. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2013.10.006>.

Garlet, Gustavo Pompermaier, Silvana Pereira Giozza, Elcia Maria Silveira, Marcela Claudino, Silvane Braga Santos, Mario Julio Avila-Campos, Walter Martins, Jr, et al. 2010. "Association of Human T Lymphotropic Virus 1 Amplification of Periodontitis Severity with Altered Cytokine Expression in Response to a Standard Periodontopathogen Infection." *Clinical Infectious Diseases* 50 (3): e11–18. <https://doi.org/10.1086/649871>.

Gomes, J. A.S., L. M.G. Bahia-Oliveira, M. O.C. Rocha, O. A. Martins-Filho, G. Gazzinelli, and R. Correa-Oliveira. 2003. "Evidence That Development of Severe Cardiomyopathy in Human Chagas' Disease Is Due to a Th1-Specific Immune Response." *Infection and Immunity* 71 (3): 1185–93. <https://doi.org/10.1128/IAI.71.3.1185-1193.2003>.

Grassi, Maria Fernanda Rios, Viviana Nilla Olavarria, Ramon de Almeida Kruschewsky, Rita Elizabeth Mascarenhas, Inês Dourado, Luis C.L. Correia, Carlos Maurício de Castro-Costa, and Bernardo Galvão-Castro. 2011. "Human T Cell Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1) Proviral Load of HTLV-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis (HAM/TSP) Patients According to New Diagnostic Criteria of HAM/TSP." *Journal of Medical Virology* 83 (7): 1269–74. <https://doi.org/10.1002/jmv.22087>.

Guerreiro, J. B., S. B. Santos, D. J. Morgan, A. F. Porto, A. L. Muniz, J. L. Ho, A. L. Teixeira, M. M. Teixeira, and E. M. Carvalho. 2006. "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." *Clinical and Experimental Immunology* 145 (2): 296–301. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03150.x>.

Hansson, Göran K. 2005. "Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease." *New England Journal of Medicine* 352 (16): 1685–95. <https://doi.org/10.1056/NEJMra043430>.

Harris, Paul a., Robert Taylor, Robert Thielke, Jonathon Payne, Nathaniel Gonzalez, and Jose G Conde. 2009. "Research Electronic Data Capture (REDCap) - A Metadata Driven

Methodology and Workflow Process for Providing Translational Research Informatic Support.” *Journal of Biomedical Informatics* 42 (2): 377–81. <https://doi.org/10.1016/j.jbi.2008.08.010>.Research.

Lima, Clara Mônica, Silvano Santos, Adriana Dourado, Natália B. Carvalho, Valéria Bittencourt, Marcus Miranda Lessa, Isadora Siqueira, and Edgar M. Carvalho. 2016. “Association of Sicca Syndrome with Proviral Load and Proinflammatory Cytokines in HTLV-1 Infection.” *Journal of Immunology Research* 2016: 1–6. <https://doi.org/10.1155/2016/8402059>.

Mahieux, R., and Antoine Gessain. 2009. “The Human HTLV-3 and HTLV-4 Retroviruses: New Members of the HTLV Family.” *Pathologie Biologie* 57 (2): 161–66. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2008.02.015>.

Martin, Jessica L., José O. Maldonado, Joachim D. Mueller, Wei Zhang, and Louis M. Mansky. 2016. “Molecular Studies of HTLV-1 Replication: An Update.” *Viruses* 8 (2): 1–22. <https://doi.org/10.3390/v8020031>.

Martins, Marina Lobato, Jacqueline Cronemberger Guimarães, João Gabriel Ribas, Luiz Cláudio Ferreira Romanelli, and Anna Bárbara de Freitas Carneiro-Proietti. 2017. “Long-Term Follow-up of HTLV-1 Proviral Load in Asymptomatic Carriers and in Incident Cases of HAM/TSP: What Is Its Relevance as a Prognostic Marker for Neurologic Disease?” *Journal of NeuroVirology* 23 (1): 125–33. <https://doi.org/10.1007/s13365-016-0484-x>.

