



FIOCRUZ

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

**Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e
Medicina Investigativa**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE CITOCINAS E QUIMIOCINAS NA
INFECÇÃO PELO HTLV-1.**

LEANDRO DE OLIVEIRA CEDRAZ

Salvador – Bahia

2015

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

**Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e
Medicina Investigativa**

**CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE CITOCINAS E QUIMIOCINAS NA
INFECÇÃO PELO HTLV-1.**

LEANDRO DE OLIVEIRA CEDRAZ

Orientadora: Dr^a Maria Lourdes Farre Vallve

Dissertação apresentada ao Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa como requisito obrigatório para a obtenção do grau de Mestre.

Salvador – Bahia

2015

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

C389c Cedraz, Leandro de Oliveira.
Concentrações plasmáticas de citocinas e quimiocinas na infecção pelo
HTLV-1 / Leandro de Oliveira Cedraz. - 2015.
83 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr^a Maria Lourdes Farre Valle, Laboratório de Patologia
Experimental.

Dissertação (Mestrado de Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa)
Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, 2015.

1. HTLV-I. 2. Ultraestrutura. 3. Citocinas. 4. Quimiocinas. 5. Linfócitos.
I. Título.

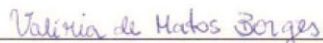
CDU 616.98

"CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE CITOCINAS E QUIMIOCINAS NA INFECÇÃO PELO HTLV-1"


LEANDRO DE OLIVEIRA CEDRAZ

FOLHA DE APROVAÇÃO

COMISSÃO EXAMINADORA



Dra. Valéria de Matos Borges
Pesquisadora
CPqGM/FIOCRUZ



Dra. Theolis Costa Barbosa Bessa
Pesquisadora
CPqGM/FIOCRUZ



Dr. Luiz Carlos Júnior Alcântara
Pesquisador Titular
CPqGM/FIOCRUZ

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela força, sabedoria, persistência e pela minha vida.

À toda minha família pela força, incentivo e compreensão dos momentos que tive que estar ausente.

À todos os meus amigos que estiveram juntos e me fortalecendo nesta caminhada, em especial ao meu amigo Anderson Cleiton e às minhas amigas Rosely Cruz, Samira Farias e Mônica Toledo, pelos conselhos e apoio. Vocês foram fundamentais nesta caminhada!!

À minha orientadora, Dra. Lourdes Farre, pela oportunidade de crescimento profissional e por toda a orientação que me foi dada com muita presteza.

À todos os colegas de grupo: Everton Batista, Tiago Landim, Pedro Dantas e pelos antigos colegas Marcelo, Juliana, Isabela e Vanessa, os quais também foram fundamentais neste processo.

À Daniela Andrade pela grande ajuda e boa vontade ao me ensinar muito sobre a técnica do CBA, você foi uma peça fundamental!!

À todos os colegas do LAPEX, em especial à Tininha Gonzales, Elisângela, Dra Márcia e Sr Antônio e ao chefe do laboratório, Dr. Zilton Andrade.

Ao Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz – CPqGM pelo espaço e recursos materiais e humanos utilizados durante o desenvolvimento do projeto.

Ao grupo de Manifestações infanto-juvenis da infecção pelo HTLV-I na Bahia, em especial à Dra. Achiléa Bittencourt, que tem se dedicado e realizado trabalhos de grande importância com pacientes portadores do HTLV-I na Bahia.

Aos membros da banca examinadora, Dr. Luiz Alcântara, Dra Theolis Bessa, à Dra Valéria Matos e à Dra Isadora Siqueira, por contribuir de forma ímpar com o trabalho, através de sugestões e correções fundamentais para a conclusão do projeto.

À Biblioteca de Ciências Biomédicas Eurydice Pires de Sant'Anna - Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, em especial à bibliotecária Sr^a Ana Maria Fiscina pelas correções e parametrização nas normas vigentes.

CEDRAZ, Leandro de Oliveira. Concentrações plasmáticas de citocinas e quimiocinas na infecção pelo HTLV-1. 83 f. il. Dissertação (Mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2015.

RESUMO

INTRODUÇÃO: O vírus linfotrópico das células T humano tipo 1 (HTLV-1) é endêmico na Bahia e está associado com doenças graves, como a Paraparesia Espástica Tropical/Mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP) e a Dermatite Infecciosa associada ao HTLV-1 (DIH). Escassos trabalhos tem sido reportados com a avaliação de citocinas e quimiocinas em indivíduos jovens infectados pelo HTLV-1 e não existem dados sobre a manifestação simultânea DIH e HAM/TSP na faixa infanto-juvenil. **OBJETIVO:** Avaliar as concentrações plasmáticas de citocinas e quimiocinas na infecção pelo HTLV-1 em indivíduos infanto-juvenis. **MÉTODO:** Foram incluídos 61 indivíduos portadores do HTLV-1 distribuídos nos grupos Portadores assintomáticos, pacientes com a DIH, pacientes com DIH/HAM/TSP, pacientes com a HAM/TSP e 20 indivíduos saudáveis sem a infecção pelo HTLV-1, todos na faixa infanto-juvenil. As concentrações plasmáticas foram comparadas através do método de *Elisa* e de *Cytometric Bead Array* (CBA). As análises estatísticas foram realizadas com o *GraphPad Prism 6.1* através do teste *Mann Whitney* para comparação das medianas e pelo teste *Wilcoxon* para comparação das amostras pareadas, e a avaliação das correlações pelo coeficiente de *Spearman*. **RESULTADOS:** As citocinas IL-2, IL-6 estiveram em maiores concentrações em todos os grupos de portadores do HTLV-1. Os indivíduos saudáveis apresentaram menores concentrações de IFN- γ que o grupo de indivíduos portadores assintomáticos e o grupo de pacientes com a DIH, além de menores concentrações de IL-4 e IL-10 quando comparado com os indivíduos infectados, contudo apenas a IL-10 esteve em concentrações diferentes nos indivíduos com o vírus. Os indivíduos saudáveis apresentaram maiores concentrações da quimiocina CCL-22. Portadores assintomáticos e pacientes com a DIH apresentaram menores concentrações de IL-1 β quando comparados com indivíduos saudáveis. Os portadores assintomáticos apresentaram menores concentrações da IL-17 que os indivíduos não infectados. Os pacientes com a DIH/HAM/TSP apresentaram maiores concentrações para a IL-1 β , quando comparado com o grupo de pacientes com a DIH e com o grupo de pacientes com a HAM/TSP, além de menores concentrações da quimiocina CCL-27. O grupo HAM/TSP apresentou menores concentrações de IL-8 que os grupos DIH e DIH/HAM/TSP. A carga proviral foi menor no grupo dos portadores assintomáticos, seguidos do grupo de pacientes com DIH, e do grupo de pacientes de DIH que também manifestaram HAM/TSP, já o grupo de pacientes com a HAM/TSP apresentaram cargas provirais menores que o grupo DIH e o grupo DIH/HAM/TSP. Apenas a IL-8 e IL-10 apresentaram correlações fracas com a carga proviral. Na remissão da DIH, houve maiores concentrações da CCL-27, enquanto o TNF- α esteve em maiores concentrações no momento em que o paciente apresentou a DIH/HAM/TSP. **CONSIDERAÇÕES FINAIS:** Na infecção pelo HTLV-1 na faixa infanto-juvenil ocorre uma desregulação imunológica acompanhada de um mecanismo imunomodulador. Nos portadores assintomáticos, parece existir um maior equilíbrio entre a resposta pro e anti-inflamatória. A manifestação de DIH e da HAM/TSP, parece estar relacionada com um maior desequilíbrio entre a resposta imunológica, e nos pacientes com a DIH/HAM/TSP esta resposta parece sofrer influência de mecanismos da comanifestação.

PALAVRAS CHAVE: HTLV-I, DIH, HAM/TSP, Citocinas, Quimiocinas, Linfócitos

CEDRAZ, Leandro de Oliveira. Plasma concentrations of cytokines and chemokines in HTLV-1. 83 f. il. Dissertação (Mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2015.

ABSTRACT

INTRODUCTION: The lymphotropic virus of cells T human type 1 (HTLV) is endemic in Bahia and it is associated with serious diseases such as Tropical Spastic Paraparesis/associated myelopathy with HTLV-1 and Infectious Dermatitis associated with HTLV -1 (IDH). Very little work has been reported with the evaluation of cytokines and chemokines in the IDH and there has been no data on the manifestation simultaneous IDH and HAM/TSP in children and youth range. **OBJECTIVE:** To evaluate the plasma concentrations of cytokines and chemokines in HTLV-1 infection in children and young individuals. **METHOD:** We included 61 individuals HTLV-1 spread in groups Asymptomatic Carriers, patients with IDH, patients with IDH/HAM/TSP, patients with HAM/TSP and 20 healthy individuals without HTLV-1, all in children's range. Plasma concentrations were compared using the ELISA method and Cytometric Bead Array (CBA). Statistical analyzes were performed using GraphPad Prism 6.1 using the *Mann Whitney* test to compare the medians and the *Wilcoxon* test for comparison of paired samples, and evaluation of correlations by *Spearman* coefficient. **RESULTS:** The cytokines IL-2 and IL-6 concentrations were higher in all groups of patients with HTLV-1. Healthy individuals showed lower concentrations of IFN- γ to the group of asymptomatic individuals and the group of patients with IDH, in addition to lower concentrations of IL-4 and IL-10 when compared to infected individuals, but only IL-10 was in different concentrations in subjects with the virus. Healthy individuals showed higher concentrations of the chemokine CCL-22. Asymptomatic carriers and patients with IDH had lower IL-1 β levels in comparison with healthy subjects. Asymptomatic carriers had lower IL-17 concentrations that Healthy individuals. Patients with IDH/HAM/TSP had higher concentrations of IL-1 β compared with the group of patients with the IDH and the group of patients with HAM/TSP, and lower concentrations of CCL-27 chemokine. The HAM/TSP group had lower IL-8 concentrations of the IDH and IDH/HAM/TSP groups. The proviral load was lower in asymptomatic patients, followed by the group of patients with IDH, and the group of IDH patients also expressed HAM/TSP, the group of patients with HAM/TSP had lower proviral loads that the IDH group and IDH/HAM/TSP group. As IL-8 and IL-10 exhibit weak correlation with proviral load. In Remission IDH, there were higher concentrations of CCL-27, while TNF- α was higher concentrations at the time the patient showed IDH/HAM/TSP. **CONCLUSIONS:** In the HTLV-1 infection in children and young occurs an immune dysregulation accompanied of an immunomodulatory mechanism. In asymptomatic patients, there seems to be a greater balance between the response pro and anti-inflammatory. The manifestation of IDH and HAM/TSP seems to be related to a greater imbalance between the immune response, and in patients with IDH/HAM/TSP this answer seems to be influenced by mechanisms of co-expression mechanisms.