Matsuzaki, T., M. Nakagawa, M. Nagai, K. Usuku, I. Higuchi, K. Arimura, H. Kubota, S. Izumo, S. Akiba, and M. Osame. 2001. “HTLV-1 Proviral Load Correlates with Progression of Motor Disability in HAM/TSP: Analysis of 239 HAM/TSP Patients Including 64 Patients Followed up for 10 Years.” *Journal of NeuroVirology* 7 (3): 228–34. <https://doi.org/10.1080/13550280152403272>.

Motokawa, S, T Hasunuma, K Tajima, A M Krieg, S Ito, K Iwasaki, and K Nishioka. 1996. “High Prevalence of Arthropathy in HTLV-I Carriers on a Japanese Island.” *Annals of the Rheumatic Diseases* 55 (3): 193–95. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8712884>.

Nagai, M, K Usuku, W Matsumoto, D Kodama, N Takenouchi, T Moritoyo, S Hashiguchi, et al. 1998. “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. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10065900>.

Nascimento, M. C F, J. Primo, A. Bittencourt, I. Siqueira, M. De Fátima Oliveira, R. Meyer, A. Schrieffer, S. B. Santos, and E. M. Carvalho. 2009. “Infective Dermatitis Has Similar Immunological Features to Human T Lymphotropic Virus-Type 1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis.” *Clinical and Experimental Immunology* 156 (3): 455–62. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2008.03869.x>.

Olindo, Stéphane, Philippe Cabre, Agnes Lézin, Harold Merle, Martine Saint-Vil, Aïssatou Signate, Mickael Bonnan, et al. 2006. “Natural History of Human T-Lymphotropic Virus 1–Associated Myelopathy.” *Archives of Neurology* 63: 1560–66. <https://doi.org/10.1001/archneur.63.11.1560>.

Olindo, Stéphane, Agnès Lézin, Philippe Cabre, Harold Merle, Martine Saint-Vil, Mireille Edimonana Kaptue, Aïssatou Signate, Raymond Césaire, and Didier Smadja. 2005. “HTLV-1 Proviral Load in Peripheral Blood Mononuclear Cells Quantified in 100 HAM/TSP Patients: A Marker of Disease Progression.” *Journal of the Neurological Sciences* 237 (1–2): 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2005.05.010>.

Oliveira, Cassius José Vitor de, José Abraão Carneiro Neto, Rosana C.P. Andrade, Paulo Novis Rocha, and Edgar Marcelino de Carvalho Filho. 2017. “Risk Factors for Erectile Dysfunction in Men With HTLV-1.” *Journal of Sexual Medicine* 14 (10): 1195–1200. <https://doi.org/10.1016/j.jsxm.2017.08.001>.

Oliveira, M. d. F. S. P. de, C. Brites, N. Ferraz, P. Magalhaes, F. Almeida, and A. L. Bittencourt. 2005. “Infective Dermatitis Associated with the Human T Cell Lymphotropic Virus Type I in Salvador, Bahia, Brazil.” *Clinical Infectious Diseases* 40 (11): e90–96. <https://doi.org/10.1086/430064>.

Oliveira, Walker Nonato, Luís Eduardo Ribeiro, Albert Schrieffer, Paulo Machado, Edgar M. Carvalho, and Olívia Bacellar. 2014. “The Role of Inflammatory and Anti-Inflammatory Cytokines in the Pathogenesis of Human Tegumentary Leishmaniasis.” *Cytokine* 66 (2): 127–32. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2013.12.016>.

Osame, Mitsuhiro, Koichiro Usuku, Shuji Izumo, Naomi Ijichi, Hiroyoko Amitani, Akihiro Igata, Makoto Matsumoto, and Mitsutoshi Tara. 1986. “HTLV-I Associated

Myelopathy, a New Clinical Entity.” *Lancet* (London, England) 1 (8488): 1031–32. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(86\)91298-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(86)91298-5).

Pandya, Jayesh M., Anna Carin Lundell, Kerstin Andersson, Inger Nordström, Elke Theander, and Anna Rudin. 2017. “Blood Chemokine Profile in Untreated Early Rheumatoid Arthritis: CXCL10 as a Disease Activity Marker.” *Arthritis Research and Therapy* 19 (1): 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13075-017-1224-1>.

Poetker, Shelene K W, Aurelia F. Porto, Silvana P. Giozza, Andre L. Muniz, Marina F. Caskey, Edgar M. Carvalho, and Marshall J. Glesby. 2011. “Clinical Manifestations in Individuals with Recent Diagnosis of HTLV Type I Infection.” *Journal of Clinical Virology* 51 (1): 54–58. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2011.02.004>.

Poiesz, Bernard J., Francis W. Ruscetti, Adi F. Gazdar, Paul A. Bunn, John D. Minna, and Robert C. Gallo. 1980. “Detection and Isolation of Type C Retrovirus Particles from Fresh and Cultured Lymphocytes of a Patient with Cutaneous T-Cell Lymphoma.” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 77 (12): 7415–19. <https://doi.org/10.1073/pnas.77.12.7415>.

Poveda, Cristina, Manuel Fresno, Núria Gironès, Olindo A. Martins-Filho, Juan David Ramírez, Julien Santi-Rocca, José A. Marin-Neto, Carlos A. Morillo, Fernando Rosas, and Felipe Guhl. 2014. “Cytokine Profiling in Chagas Disease: Towards Understanding the Association with Infecting *Trypanosoma Cruzi* Discrete Typing Units (A Benefit Trial Sub-Study).” *PLoS ONE* 9 (3): 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091154>.

Rudin, Werner, Nicolas Favre, Gérard Bordmann, and Bernhard Ryffel. 1997. “Interferon- $\gamma$  Is Essential for the Development of Cerebral Malaria.” *European Journal of Immunology* 27 (4): 810–15. <https://doi.org/10.1002/eji.1830270403>.

Santos, Silvane Braga, Aurélia Fonseca Porto, André Luiz Muniz, Amélia Ribeiro de Jesus, Elza Magalhães, Ailton Melo, Walderez O. Dutra, Kenneth J. Gollob, and Edgar M. Carvalho. 2004. “Exacerbated Inflammatory Cellular Immune Response Characteristics of HAM/TSP Is Observed in a Large Proportion of HTLV-I Asymptomatic Carriers.” *BMC Infectious Diseases* 4: 1–8. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-4-7>.

Santos, Silvane B., Aurélia F. Porto, André Luiz Muniz, Tania Luna, Márcia C. Nascimento, Jaqueline B. Guerreiro, Jmary Oliveira-Filho, Daniel J. Morgan, and Edgar

M. Carvalho. 2006. "Modulation of T Cell Responses in HTLV-1 Carriers and in Patients with Myelopathy Associated with HTLV-1." *Neuroimmunomodulation* 13 (3): 145–51. <https://doi.org/10.1159/000097259>.

Santos, Silvane Braga, Paulo Oliveira, Tania Luna, Anselmo Souza, Márcia Nascimento, Isadora Siqueira, Davi Tanajura, André Luiz Muniz, Marshall J Glesby, and Edgar M Carvalho. 2012. "Immunological and Viral Features in Patients with Overactive Bladder Associated with Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 Infection." *Journal of Medical Virology* 84 (11): 1809–17. <https://doi.org/10.1002/jmv.23341>.

Sato, Tomoo, Ariella Coler-Reilly, Atae Utsunomiya, Natsumi Araya, Naoko Yagishita, Hitoshi Ando, Junji Yamauchi, et al. 2013. "CSF CXCL10, CXCL9, and Neopterin as Candidate Prognostic Biomarkers for HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis." *PLoS Neglected Tropical Diseases* 7 (10): 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002479>.

Starling, Ana Lúcia Borges, Olindo Assis Martins-Filho, José Roberto Lambertucci, Ludimila Labanca, Silvio Roberto de Souza Pereira, Andréa Teixeira-Carvalho, Marina Lobato Martins, João Gabriel Ribas, Anna Bárbara F. Carneiro-Proietti, and Denise Utsch Gonçalves. 2013. "Proviral Load and the Balance of Serum Cytocines in HTLV-1-Asymptomatic Infection and in HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis (HAM/TSP)." *Acta Tropica* 125 (1): 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.09.012>.