KEYWORDS: HTLV-I, IDH, HAM/TSP, Cytokines, Chemokines, Lymphocytes

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Prevalência sorológica do HTLV I/II em bancos de sangue nas capitais dos 26 estados brasileiros e Distrito Federal. -----	14
Figura 2: Lesões tumorais e pápulas cutâneas em pacientes com diferentes formas clínicas de ATLL.-----	15
Figura3: Paciente com DIH apresentando lesões eritemato-descamativas e crostosas nas regiões auricular e couro cabeludo, pescoço, região retro-auricular, nas pálpebras, regiões nasais e paranasais -----	17
Figura 4: Imagem esquematizada do genoma do HTLV-I e os mRNAs dos genes virais.-----	18
Figura 5: Representação dos mecanismos de transmissão viral de uma célula infectada a outra não infectada. -----	20
Figura 6: Expansão clonal das células CD4+ infectadas pelo HTLV-I. -----	21
Figura 7: Delineamento do estudo.-----	33
Figura 8: Avaliação das concentrações plasmáticas das citocinas pró-inflamatórias IL-2, TNF- α , IL-6 e IL-8 em indivíduos portadores do HTLV-1 e indivíduos saudáveis. -----	38
Figura 9: Avaliação das concentrações plasmáticas das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-12p70, IFN- γ e IL-17 em indivíduos portadores do HTLV-1 e indivíduos saudáveis. -----	40
Figura 10: Avaliação das concentrações plasmáticas das citocinas anti-inflamatórias IL-4 e IL-10 em indivíduos portadores do HTLV-1 e indivíduos saudáveis. -----	41
Figura 11: Avaliação das concentrações plasmáticas das quimiocinas CCL-22 e CCL-27 em indivíduos portadores do HTLV-1 e indivíduos saudáveis.	42

Figura 12. Comparação da carga proviral entre os grupos de portadores assintomáticos, de pacientes com a DIH, de pacientes com a DIH/HAM/TSP e de pacientes com a HAM/TSP.-----	52
Figura 13: Correlação entre a carga proviral e as citocinas e quimiocinas considerando o grupo de portadores do HTLV-1.-----	53
Figura 14. Concentrações plasmáticas das citocinas e quimiocinas estudadas no momento em que o paciente apresentava a DIH com lesões cutâneas (DIH) e no momento em que não havia mais lesões (REMISSÃO).----	55
Figura 15. Concentrações plasmáticas das citocinas e quimiocinas estudadas no momento em que o paciente manifestava DIH e no momento posterior, quando desenvolveu simultaneamente a HAM/TSP.-----	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Critérios para o diagnóstico da HAM/TSP, segundo CASTRO-COSTA et al., 2006.-----	16
Tabela 2: Estudos de perfil de citocinas e quimiocinas realizados com indivíduos infectados pelo HTLV-1.-----	25
Tabela 3: Características dos grupos incluídos nas avaliações.-----	37
Tabela 4: Valores de mediana da concentração plasmática das citocinas estudadas em indivíduos saudáveis não infectados, portadores assintomáticos, pacientes com DIH, pacientes com DIH e HAM/TSP e pacientes apenas com a HAM/TSP.-----	43
Tabela 5: Matriz de correlação das citocinas e quimiocinas no grupo de indivíduos saudáveis não infectados.-----	45
Tabela 6: Matriz de correlação das citocinas e quimiocinas no grupo de portadores assintomáticos.-----	46
Tabela 7: Matriz de correlação das citocinas e quimiocinas no grupo de pacientes com a DIH.-----	47
Tabela 8: Matriz de correlação das citocinas e quimiocinas no grupo de pacientes com a DIH e a HAM/TSP.-----	48
Tabela 9: Matriz de correlação das citocinas e quimiocinas no grupo de pacientes com a HAM/TSP.-----	49
Tabela 10: Correlações moderadas e fortes entre citocinas e quimiocinas nos grupos avaliados.-----	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATLL	<i>(Adult T-cell leukemia/lymphoma)</i>
BcL-2	<i>(B-cell Lymphoma 2)</i>
CBA	<i>(Cytometric Bead Array)</i>
CONEP	Conselho nacional de Ética em Pesquisa
CPqGM	Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz
CREB	<i>(cAMP response element binding protein).</i>
CTL	<i>(Cytotoxic T Lymphocytes)</i>
DIH	Dermatite Infecciosa Associada ao HTLV-1
EBV	Epstein-Barr Virus
EDTA	<i>Ethylene/Diamine Tetraacetic Acid</i>
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
<i>Env</i>	Gene que codifica a proteína ENV do envelope viral
FoxP3	<i>Forkhead box P3</i>
GLUT-1	Receptor de glicose 1
HAM/TSP	<i>(HTLV-I-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis)</i>
<i>HBZ</i>	<i>(HTLV-1 basic leucine zipper factor)</i>
HSPGs	Sulfato de Heparina Proteoglicana
HTLV-I	<i>(Human T-lymphotropic virus type 1)</i>
CO-HUPES	Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos
ICAM-1	Molécula de Adesão intercelular-1
IFN- γ	<i>Interferon Gama</i>
IgE	Imunoglobulina E
IgG1	Imunoglobulina G 1
IgG4	Imunoglobulina G4

KDa	<i>KiloDalton</i>
LAPEX	Laboratório de Patologia Experimental
LFA-1	Antígeno 1 Associado à Função Leucocitária
LTR	<i>(Long Terminal Repeats)</i>
MHC	<i>(Major Histocompatibility Complex)</i>
miRNA	Micro RNAs
NF-kB	<i>Factor Nuclear Kappa B</i>
NK	<i>Natural Killer</i>
NRP-1	Neurofilina-1
PBMC	<i>(Peripheral blood mononuclear cells)</i>
<i>Pol</i>	Gene para a transcriptase reversa
pX	Região do genoma viral que codifica proteínas reguladoras
<i>Rex</i>	Gene que codifica a proteína REX, responsável pela regulação pós-transcricional do genoma do HTLV-1
SOCS	<i>(Suppressors of Cytokines Signaling)</i>
STAT-1	<i>(Signal Transducers and Activators of Transcription)</i>
<i>Tax</i>	Gene que codifica a proteína Tax, responsável por regular a transcrição viral
T-Bet	<i>(Factor for T-Helper 1)</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TNF- α	<i>(Tumor Necrosis Factor)</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	DOENÇAS ASSOCIADAS	14
1.1.1	ATLL	15
1.1.2	HAM/TSP	15
1.1.3	DIH	16
1.2	CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO VÍRUS	18
1.3	DEFESA DO HOSPEDEIRO CONTRA A INFECÇÃO VIRAL	21
1.4	SINALIZAÇÃO VIA CITOCINAS E QUIMIOCINAS	22
1.4.1	Citocinas pró-inflamatórias	26
1.4.2	Citocinas anti-inflamatórias	28
1.4.3	Quimiocinas	28
1.4.4	Perfil de citocinas na DIH	29
2	HIPÓTESE DE ESTUDO	30
3	JUSTIFICATIVA	30
4	OBJETIVOS	31
4.1	OBJETIVO GERAL	31
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
5	MATERIAL E MÉTODOS	32
5.1	DESENHO DE ESTUDO	32
5.2	POPULAÇÃO ESTUDADA	33
5.3	COLETA E MENSURAÇÃO DE CITOCINAS NO PLASMA	33
5.4	TESTE <i>ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY</i> – ELISA	34
5.5	ANÁLISE CBA	34
5.6	QUANTIFICAÇÃO DA CARGA PROVIRAL	35
5.7	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	35
5.8	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	36
6	RESULTADOS	37
6.1	GRUPOS ESTUDADOS	37
6.2	AVALIAÇÃO DE CITOCINAS PLASMÁTICAS EM PACIENTES COM DIH, COM DIH E HAM/TSP, COM A HAM/TSP, EM PORTADORES ASSINTOMÁTICOS E INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS NÃO INFECTADOS PELO HTLV-1.	37
6.2.1	Citocinas pró-inflamatórias	37

6.2.2 Citocinas anti-inflamatórias-----	40
6.3 AVALIAÇÃO DE QUIMIOCINAS -----	41
6.4 CORRELAÇÃO ENTRE CITOCINAS E QUIMIOCINAS-----	44
6.5 CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DAS CITOCINAS PLASMÁTICAS E A CARGA PROVIRAL-----	51
6.6 CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE CITOCINAS E QUIMIOCINAS NA REMISSÃO DA DIH -----	54
6.7 CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE CITOCINAS E QUIMIOCINAS NA MANIFESTAÇÃO DA HAM/TSP EM PACIENTES COM DIH-----	54
7 DISCUSSÃO -----	57
7.1 PADRÃO DE CITOCINAS E QUIMIOCINAS NOS GRUPOS DE PORTADORES DO HTLV-1 E EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS DA MESMA FAIXA ETÁRIA-----	57
7.2 CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE CITOCINAS E QUIMIOCINAS NA REMISSÃO DA DIH E NA MANIFESTAÇÃO DA DIH/HAM/TSP -----	63
7.3 DIFICULDADES ENCONTRADAS E PERSPECTIVAS FUTURAS-----	64
8 CONCLUSÕES -----	65
REFERÊNCIAS -----	66

1 INTRODUÇÃO

O vírus linfotrópico para células T humanas tipo 1 (HTLV-1) pertence a família Retroviridae e ao gênero Deltaretrovirus. Este vírus pode infectar diversos tipos celulares, contudo há um tropismo especial pelas células T CD4⁺ (POIESZ et al., 1980). Foi o primeiro oncorretrovírus a ser descoberto (POIESZ et al., 1980) sendo endêmico em certas regiões, destacando-se o sudoeste do Japão, as ilhas do Caribe e a América do Sul (CATALAN-SOARES et al., 2001).

Há estimativas que existam entre 10 e 20 milhões de pessoas infectadas em todo o mundo (PROIETTI, 2005). Estudos epidemiológicos mais detalhados publicaram recentemente novos dados incluindo regiões endêmicas para o HTLV-1 e estimaram que existam entre 5 e 10 milhões de pessoas portadoras do vírus. Contudo esses resultados foram baseados em um total de 1,5 bilhões de indivíduos provenientes de áreas endêmicas, o que pode indicar que este número possa realmente ser ainda maior (GESSAIN e CASSAR, 2012).