Tanajura, Davi, Néviton Castro, Paulo Oliveira, Abraão Neto, André Muniz, Natália B Carvalho, Glória Orge, Silvane Santos, Marshall J. Glesby, and Edgar M. Carvalho. 2015. "Neurological Manifestations in Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1)-Infected Individuals Without HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis: A Longitudinal Cohort Study." *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 61 (1): 49–56. <https://doi.org/10.1093/cid/civ229>.



**Table 1. Demographic, Epidemiologic Characteristics and Clinical Aspects of HTLV-1 Carriers, Classified According to the Proviral Load at Study Entry**

Characteristic	High Proviral Load Carriers (n 30)	Low Proviral Load Carriers (n 30)	p value
<b>Female sex</b>	20 (66.7%)	20 (66.7%)	
<b>Median age. y</b>	55.5 ( $\pm$ 11.6)	56.2 ( $\pm$ 11.2)	=.81 <sup>c</sup>
<b>Patient Referral</b>			=.19 <sup>a</sup>
Blood banks	18 (60%)	24 (80%)	
Other clinics	1 (3.3%)	0	
Relatives	1 (3.3%)	2 (6.7%)	
Others	10 (33.3%)	4 (13.3%)	
<b>Blood transfusion</b>	4 (13.8%)	1 (3.3%)	=.19 <sup>b</sup>
<b>Years of follow up (median [interquartile range])</b>	11 (8.5 - 13)	11.5 (8 - 12)	=.57 <sup>c</sup>
<b>Comorbidities</b>			
Diabetes mellitus	4 (13.3%)	3 (10%)	>.99 <sup>b</sup>
Hypothyroidism	3 (10%)	1 (3.3%)	=.61 <sup>b</sup>
Osteoarthritis	7 (23.3%)	13 (43.3%)	=.10 <sup>a</sup>
HBV infection	0	1(3.3%)	>.99 <sup>b</sup>
HCV infection	0	1 (3.3%)	>.99 <sup>b</sup>

Abbreviations: HTLV-1, human T-cell lymphotropic virus type 1; HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus;

a  $\chi^2$  test; b Fisher's exact test; c Mann–Whitney U test

**Table 2. Clinical Symptoms and Signs in HTLV-1 Infected Subjects With High or Low Proviral Load at Admission and in the Last Evaluation.**