No Brasil, destaca-se o estado da Bahia, o qual conta com uma prevalência de 1,8% na cidade de Salvador (DOURADO et al., 2003). Em estudo feito com amostras de bancos de sangue foi observada uma distribuição heterogênea da prevalência do HTLV-1/2 entre os estados brasileiros, apresentando os estados do Maranhão e da Bahia as maiores prevalências, sendo de 10,0/1000 e 9,4/1000, respectivamente (Figura 1). Estes resultados podem ser explicados pelo perfil étnico da população nestes estados, possuindo grandes proporções de pessoas afrodescendentes, além de estar relacionado também ao padrão socioeconômico da população (CATALAN-SOARES et al., 2005).

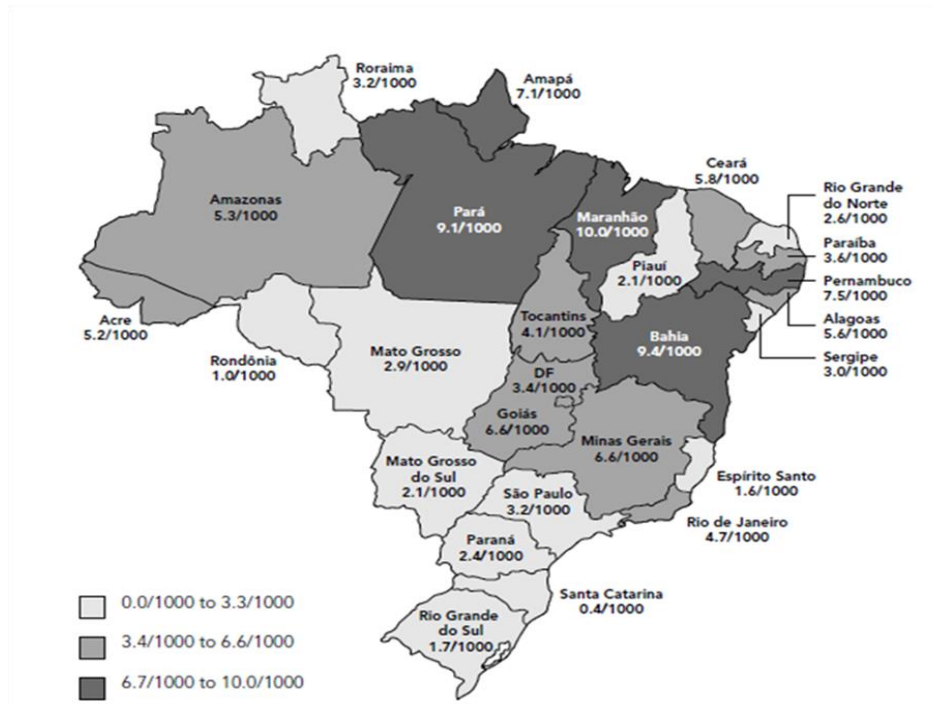


Figura 1: Prevalência sorológica do HTLV I/II em bancos de sangue nas capitais dos 26 estados brasileiros e Distrito Federal. Catalan-Soares et al., 2005.

A transmissão do HTLV-1 ocorre principalmente por via vertical (da mãe para o filho, pela amamentação), mas há registros de transmissão por contato sexual, principalmente de homens para mulheres, por transfusão de sangue e através do uso compartilhado de agulhas contaminadas entre os usuários de drogas injetáveis (ZIMMERMANN et al. 2014; DE LA FUENTE et al. 2006). Há também a transmissão horizontal através da amamentação em amas-de-leite ou de amamentação cruzada. (BITTENCOURT, 1998).

1.1. DOENÇAS ASSOCIADAS

O HTLV-1 está associado a algumas patologias graves como a Leucemia/Linfoma de Células T do adulto (ATLL), a Mielopatia associada ao HTLV-1/Paraparesia Espástica Tropical (HAM/TSP) e a Dermatite Infecciosa associada ao HTLV-1 (DIH) (POMBO et al., 1999; BITTENCOURT et al., 2007; GOMES et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2005). A transmissão sexual e por transfusão sanguínea parece estar mais relacionadas com a HAM/TSP, enquanto a ATLL parece estar mais relacionada com a infecção na fase infanto-juvenil, mostrando que talvez seja necessário um tempo maior de exposição para o desenvolvimento desta patologia (BARTHOLOMEW, 1998). No entanto, na Bahia, tem sido observados casos de HAM/TSP na faixa infanto-juvenil, mostrando que a mielopatia pode ocorrer em crianças infectadas verticalmente (PRIMO et al., 2005).

1.1.1. ATLL

A ATLL é uma forma grave de neoplasia de células T (principalmente CD4+), sem tratamento eficaz e geralmente fatal nas formas mais graves da doença. Ocorre geralmente na fase adulta na quinta década da vida (BITTENCOURT, 2007). A ATLL é também caracterizada por uma expansão clonal persistente de células CD4+ infectadas (CAVROIS et al 1996; ETOH et al., 1997; BITTENCOURT e FARRE, 2008).

No estado da Bahia, 33% dos linfomas T em geral são decorrentes da infecção pelo HTLV-1 (BARBOSA et al., 1997) e 60% dos casos possui envolvimento cutâneo (BITTENCOURT et al., 2007) (Figura 2). A prevalência da ATLL é de 6,6% em homens e 2,1% em mulheres portadoras do vírus (ARISAWA et al., 2000). Há uma grande diversidade de manifestações clínicas, o que levou à sua subdivisão nas diferentes formas: aguda, crônica, linfomatosa, *smoldering* e a tumoral primária de pele (SHIMOYAMA et al., 1991; BITTENCOURT et al., 2007).



Figura 2: Lesões tumorais e pápulas cutâneas em pacientes com diferentes formas clínicas de ATLL.

1.1.2. HAM/TSP

A HAM/TSP é uma mielopatia grave com paraparesia espástica progressiva, associada a distúrbios vesicais que se manifestam em 2 a 5% dos portadores de HTLV-1 (OSAME *et al.*, 1990; SAITO et al., 1991). É uma doença inflamatória crônica na qual ocorrem lesões no sistema nervoso central, mais frequente no gênero feminino, sendo 46 anos a média de idade de início da doença (MORENO-CARVALHO et al., 1992; NAKAGAWA, 1995). Observa-se, também, no infiltrado perivascular inflamatório do cérebro e do cordão espinhal uma maior predominância de células CD4+ específicas para o HTLV-1, contudo células T CD4+ específicas para HTLV-1 são encontradas em grande proporção em pacientes com lesões iniciais do sistema nervoso central (IWASAKI et al., 1992; UMEHARA et al., 1993; GOON

et al., 2003). Algumas características são utilizadas como critérios para o diagnóstico da HAM/TSP (Tabela 1) (CASTRO-COSTA et al., 2006). A HAM/TSP, embora caracterize-se por ser uma doença do adulto, alguns casos da doença tem sido observados na faixa infanto-juvenil (PRIMO et al., 2005). A manifestação infanto-juvenil da HAM/TSP caracteriza-se por ser rapidamente progressiva, diferente do que ocorre no adulto (PRIMO et al., 2005; ARAUJO et al., 2002).

Tabela 1: Características utilizadas como critérios para o diagnóstico da HAM/TSP, segundo CASTRO-COSTA et al., 2006.

CRITÉRIOS PARA DIAGNÓSTICO DA HAM/TSP

1. Paraparesia crônica que progride lentamente
2. Fraqueza proximal nos membros inferiores
3. Sinas piramidais nos membros inferiores
4. Anticorpos para HTLV-1 no soro e no líquido cefalorraquidiano
5. Início insidioso
6. Distúrbios da bexiga
7. Lombalgia
8. Outros sintomas relacionados

1.1.3. DIH

A DIH é uma forma grave e recidivante de eczema incidente em crianças que adquirem a infecção por via vertical. Embora o vírus tenha sido descoberto em 1980 (POIESZ et al., 1980) e a DIH tenha sido descrita inicialmente na Jamaica em 1966 (SWEET et al., 1966), a associação do vírus com esta doença só ocorreu em 1990 (LA GRENADÉ et al., 1990). A DIH caracteriza-se por lesões eritemato-descamativas e crostosas que afetam o couro cabeludo, axilas, pavilhão auricular, regiões retroauriculares, pálpebras, pele paranasal e/ou pescoço (LAGRENADÉ et al., 1998, OLIVEIRA et al., 2005) (Figura 3). Geralmente as lesões são infectadas por *Staphylococcus aureus* e por *Streptococcus beta haemolyticus* (LAGRENADÉ, 1996; OLIVEIRA et al., 2005). Outras características clínicas podem ser observadas, como linfocitose, anemia, linfadenopatia, elevado índice de sedimentação de eritrócitos e hiperimunoglobulinemia (LAGRENADÉ et al., 1990). As seguintes características são utilizadas como principais critérios no diagnóstico da DIH e diferenciação da Dermatite Atópica: (1) Eczema do couro cabeludo, axilas, virilhas, pavilhão auricular, regiões retroauriculares, pálpebras, pele paranasal e/ou pescoço; (2) Rinorréia crônica e/ou lesões crostosas no vestíbulo nasal; (3) Dermatite crônica recidivante com resposta imediata a antibioticoterapia e com recidiva após suspensão do tratamento; (4) Início precoce na infância; e (5) Soropositividade para o HTLV-1, sendo obrigatório o preenchimento dos critérios (1),

(2) e (5) e o envolvimento de pelo menos duas regiões do corpo no critério (1) (LA GRENADE et al., 1998). Em estudo com 42 casos, Oliveira e colaboradores (2012) adaptaram estes critérios e indicaram os principais para o diagnóstico no Brasil: (1) presença de lesões eritemato-descamativas, exsudativas e crostosas no couro cabeludo, regiões retroauriculares pescoço, axilas, virilha, seios paranasais, pele perioral, orelhas, tórax, abdômen e outras regiões; (2) Presença de crostas nasinas; (3) Dermatite crônica recidivante com resposta imediata a adequada terapia, mas com recorrência após a interrupção da mesma; (4) Diagnóstico da infecção pelo HTLV-1 por meio de testes sorológicos biológicos ou moleculares. Para estes critérios, considerou-se necessário o envolvimento de pelo menos 3 áreas do critério (1) incluindo lesões no couro cabeludo e regiões retroauriculares. Além disso a presença de crostas nas narinas, embora seja um critério, não é obrigatório (OLIVEIRA et al 2012).