Clinical features	Low Proviral Load Carriers			High Proviral Load Carriers			Comparison between groups	
	Admission	Final evaluation	p value <sup>a</sup>	Admission	Final evaluation	p value <sup>a</sup>	Admission p value	Final evaluation p value
<b>Urological symptoms</b>	4 (13.3%)	4 (13,3%)	>.99	5 (16.7%)	5 (16.7%)	1	>.99 <sup>b</sup>	>.99 <sup>b</sup>
Erectile dysfunction	3 (10%)	0	.25	1 (3.3%)	2 (6.7%)	>.99	.61 <sup>b</sup>	.49 <sup>b</sup>
Urgency	1 (3.3%)	0	>.99	0	0	---	>.99 <sup>b</sup>	---
Stress urinary incontinence	0	0	---	3 (10%)	1 (3.3%)	.63	0.24 <sup>b</sup>	>.99 <sup>b</sup>
Erectile dysfunction	0	3/10 (30%)	.25	0	0	---	---	.21 <sup>b</sup>
Others	0	1 (3.3%)	>.99	1 (3.3%)	2 (6.7%)	>.99	>.99 <sup>b</sup>	>.99 <sup>b</sup>
<b>Neurological symptoms</b>								
Difficulty running	2 (6.7%)	6 (20%)	.22	3 (10%)	5 (16.7%)	.69	>.99 <sup>b</sup>	.74 <sup>c</sup>
Difficulty walking	0	3 (10%)	.25	1 (3.3%)	2 (6.7%)	>.99	>.99 <sup>b</sup>	>.99 <sup>b</sup>
Hand numbness	2 (6.7%)	4 (13.3%)	.68	8 (26.7%)	5 (16.7%)	.51	.04 <sup>c</sup>	>.99 <sup>b</sup>
Foot numbness	2 (6.7%)	4 (13.3%)	.68	7 (23.3%)	6 (20%)	>.99	.14 <sup>b</sup>	.49 <sup>c</sup>
Biceps hyperreflexia	4 (13.3%)	2 (6.7%)	.5	1 (3.3%)	1 (3.3%)	1	.35 <sup>c</sup>	>.99 <sup>b</sup>
Patellar hyperreflexia	4 (13.3%)	5 (16.7%)	>.99	5(16.7%)	7(23.3%)	0.62	>.99 <sup>b</sup>	.52 <sup>c</sup>
Babinski sign	0	0		0	0			
<b>Rheumatological symptoms</b>								
<b>Joint pain</b>								
Monoarticular	1/28 (3.6%)	4 (13.3%)	.5	2 (6.7%)	5 (16.7%)	.37	>.99 <sup>b</sup>	>.99 <sup>b</sup>
Oligoarticular	1/28 (3.6%)	3 (10%)	.62	1 (3.3%)	7 (23.3%)	.07	>.99 <sup>b</sup>	.16 <sup>c</sup>
Polyarticular	0/28	2 (6.7%)	.5	0	1 (3.3%)	>.99	---	>.99 <sup>b</sup>
<b>Xerostomia</b>	4 (13.3%)	6/23 (26.1%)	.68	3 (10%)	9/25 (36%)	.03	>.99 <sup>b</sup>	.46 <sup>c</sup>
<b>Xerophthalmia</b>	6/29 (20.7%)	6 (20%)	>.99	5 (16.7%)	13 (43.3%)	.06	.69 <sup>c</sup>	.052 <sup>c</sup>
<b>Periodontal disease</b>	6/16 (37.5%)	12/21 (57.1%)	>.99	11/24 (45.8%)	12/24 (50%)	>.99	.60 <sup>c</sup>	.63 <sup>c</sup>