Na DIH, diferente da Dermatite Atópica ou da Dermatite Seborréica, há um predomínio de células CD8+, perforina negativos e raramente granzime positivos, não sendo portanto linfócitos T citotóxicos ativados (BITTENCOURT et al., 2005). Além disso, indivíduos infectados pelo HTLV-1 com a Dermatite Atópica possuem níveis de anticorpos anti-HTLV-1 menores que pacientes com a DIH (LA GRENADE et al., 1998) Também tem sido descrito que pacientes com a DIH e pacientes com a HAM/TSP possuem maiores níveis de anticorpos anti-HTLV-1 que portadores assintomáticos (PRIMO et al., 2005).



Figura 3: Paciente com DIH apresentando lesões eritemato-descamativas e crostosas nas regiões auricular e couro cabeludo (A), pescoço e região retro-auricular (B), e nas pálpebras e regiões nasais e paranasais (C). Bittencourt e Oliveira, 2005.

Nos portadores do vírus é apontada uma probabilidade de 0,4% de desenvolver a DIH até os quatro anos de idade (MALONEY et al., 2000). Geralmente, inicia-se após os 18 meses de vida e raramente persiste até a vida adulta (GONÇALVES *et al.*, 2000). É uma doença predominante em crianças de sexo feminino, ocorrendo até a idade de 2 anos, com raros casos em adultos (BITTENCOURT et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2005; GONÇALVES et al., 2000). Os primeiros casos desta doença foram relatados na Jamaica, contudo, a Bahia conta

com a segunda maior casuística da literatura, depois da Jamaica, tendo vários casos sendo relatados. Já foram mencionados na literatura alguns casos de DIH que manifestaram HAM/TSP ainda na adolescência ou que evoluíram para ATL (PRIMO et al., 2005; HANCHARD et al., 1991; FARRÉ et al., 2008), evidenciando uma possível associação entre estas doenças. Em nosso grupo de estudo observamos que 30% dos casos de DIH diagnosticados na Bahia evoluíram para a forma infanto-juvenil da HAM/TSP (PRIMO et al., 2005; BITTENCOURT et al., 2006). Dados mais recentes já foram publicados mostrando que 47,2% dos casos de DIH apresentaram simultaneamente a HAM/TSP (OLIVEIRA et al., 2012). Também já foi descrito um caso de paciente DIH que desenvolveu precocemente e sequencialmente a HAM/TSP e a ATLL (FARRÉ et al., 2008).

1.2. CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO VÍRUS

O HTLV-1 possui um genoma de 9032 pb, composto pelos genes *gag*, *pol* e *env* flanqueados nas extremidades 3' e 5' por sequências terminais repetidas chamadas LTR (*Long Terminal Repeats*). Entre o gene *env* e a LTR 3', há uma região chamada *pX*, onde encontra-se genes relacionados com a patogenicidade do vírus, como *Tax*, *Rex*, *HBZ*, *p21*, *p12*, *p13* e *p30* (SEIKI et al., 1983) (Figura 4).

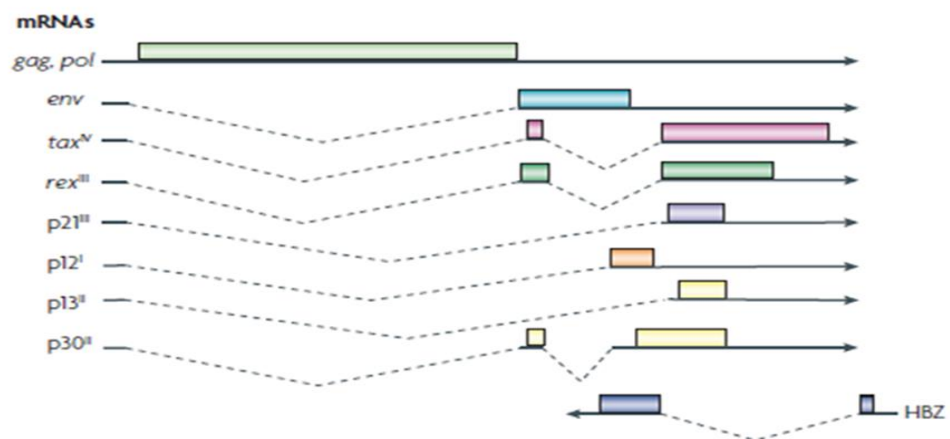


Figura 4: Imagem esquematizada do genoma do HTLV-I e os mRNAs dos genes virais. Adaptado de Matsuoka e Jeang, 2007.

A proteína Tax é um transativador de 40 kDa com ação pleiotrópica no ciclo celular e com grande capacidade de aumentar a transcrição dos genes virais controlada através da região 5' LTR por interagir com fatores de transcrição como a proteína de ligação ao elemento de resposta do AMPc (CREB - *cAMP response element binding protein*), além de outros fatores como NF- κ B, que pode aumentar a produção de outras citocinas, estimulando a proliferação viral e inibindo a apoptose de células infectadas (JEANG et al., 2004; YOSHIDA, 2001). Já foi relatado que a proteína Tax também pode ter um papel inverso na

patogenicidade viral, sendo o principal antígeno reconhecido pelas células T CD8+, facilitando uma resposta imune efetiva contra o HTLV-1 (KANNAGI *et al.*, 1991).

O gene HBZ (*HTLV-1* basic leucine zipper factor) codifica uma proteína capaz de inibir a transativação da proteína Tax por competir com o complexo CREB. Já o seu RNA é capaz de estimular o crescimento e a proliferação de células T (SATOUE *et al.*, 2006). A proteína HBZ tem sido apontada como uma proteína imunogênica reconhecida por CTL específicas (MACNAMARA *et al.*, 2010), mas não como o principal alvo das células CTL devido à sua baixa expressão nas células infectadas (SUEMORI *et al.*, 2009).

A entrada do vírus na célula depende da interação entre a glicoproteína do envelope viral (*Env*) e os receptores das células alvo, como, por exemplo, sulfato de heparina proteoglicana (HSPGs) e Neuropilina-1 (NRP-1), para a fase de adesão viral, e do Receptor de Glicose-1 (GLUT1) para a entrada do vírus (MANEL *et al.*, 2003, JONES *et al.*, 2005, LAMBERT *et al.*, 2009).

A forma clássica de disseminação dos vírus consiste na liberação de partículas virais por células infectadas no meio, que por sua vez irão infectar novas células. Na infecção pelo HTLV, contudo, são encontradas poucas partículas virais no plasma, o que pode estar relacionado com a disseminação preferencial do vírus pelo processo de divisão mitótica das células infectadas (DONEGAN *et al.*, 1994; MAZUROV *et al.*, 2010) ou através da transferência de partículas víricas ou material viral de uma célula infectada para uma célula não infectada. Um dos processos melhor estudados para este último fenômeno é a formação da sinapse virológica, onde apenas o material do vírus (proteínas e RNAs virais) são transferidos de uma célula infectada para células não infectadas (IGAKURA *et al.*, 2003).

A formação da sinapse virológica ocorre pelo contato entre a célula infectada com a célula não infectada, sendo também dependente da interação entre a proteína ENV e os receptores da célula alvo. Além disso, é descrito também que a transmissão dos componentes virais pode ocorrer através do contato celular com a formação de estruturas similares a biofilmes, na qual o vírus estimula a célula infectada a aumentar a expressão de proteínas como colágeno, fibronectina, galectina-1 e galectina-3, que por sua vez podem ter sua composição de carboidrato modificada para construção de agregados extracelulares (Figura 5). Essa matriz extra-celular rica em carboidratos pode garantir coesão, proteção e adesão aos aglomerados virais. A hiperglicosilação das glicoproteínas do envelope pode auxiliar o vírus a escapar do reconhecimento imune, melhorando a eficiência na infecção. Assim, após o contato com outra célula, ocorre a degeneração dessa matriz extra celular e liberação dos vírus

e imediata adesão à célula não infectada (PAIS-CORREIA et al., 2010; THOULOZE e ALCOVER, 2011).

Uma terceira forma de transmissão célula a célula ocorre através de condutos celulares, no qual se formam projeções celulares por onde são conduzidas as partículas virais para as células não infectadas, além disso, a formação desses condutos é facilitada pela ação da proteína viral p8, resultando numa maior disseminação (PROOYEN et al., 2010).

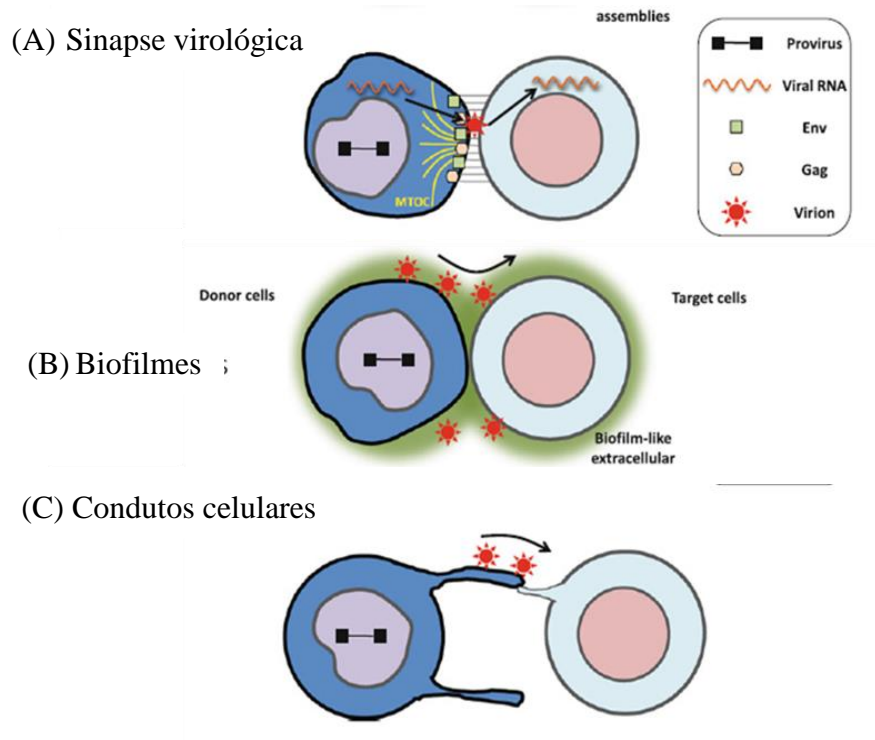


Figura 5: Representação dos mecanismos de transmissão viral de uma célula infectada a outra não infectada. No esquema representa-se a transmissão pela formação de sinapses virológicas (A), pela formação de biofilmes (B) e através de condutores (C). Adaptado de Yasunaga e Matsuoka, 2011.

Após a entrada do vírus na célula, ocorre uma transcrição reversa do RNA formando o DNA, o qual é integrado no genoma humano de forma aleatória, sendo agora denominado provírus. A inserção do genoma viral no DNA das células hospedeiras em diferentes sítios origina diversos clones de células infectadas com o DNA proviral inserido nas várias regiões genômicas, caracterizando um padrão de integração policlonal (BANGHAM et al., 2003; BITTENCOURT; FARRE, 2008). Um desses clones pode ter a sua maquinaria de proliferação ou controle de morte celular alterada, replicando-se exacerbadamente, passando então a ter uma população majoritária em relação aos outros clones celulares. Este último padrão é conhecido como monoclonal, pois um clone predomina em relação aos demais (SEIKI et al., 1983) (Figura 6).

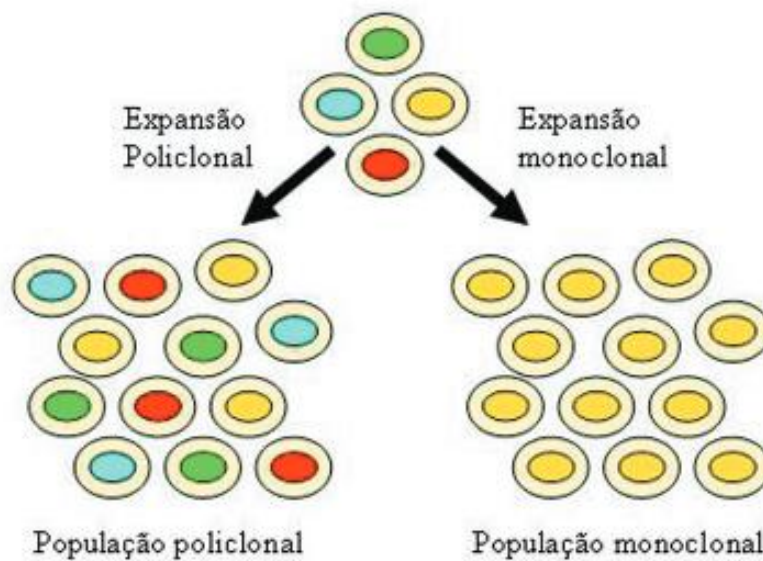


Figura 6: Expansão clonal das células CD4+ infectadas pelo HTLV-I. Ilustração mostrando a expansão policlonal e a expansão monoclonal. Bittencourt e Farre, 2008.

1.3. DEFESA DO HOSPEDEIRO CONTRA A INFECÇÃO VIRAL

A defesa inicial contra a infecção pelo HTLV-1 é realizada pela imunidade inata mediada principalmente pela produção de Interferon tipo 1, que realizará a inibição da replicação viral, e pelas células NK, que causam a destruição das células infectadas. A presença persistente do vírus no organismo induz o desenvolvimento da resposta imune adaptativa, caracterizada pela produção de anticorpos que neutralizam os antígenos virais, impedindo a entrada do vírus na célula alvo e a disseminação do vírus de célula a célula (SAITO et al., 2012). Alguns vírus que residem dentro das células, como é o caso do HTLV-1, são controlados pela ação das CTL (Linfócitos T Citotóxicos), como as células CD8+. As CTLs podem estimular a síntese de citocinas e a ativação de fagócitos para o controle e eliminação das células infectadas. Células dendríticas (CD) possuem a capacidade de fagocitar células infectadas, processar os antígenos virais e apresentar fragmentos desses antígenos às células CD8+, que por sua vez reconhece e elimina as células infectadas (JACOBSON et al., 1990; ROWAN et al., 2012; OHASHI et al., 2014; LIM et al., 2014). Também tem sido relatado que o equilíbrio entre a presença do vírus e a resposta imunológica do hospedeiro podem ser fatores que auxiliem na manutenção do quadro clínico assintomático, de forma que desequilíbrios na resposta podem resultar na proliferação descontrolada de clones de células infectadas (SAITO et al., 2012). Essa resposta imunológica

pode ser mediada pela ação de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, além da ação de quimiocinas (FUZI et al., 2014). Tem sido descrito que na infecção pelo HTLV-1 há um desequilíbrio do sistema imunológico resultando na linfoproliferação espontânea e produção de citocinas pelas células T em pacientes com a HAM/TSP na faixa etária adulta (SANTOS et al., 2004) e em doadores infectados pelo HTLV-1 (CARVALHO et al., 2001). Foi reportado que o quadro inflamatório cutâneo na DIH pode ser explicado pela ação de citocinas pró-inflamatórias que amplificariam e manteriam a inflamação, podendo explicar a natureza recidivante da doença (TSCHACHLER et al., 1998).

1.4. SINALIZAÇÃO VIA CITOCINAS E QUIMIOCINAS

As infecções e lesões teciduais são combatidas pelo sistema imune inato através da indução da inflamação aguda, causando o acúmulo de leucócitos e proteínas plasmáticas no local da infecção. O processo de inflamação também envolve o sistema imune adaptativo, uma vez que durante esta resposta imune inflamatória, os linfócitos produzem moléculas chamadas citocinas, as quais são mediadoras de natureza protéica com função de sinalização celular e indutores da inflamação. Cada citocina é produzida por determinados tipos celulares, chamadas de células fonte. As células efectoras da linhagem CD4⁺ possuem a grande capacidade em se diferenciar, expressando moléculas de superfície e citocinas, as quais possuem diversos papéis, incluindo a ativação de linfócitos B, macrófagos e células dendríticas (MOSMANN et al., 1986 (2005); ABBAS e MURPHY, 1996; ZHANG et al., 2014).

As citocinas podem agir de forma estimulatória, moduladora ou inibitória e ter suas funções realizadas de forma autócrina, parácrina ou endócrina. Para a sua correta função biológica é necessária a produção do seu receptor específico, e o efeito de cada uma se dá após a ligação ao receptor expresso na superfície da célula alvo. De acordo com o estímulo recebido, os linfócitos não diferenciados Th0, podem se diferenciar em Th1, Th2 ou Th17. Esses padrões fenotípicos diferenciam-se em resposta à sinalização das citocinas produzidas no início da resposta imune e essa diferenciação envolve ativação transicional e epigenética, participando na defesa do hospedeiro contra diferentes agentes infecciosos (RENGARAJAN et al., 2000).

Os linfócitos Th1 possuem um padrão de produção das citocinas IL-2, IFN- γ , IL-12, IL-16 e IL-18, todas aumentando a resposta inflamatória. Contudo as citocinas que caracterizam mais fortemente esse fenótipo é a citocina IFN- γ . Estas células diferenciam-se na presença das citocinas IL-12 e IFN- γ . A IL-2 é sintetizada principalmente por macrófagos e

células dendríticas infectadas por patógenos, enquanto o IFN- γ é sintetizado pelas células NK. A resposta imune do tipo Th1 é utilizada na defesa do hospedeiro contra patógenos intracelulares (RENGARAJAN et al., 2000).

Os linfócitos Th2 possuem um padrão de expressão das citocinas IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13. Essas células diferenciam-se em resposta à citocina IL-4 que é produzida pelas células Th2 e em pequenas quantidades por mastócitos e eosinófilos, e possuem como característica peculiar a produção das citocinas IL-4, IL-5 e IL-13. Estas últimas citocinas são responsáveis pela produção de IgE, ativação de eosinófilos e secreções mucosas, respectivamente. Esse subtipo de linfócitos está intimamente relacionado com a resposta contra helmintos e contra alérgenos (RENGARAJAN et al., 2000).

Os linfócitos T CD4⁺ que expressam altas concentrações dos fatores de transcrição T-bet e STAT4, se diferenciam em células Th1, enquanto os linfócitos T CD4⁺ que expressam altos níveis de STAT6 e GATA6, diferenciam-se em células Th2 (ZHANG et al., 2014).

O padrão característico de resposta contra os vírus é o Th1, incluindo a defesa contra o HTLV-1, contudo, estudos apontam que a infecção pelo HTLV-1 pode causar um padrão de citocinas Th1 (Hanon et al., 2001, Nishiura et al., 2004), Th2 (MOGENSEN e PALUDAN, 2001) ou de ambas (CARVALHO et al., 2001).

Já foi descrito um mecanismo de inibição da sinalização por citocinas através de uma família de proteínas chamadas SOCS (Supressores da sinalização de Citocinas), o que pode modular o processo inflamatório (YASUKAWA et al., 2000), podendo ser responsável pela expressão de citocinas do perfil Th1 ou Th2.

Um terceiro fenótipo para os linfócitos T CD4⁺ é o Th17, produzidas em resposta à bactérias e fungos, as células T virgens diferenciam-se neste fenótipo em resposta à produção das citocinas IL-6, IL-1, IL-21 e IL-23, e as células Th17 já diferenciadas passam a produzir citocinas características como a IL-17 e a IL-22 (MURPHY et al., 2003; HARRINGTON et al., 2005).

Um estudo feito com pacientes HTLV-1 que desenvolveram bexiga hiperativa e com pacientes HAM/TSP, mostrou que os dois grupos produzem mais citocinas pró-inflamatórias que portadores assintomáticos como TNF- α e IL-17. Além disso, apresentam correlações entre a carga proviral e as concentrações das citocinas pro-inflamatórias nas culturas de PBMC estimuladas. Esses achados podem sinalizar para o desenvolvimento da HAM/TSP nos pacientes com bexiga hiperativa associada ao vírus (SANTOS et al., 2012).

Um grande grupo de citocinas de baixo peso molecular, homólogas em sua estrutura, chamadas de quimiocinas, também está envolvido no processo inflamatório e são capazes de

controlar a adesão, a quimiotaxia e a ativação leucocitária. São proteínas que possuem estrutura terciária, com terminal amina com longa alça e três folhas β e uma hélice C-terminal. As quimiocinas podem ser classificadas em quatro famílias (família C, família CC, família CxC e família C_x3C) de acordo com o número e espaçamento dos aminoácidos existentes nos dois primeiros resíduos de cisteína da extremidade N-terminal (MURDOCH e FINN, 2000; ALLEN et al., 2007).

Muitas citocinas já foram descritas e já se conhecem as suas funções biológicas, sendo também classificadas de acordo com o seu papel na inflamação. Muitos estudos têm sido realizados para avaliar o papel das citocinas e quimiocinas na infecção pelo HTLV-1, porém na sua maioria, eles incluem portadores adultos e pacientes com HAM/TSP ou ATLL (Tabela 2).