b McNemar test; B Fisher's exact test; c  $\chi$  Test<sup>2</sup>

**Table 3. Comparative analysis between the baseline proviral load and the last evaluation in HTLV-1 Carriers**

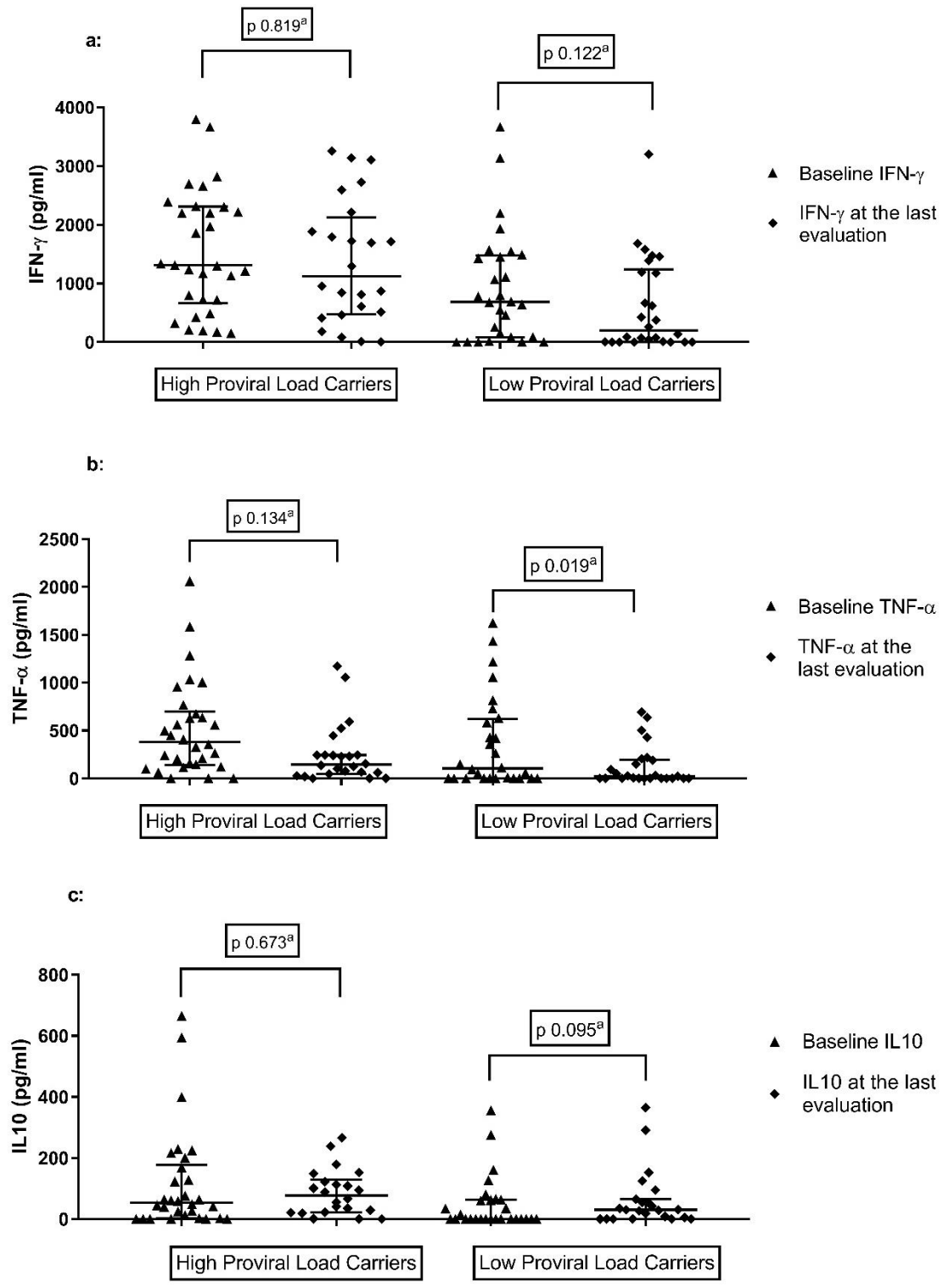
	Baseline proviral load	Proviral load at final evaluation	p-value <sup>a</sup>
High Proviral Load Carriers <sup>b</sup>	120848 (79583.75 – 192800.25) <sup>Δ</sup>	71896 (21710 - 156828.75) <sup>¥</sup>	=.02
Low Proviral Load Carriers <sup>b</sup>	4821 (937 - 27604) <sup>Δ</sup>	6141 (461.5 - 27851.5) <sup>◇</sup>	>.99

a Wilcoxon signed-rank test;

b Expressed as number of HTLV-1 copies per 10<sup>6</sup> peripheral blood mononuclear cells. median (interquartile range).

Δ n = 30; ¥ n = 26; ◇ n = 25

**Fig1. Cytokine Concentrations in Supernatants of Unstimulated Mononuclear Cell Cultures of HTLV-1 Carriers with High and Low Proviral Load at Study Entry and at the Last Evaluation.**



a Wilcoxon signed-rank test

**Table 4. Correlations Between Serum Cytokines and Proviral Load from HTLV-1 Carriers at Study Entry and at the Last Evaluation**

Correlations	High Proviral Load Carriers		Low Proviral Load Carriers	
	Study Entry	Last Evaluation	Study Entry	Last Evaluation
<b>IFN-<math>\gamma</math> x PVL</b>	-.013 (=95)	-.235 (=29)	.554 (<.01)	.659 (<.001)
<b>TNF x PVL</b>	.117 (=54)	.002 (=99)	.299 (=12)	.437 (=03)
<b>IL10 x PVL</b>	0.154 (=41)	0.275 (=24)	0.304 (=11)	0.202 (=37)
<b>TNF x IFN-<math>\gamma</math></b>	.450 (=01)	.721 (<.01)	.641 (<.001)	.605 (<.01)
<b>IL10 x IFN-<math>\gamma</math></b>	.300 (=11)	.768 (<.01)	.455 (=01)	.318 (=14)
<b>TNF x IL10</b>	.483 (<.01)	.451 (=03)	.358 (=06)	.458 (=03)

Spearman correlations were calculated between parameters. The 'r' indexes are shown and filled squares indicate significant correlations (p-value).

PVL: proviral load