Tabela 2: Estudos do perfil de citocinas e quimiocinas em indivíduos infectados pelo HTLV-1.

AUTOR	CITOCINAS	GRUPO ESTUDADO	METODOLOGIA
<i>KURODA et al., 1993;</i>	IL-1 β IFN- γ	<ul style="list-style-type: none"> HAM/TSP adultos 	<ul style="list-style-type: none"> Avaliação do líquido cefalorraquidiano e do soro;
<i>LARSON, 2012</i>	IL-2	<ul style="list-style-type: none"> ATLL 	<ul style="list-style-type: none"> Análise de biopsia
<i>STARLING et al., 2012</i>	TNF- α , IL-2 IL-4, IL-6 IL-10, IFN- γ	<ul style="list-style-type: none"> HAM/TSP adultos 	<ul style="list-style-type: none"> Avaliação plasmática
<i>MORI et al., 1995;</i> <i>ZHANG et al., 2000</i>	IL-8	<ul style="list-style-type: none"> ATLL 	<ul style="list-style-type: none"> Linhagens celulares
<i>NASCIMENTO et al., 2009;</i>	IL-5, IL-4, IL-10 IFN- γ , TNF- α	<ul style="list-style-type: none"> DIH 	<ul style="list-style-type: none"> Cultivo das PBMC
<i>MUNIZ et al., 2006</i>	IL-5, IL-10 IFN- γ , TNF- α	<ul style="list-style-type: none"> HAM/TSP adultos 	<ul style="list-style-type: none"> Cultivo das PBMC
<i>AHUJA et al., 2007</i>	IL-12 IFN- γ TNF- α	<ul style="list-style-type: none"> HAM/TSP adultos 	<ul style="list-style-type: none"> Cultura de células estimuladas
<i>AZIMI et al., 2000;</i> <i>RAUCH et al., 2014</i>	IL-15	<ul style="list-style-type: none"> HAM/TSP adultos ATLL 	<ul style="list-style-type: none"> Cultivo das PBMC Biopsia de rato
<i>YAMANO et al., 2009</i>	IL-4 IL-10 IL-17	<ul style="list-style-type: none"> HAM/TSP adultos ATLL 	<ul style="list-style-type: none"> Cultivo das PBMC
<i>BRITOMELO et al., 2007;</i>	TNF- α , IL-12 IFN- γ , IL-4 IL-10	<ul style="list-style-type: none"> HAM/TSP adultos ATLL 	<ul style="list-style-type: none"> Cultura de células estimuladas
<i>SARKIS et al., 2013</i>	IL-17	<ul style="list-style-type: none"> HAM/TSP adultos 	<ul style="list-style-type: none"> Cultivo celular

1.4.1 Citocinas pró-inflamatórias

A IL-1 β é uma citocina pró-inflamatória que possui como células fonte os monócitos, macrófagos, bem como outros tipos celulares, tendo sua função biológica relacionada com o estímulo à secreção de IL-2 e produção do receptor IL-2R pelas células CD4+, proliferação e ativação dos linfócitos B, neutrófilos, monócitos/macrófagos, aumentando a atividade quimiotática e a fagocitose (DINARELLO, 1996; CHENTOUF et al., 2014; MAEDLER et al., 2006). Outra função indicada é a capacidade de aumentar a expressão de moléculas de adesão pelas células endoteliais, inibindo a proliferação das mesmas. Esta citocina tem sido encontrada no líquido de pacientes HAM/TSP, mas não no plasma do sangue periférico, o que pode estar relacionado com a expressão de moléculas de adesão no endotélio, facilitando a transmigração de linfócitos sobre a barreira hematoencefálica e a destruição de astrócitos (KURODA et al., 1993; FERRARI et al., 2004).

A citocina IL-2 é um fator de crescimento, sobrevivência e diferenciação dos Linfócitos T. Atua na expansão clonal de linfócitos ativados por antígenos. Trata-se de uma glicoproteína que controla as respostas e funções das células T, aumentando também a secreção das citocinas IFN- γ e IL-4 por estas células. Alguns estudos sobre o receptor desta citocina (o IL-2R) mostraram que o mesmo pode ser alvo de terapias para o tratamento de esclerite em pacientes com a ATLL (LARSON, 2012). Além disso, a presença desse receptor solúvel no plasma pode ser um biomarcador que auxilia na identificação da HAM/TSP (TOLEDO-CORNELL et al., 2014).

A citocina TNF (Fator de Necrose Tumoral) tem como principal célula fonte os macrófagos. Sua principal função é a citólise em células neoplásicas, possuindo importante papel antitumoral. Possui também a função na estimulação da adesão leucocitária no endotélio (MACKAY et al., 1993), por estimular a produção da molécula de adesão E-selectina. Num estudo envolvendo pacientes com HAM/TSP adultos, estabeleceu-se uma relação de maior expressão plasmática do TNF- α nestes, quando comparado com portadores assintomáticos (STARLING et al., 2012).

A citocina IL-6 possui como principais células fonte as células B, as células T e os monócitos. A IL-6 é um importante mediador da fase aguda da inflamação (STARLING et al., 2013), possuindo também papel na atração de eosinófilos para o local da inflamação. Trata-se de uma citocina pleiotrópica na resposta imune antígeno-específicas e nas reações inflamatórias, além de possuir um papel na proliferação de células B. Possui efeitos locais e sistêmicos e estimula a produção de neutrófilos na medula óssea, pois sinaliza as células-

tronco para a formação de células mieloides e linfoides multipotentes. Tem sido mostrado que, comparado com portadores assintomáticos, a IL-6 apresentou-se em alta concentração no plasma de indivíduos com HAM/TSP (STARLING et al., 2012).

A citocina IL-8, conhecida atualmente como quimiocina CxCL8, é produzida principalmente por monócitos e macrófagos. Atua na migração de neutrófilos para os tecidos (quimiocinese). Esta citocina é um grande estímulo migratório para células do sistema imune, além de estimular a expressão de moléculas de adesão por células endoteliais. É um grande mediador na resposta inflamatória dérmica. Tem capacidade em estimular a divisão dos queratinócitos, o que pode explicar o aparecimento de paraceratose e hiperkeratose vistos na DIH (BITTENCOURT; OLIVEIRA, 2005). A proteína Tax já foi apontada como um transativador para o gene da IL-8, aumentando sua expressão com o auxílio de fatores transcricionais em linhagem de células JUKART (MORI et al., 1995; ZHANG et al., 2000).

A citocina IL-17 é produzida especialmente pelas células Th17 e relaciona as funções das células T na imunidade adaptativa com o sistema imunológico inato. Esta citocina estimula a produção de citocinas, entre elas o TNF- α , e quimiocinas que recrutam neutrófilos para os sítios de ativação, além de estimular também a produção de defensinas que são substâncias antimicrobianas. Esta citocina tem sido relacionada com a patogênese da HAM/TSP por estimular o aumento da expressão da glicoproteína Osteopontina, um agente quimiotático para macrófagos e relacionada com o processo de inflamação, proliferação celular, progressão tumoral e metástase (SARKIS et al., 2013).

A citocina IFN- γ é característica do fenótipo das células Th1 e tem como células fonte as células Th1, as células CD8+ e as células NK. Esta citocina está relacionada com a ativação de macrófagos e estímulo à produção de alguns anticorpos. Também tem sido demonstrado o seu papel na expressão de moléculas MHC de classe I e II. A produção desta citocina pelas células Th1 forma uma alça de amplificação positiva através da ativação do fator de transcrição STAT1, o qual estimula a transcrição do fator T-bet, este último ativa a transcrição do próprio gene IFN- γ . O IFN- γ possui também um grande papel na ativação de macrófagos e na inibição da diferenciação de linfócitos Th2 e Th17 (ZHANG et al., 2014). Na infecção pelo HTLV-1, esta citocina tem sido encontrada em culturas de células sem estimulação estando em maiores concentrações em indivíduos com a DIH e com a HAM/TSP quando comparado com portadores assintomáticos (NASCIMENTO et al., 2009) e também em cultura não estimulada das PBMC de pacientes HAM/TSP (MUNIZ et al., 2006), o que pode apontar para um papel na ativação da inflamação nas duas patologias e consequente inibição da resposta Th2.

A IL-12 é uma citocina pró-inflamatória heterodimérica de 70 kDa composta por duas subunidades de 40 kDa e 35 kDa. Possui como células fonte as células dendríticas, os monócitos e os macrófagos. Está relacionada a diminuição da produção de citocinas Th2, favorecendo a produção das citocinas Th1 em resposta a potógenos intracelulares, incluindo a produção de interferon-gama (IFN-gama) (TRINCHIERI, 2003). Parece estar relacionada também a proteção contra processos alérgicos (TANQ et al., 1998). Estudo com modelo animal tem demonstrado o papel desta citocina em melhorar a resposta das células CD8+ à patógenos intracelulares devido à sua capacidade citolítica (STARBECK-MILLER et al., 2013). Em estudo com cultivo de monócitos derivados de células dêntricas, a proteína viral Tax tem sido apontada como importante na manutenção dos níveis desta citocina (AHUJA et al., 2007).

1.4.2. Citocinas anti-inflamatórias

A citocina IL-4 é produzida por células Th2 e possui a capacidade de estimular a produção de Imunoglobulina E (IgE), um anticorpo responsável pela desgranulação de mastócitos nas reações de hipersensibilidade imediata. Além disso, esta citocina possui um papel na supressão da resposta inflamatória em pacientes com a HAM/TSP (YAMANO et al., 2009).

A citocina IL-10 é produzida pelas células CD8+ ativadas. Seu principal papel é inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias, além de inibir proliferação de células Th1, facilitando a resposta Th2. Têm-se demonstrado que esta citocina é um importante imunomodulador em portadores do HTLV-1. No mesmo estudo, a frequência de células IL-10+ foi associada com a presença de monócitos também secretores de citocinas pró-inflamatórias, exibindo um efeito imunomodulador importante para o controle da infecção (BRITO-MELO et al., 2007; MUNIZ et al., 2006).

Em pacientes com a HAM/TSP, foi reportado uma diminuição na secreção de IL-4 e de IL-10 por células CD4+CD25+CCR4+, reservatório predominante para o vírus, o que pode auxiliar na indução da resposta Th1 (YAMANO et al., 2009).

1.4.3. Quimiocinas

A quimiocina CCL-22 é uma citocina marcadora do padrão de resposta Th2, possui um grande papel no recrutamento de células T e basófilos. Possui também um papel na

manutenção da integridade epitelial e na lesão tecidual. Tem sido demonstrado que a proteína Tax é um transativador da quimiocina CCL-22, o que pode explicar os altos níveis desta citocina em indivíduos infectados pelo HTLV-I. Já foi mostrado que em cultura de linhagens celulares H582, KOB, KK1, SO4 e ST1 derivadas de pacientes ATL, o aumento de CCL-22 pode ser induzido pela proteína viral Tax. Ainda neste estudo, mostrou-se que as células CCR4+, principal reservatório para o vírus, adere preferencialmente às células expressando Tax, favorecendo a transmissão do vírus pelo contato celular (HIESHIMA et al., 2008). Desta forma, as células infectadas produzem a proteína Tax, a qual estimula a produção de CCL-22 e a migração celular, resultando na aderência das células CCR4+ às células infectadas.

A CCL-27 é uma quimiocina conhecida por estar associada à memória das células T relacionada com inflamação da pele. Está relacionada com a migração de células dérmicas, recrutando também linfócitos para o local de inflamação na pele. Estudos mostram que a CCL-27 pode interagir com o CCR-10 e regular as células T que controlam a inflamação da pele (HOMEY et al., 2002).

1.4.4. Perfil de Citocinas na DIH

A infecção pelo HTLV-1 caracteriza-se pela proliferação de células T e pela alteração no padrão de produção de citocinas quando comparado com indivíduos saudáveis (BEZERRA et al., 2011; POPOVIC et al., 1984). Já foi observado um aumento na produção de citocinas, como IFN- γ , TNF- α , IL-5 e IL-10, em cultura de células infectadas pelo HTLV-1, quando comparados doadores infectados e indivíduos saudáveis. Neste mesmo estudo mostrou-se que tanto as citocinas Th1 quanto as Th2 são expressos na infecção pelo HTLV-1, e que altas concentrações de IL-10 nos indivíduos infectados modula a produção de IFN- γ o qual induz predominantemente a produção de IFN- γ , o que pode ser responsável por um padrão Th1 (CARVALHO et al., 2001).

Na DIH já foi observado um aumento na produção de IFN- γ e TNF- α , similares ao encontrado em portadores que desenvolveram HAM/TSP, o que pode ser um possível risco para o desenvolvimento da HAM/TSP nestes pacientes (NASCIMENTO et al., 2009).

2 HIPÓTESE DE ESTUDO

As concentrações de citocinas e quimiocinas no plasma do sangue periférico de indivíduos jovens infectados pelo HTLV-1 é diferente do observado em portadores assintomáticos da mesma faixa etária e pode estar relacionada com a manifestação das doenças.

3 JUSTIFICATIVA

Existem poucos estudos que avaliam o perfil de citocinas séricas na infecção pelo HTLV-1 e estes concentram-se na sua grande maioria em pacientes adultos que desenvolveram HAM/TSP ou a ATLL. Escassos trabalhos avaliam portadores na faixa etária infanto-juvenil incluindo pacientes com DIH. Por outro lado, os pacientes com DIH desenvolvem HAM/TSP ainda na adolescência e em uma percentagem maior do que a esperada nos portadores assintomáticos adultos. Não se conhecem os fatores envolvidos neste fenômeno que poderiam estar relacionados com uma maior desregulação imunológica. A realização deste estudo no nosso meio justifica-se por ser o Brasil o segundo país no mundo onde mais casos desta dermatite foram reportados após a Jamaica (OLIVEIRA et al., 2012; LaGRNADE et al., 1998) e a Bahia, o estado brasileiro com maior número de casos descritos no Brasil. A coorte de pacientes avaliados neste trabalho vem sendo acompanhada há vários anos pelo nosso grupo e vários casos de manifestação simultânea de DIH e HAM/TSP já foram observados, o que possibilita um estudo incluindo esta condição clínica (PRIMO et al., 2005, OLIVEIRA et al., 2012).

Já foi descrito na literatura que a própria infecção pelo HTLV-1 por si só pode ser suficiente para alterar o padrão da citocinas Th1 para Th2 e vice versa, reduzindo a síntese de algumas citocinas e iniciando a expressão de outras (MACCHI et al., 1998), porem poucos estudos foram realizados com pacientes com a DIH. Também já foi demonstrado existir um desequilíbrio nos níveis de citocinas características do padrão Th1 e Th2 em pacientes com dermatite atópica, patologia com clínica muito similar à DIH, porém não relacionada com o HTLV (NARBUTT et al., 2009). Desta forma, a avaliação do perfil de citocinas nos pacientes jovens infectados pelo HTLV-1 pode permitir a identificação de um biomarcador que auxilie a detecção precoce das doenças associadas ao vírus.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL:

Avaliar as concentrações plasmáticas de citocinas e quimiocinas na infecção pelo HTLV-1 em indivíduos infanto-juvenis.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- I. Quantificar a concentração plasmática de citocinas e quimiocinas em pacientes com DIH, pacientes com DIH que manifestam simultaneamente HAM/TSP e compara-las com a observada em portadores assintomáticos e indivíduos saudáveis não portadores do vírus da mesma faixa etária.
- II. Relacionar as concentrações destas citocinas e quimiocinas com a carga proviral nos grupos de portadores do HTLV-1.
- III. Identificar as mudanças nas concentrações de citocinas e quimiocinas no plasma de pacientes de DIH ao entrar em remissão da doença.
- IV. Identificar as mudanças nas concentrações de citocinas e quimiocinas no plasma de pacientes com DIH após o desenvolvimento da HAM/TSP.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 DESENHO DE ESTUDO

Esse estudo foi realizado com uma coorte formada por indivíduos portadores do HTLV-1 que foram acompanhados de 2006 a 2014. Ao determinarmos o quadro clínico dos pacientes, foram formados grupos amostrais para comparação dos níveis séricos. Não realizamos cálculo amostral, pois não há dados previamente publicados sobre as médias das concentrações séricas de citocinas e quimiocinas nessa população. Além disso, há a limitação do número de indivíduos infectados pelo vírus que desenvolvem a DIH devido à baixa prevalência desta doença nos indivíduos infectados, o que torna o tamanho das amostras pequeno, resultando, portanto num estudo com amostras de conveniência.

O nosso estudo teve como objetivo avaliar as citocinas e quimiocinas em pacientes infanto-juvenis infectados pelo HTLV-1, os quais tiveram suas medianas de concentração comparadas com o grupo de portadores assintomáticos, nosso controle negativo para a doença. Também realizamos a inclusão do grupo de indivíduos saudáveis com o propósito de verificar se as diferenças nas concentrações séricas de citocinas e quimiocinas poderiam estar relacionadas com a manifestação da doença ou apenas pela presença do vírus no indivíduo.

Além dessas comparações das concentrações plasmáticas, realizamos análises de correlações entre as citocinas e quimiocinas nos grupos estudados para tentar determinar as interações existentes entre as mesmas.

Para a avaliação de possíveis mudanças no perfil de produção de citocinas e quimiocinas na remissão da DIH, foram incluídos os quatro pacientes que apresentaram remissão da doença no período de seguimento. Este foi um estudo preliminar dado o número pequeno de pacientes incluídos. Para a avaliação de possíveis mudanças no perfil de produção de citocinas e quimiocinas na manifestação de HAM/TSP em pacientes com DIH, foram incluídos seis pacientes, caracterizando-se também por ser um estudo preliminar dado o número pequeno de pacientes incluídos. Para essas avaliações, duas amostras do mesmo paciente nas duas condições clínicas diferentes foram comparadas.

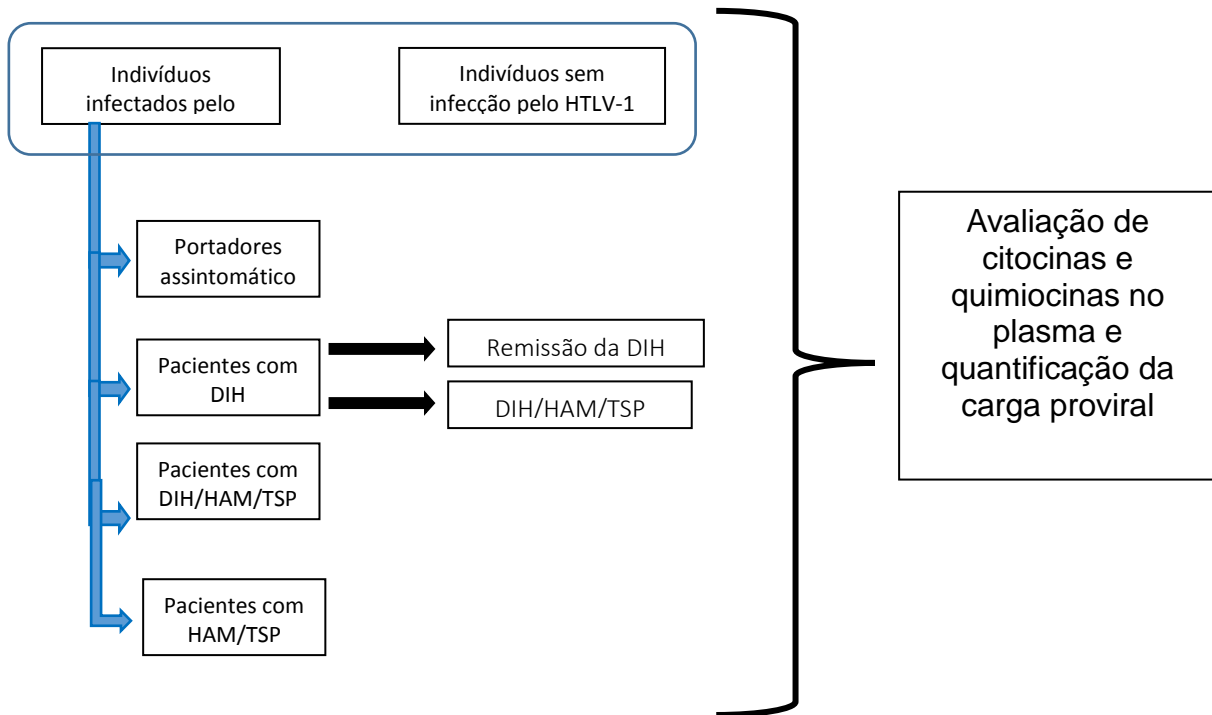


Figura 7: Delineamento do estudo.

5.2 POPULAÇÃO ESTUDADA

Foram incluídos 81 indivíduos (tabela 3), dos quais 61 foram portadores de HTLV-1 e 20 indivíduos saudáveis não portadores. A infecção pelo HTLV-1 foi testada por *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) e confirmada por *Western blot* (WB) ou por Reação em cadeia da polimerase (*Polymerase Chain Reaction* -PCR). Todos os indivíduos incluídos no estudo foram atendidos no Hospital Universitário Professor Edgard Santos (HUPES) sendo avaliados através de exames clínicos, dermatológicos e neurológicos para diagnóstico da DIH, segundo critérios descritos por La Grenade e colaboradores (1998) e adaptado por Oliveira e colaboradores (2012). Para diagnóstico da HAM/TSP foram utilizados os critérios da tabela 1, descritos por Castro-Costa e colaboradores (2006). Realizamos a coleta das amostras de sangue periférico para extração de DNA e análises das citocinas e quimiocinas presentes no plasma. Excluimos do nosso estudo os indivíduos infectados pelo HIV ou com quadros de outras infecções clínicas ativas ou recentes, uma vez que essas situações podem também promover a produção de citocinas e quimiocinas e ser um fator de confundimento.

5.3 COLETA E MENSURAÇÃO DE CITOCINAS NO PLASMA

Os pacientes foram atendidos para avaliação clínica e coleta de sangue periférico, sendo atribuídos códigos às amostras que foram encaminhadas para a Fundação Oswaldo Cruz / Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz-CPqGM, laboratório de Patologia Experimental – LAPEX, onde foram processadas.

As amostras de sangue periférico foram coletadas em tubos de 4 mL contendo anticoagulante heparina. Para separação do plasma, foram submetidas à centrifugação com rotação de 1.000 rpm durante 10 minutos em centrífuga convencional. Após a centrifugação, coletou-se o plasma em alíquotas em tubos *ependorfs* e foram armazenadas a - 20°C para posteriores análises. Antes das análises, o plasma utilizado foi centrifugado para eliminação de “*debris*” e limpeza do mesmo.

5.4 TESTE *ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY*– ELISA

Foi feito o teste de ELISA para a análise das quimiocinas CCL-22 e CCL-27. O teste foi realizado com o kit *Quantikine Immunoassay* da empresa *ReD Systems*®, e a leitura da placa foi feita em fotômetro da marca *ThermoPlate*, modelo TP-Reader. A curva padrão foi construída através de uma diluição seriada, seguindo as recomendações do fabricante. Os valores de absorbância foram convertidos para valores de concentração, baseando-se na curva padrão construída, utilizando o software *GraphPad Prism 6.1*.

5.5 ANÁLISE POR CITOMETRIA

Para a análise das citocinas foi usado o BD™ *Cytometric Bead Array (CBA) System*, *Becton Dickinson (BD)*, obtidos da empresa *BD Biosciences*®. Utilizamos o kit *CBA Human Th1/Th2/Th17 Cytokines* (para avaliar as citocinas IL-2, IL-4, IFN- γ , e IL17A) além do kit *CBA Human Inflammatory Cytokines* (para avaliar as citocinas IL-8, IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF e IL-12p70).

Para a confecção das curvas padrão, as esferas de captura, conjugadas com anticorpos para cada citocina, foram diluídas em 2 mL de *Assay diluent* em tubo de polipropileno de 15 mL, com subsequente incubação por 15 minutos, à temperatura ambiente (TA) e ao abrigo da luz e desta forma obtendo-se o padrão de concentração superior. Prosseguimos com diluição seriada em tubos *ependorfs* nas seguintes proporções: 1:2; 1:4; 1:8; 1:16; 1:32; 1:64; 1:128 e 1:256, além do diluente apenas (controle negativo). A diluição seriada foi feita inicialmente transferindo-se 300 μ L do padrão de concentração superior para o tubo 1:2 contendo 300 μ L do diluente, homogeneizando bastante. Continuamos as diluições transferindo 300 μ L do tubo 1:2 para o tubo 1:4 e assim sucessivamente, sempre homogeneizando bastante.

Para preparar o mix das *beads* de captura, adicionamos 5 μ L de cada bead de captura para cada amostra a ser analisada, ressuspensando o mix com *buffer Serum* para reduzir as

chances de falsos positivos devido à presença de proteínas no plasma, e incubando por 30 minutos em temperatura ambiente e protegido da luz.

Na preparação das amostras do plasma, centrifugamos todas as amostras a 1.500 rpm por 10 minutos à temperatura ambiente para eliminação dos *debris* e limpeza das amostras.

Na preparação das placas, transferimos para os poços 25 μL do mix das *beads* da curva padrão, além da mesma quantidade de cada amostra. Em todos os poços da placa foram adicionados 25 μL do fluorocromo PE, sempre homogeneizando. A placa foi incubada por 3 horas em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após este período, realizamos as lavagens dos poços utilizando 500 μL de tampão de lavagem e centrifugando a 1.500 rpm por 5 minutos a 4°C. Prosseguimos descartando o sobrenadante dos poços e ressuspensando o conteúdo em 250 μL do tampão de lavagem. A aquisição dos dados foi realizada pelo citômetro de fluxo FACSCalibur (BD).

5.6 QUANTIFICAÇÃO DA CARGA PROVIRAL

Para realizar a quantificação da carga proviral (CPV), utilizamos 30ng de DNA para cada amostra, extraído das PBMCs separadas por gradiente de ficoll. Inicialmente as amostras foram quantificadas, diluídas e requantificadas para maior controle da quantidade de DNA utilizado na reação. A carga proviral foi avaliada por PCR quantitativa em tempo real para o gene *Tax* e o sistema usado foi o *TaqMan*, tendo como gene de referência a β -globina.

Para a construção das curvas padrão de referência para o gene *tax* e para o gene β -globina, utilizamos produtos de PCR destes dois genes. Os produtos foram sequenciados e quantificados. Após isto foi calculado o número de moléculas existente e realizou-se uma diluição seriada de 10^6 a 10^1 .

As seqüências de oligonucleotídeos utilizados foram:

5'-CAGCCCCTTGTCTCCACTTG-3' *tax* (sense);

5'-ACCTTGAGGGTCTTAGAGGTTC-3' *tax*(antisense);

5'-GGCATAAAAGTCAGGGCAGAGCC-3' β -globina(sense)

5'-GTCTTCTCTGTCTCCACATGCCCA -3' β -globina(antisense).

5.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os valores das citocinas e quimiocinas de cada paciente foram tabulados no programa *Microsoft Office Excel* 2007. Para as análises estatísticas utilizamos o programa *GraphPad Prism 6.1*. Os dados obtidos foram analisados pelo teste não paramétrico de *Mann Whitney* e

as análises das avaliações dos pacientes DIH que apresentaram posteriormente a DIH/HAM/TSP e dos pacientes DIH que entraram em remissão da doença, foram analisados pelo teste *Wilcoxon* para amostras pareadas. Uma probabilidade de $p \leq 0,05$ foi considerada significativa. Realizamos análises de correlação das citocinas estudadas através da determinação do coeficiente de *Spearman* (ρ). As correlações com valor de ρ igual a 1 ($\rho=1$) foram consideradas como uma correlação perfeita. As correlações que apresentaram valores de ρ iguais ou maiores que 0,8 e menores que 1 foram consideradas fortes ($0,8 \leq \rho < 1$). As correlações com valores de ρ iguais ou maiores que 0,5 e menores que 0,8 foram consideradas moderadas ($0,5 \leq \rho < 0,8$). E as correlações que apresentarem valores de ρ maiores ou iguais a zero e menores que 0,5 foram consideradas fracas ($0,0 \leq \rho < 0,5$). Os resultados foram tabelados numa matriz de correlação.

5.8 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Climério de Oliveira (registro 006/011) e pelo CONEP (registro 13097). A participação de crianças e adolescentes já recrutados foi consentida pelos respectivos responsáveis legais que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Estes também consentiram a criopreservação do material biológico. Somente foram incluídos novos indivíduos que aceitaram e assinaram o TCLE (adulto ou responsável legal do menor).

6 RESULTADOS

6.1 GRUPOS ESTUDADOS

As características dos grupos estudados estão resumidas na tabela 3.

Tabela 3: Características dos grupos incluídos nas avaliações.

	<i>Indivíduos saudáveis</i>	<i>Portadores do HTLV-1</i>			
		<i>Portadores assintomáticos</i>	<i>Pacientes com a DIH</i>	<i>Pacientes com a DIH/HAM/TSP</i>	<i>Pacientes com a HAM/TSP</i>
<i>Media na de idade (anos)</i>	13,5 (10-20)	14,24 (10-21)	12,65 (2-19)	15,67 (10-21)	20,8 (15-21)
<i>Sexo n (%)</i>	Feminino: 10 (50%) Masculino: 10 (50%)	Feminino: 7 (38,9%) Masculino: 11 (61,1%)	Feminino: 16 (61,5%) Masculino: 10 (38,5%)	Feminino: 7 (70%) Masculino: 3 (30%)	Feminino: 4 (57,1%) Masculino: 3 (42,9%)
<i>Total</i>	20	18	26	10	7

6.2. AVALIAÇÃO DE CITOCINAS PLASMATICAS EM PACIENTES COM DIH, COM DIH E HAM/TSP, COM HAM/TSP, PORTADORES ASSINTOMÁTICOS E INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS NÃO INFECTADOS PELO HTLV-1.

6.2.1 Citocinas pró-inflamatórias

Nesta avaliação foram incluídas as citocinas pró-inflamatórias IL-2, TNF- α , IL-6, IL-8, IL-1 β , IL-12p70, IFN- γ e IL-17, e comparamos os valores de concentração entre os grupos do estudo. As concentrações plasmáticas das citocinas IL-2 e IL-6 foram maiores em todos os grupos de portadores do HTLV-1 em comparação com as dos indivíduos não infectados (Figura 8), enquanto as citocinas TNF- α e IL-8 apresentaram-se em maiores concentrações nos grupos de portadores assintomáticos, de pacientes com a DIH e de pacientes com a DIH/HAM/TSP em comparação com os indivíduos saudáveis sem a infecção. Quando comparados os grupos de portadores do HTLV-1 entre eles, não foram observadas diferenças para as citocinas TNF- α e IL-6, porém os pacientes de DIH mostraram maior concentração das citocinas IL-2 e IL-8 do que os portadores assintomáticos ($p=0.025$ e $p=0.0153$, respectivamente). Além disso, o grupo de pacientes com a HAM/TSP apresentou menores concentrações plasmáticas da citocina IL-8 quando comparado com os grupos DIH e DIH/HAM/TSP ($p=0,0057$ e $p=0,0330$, respectivamente).

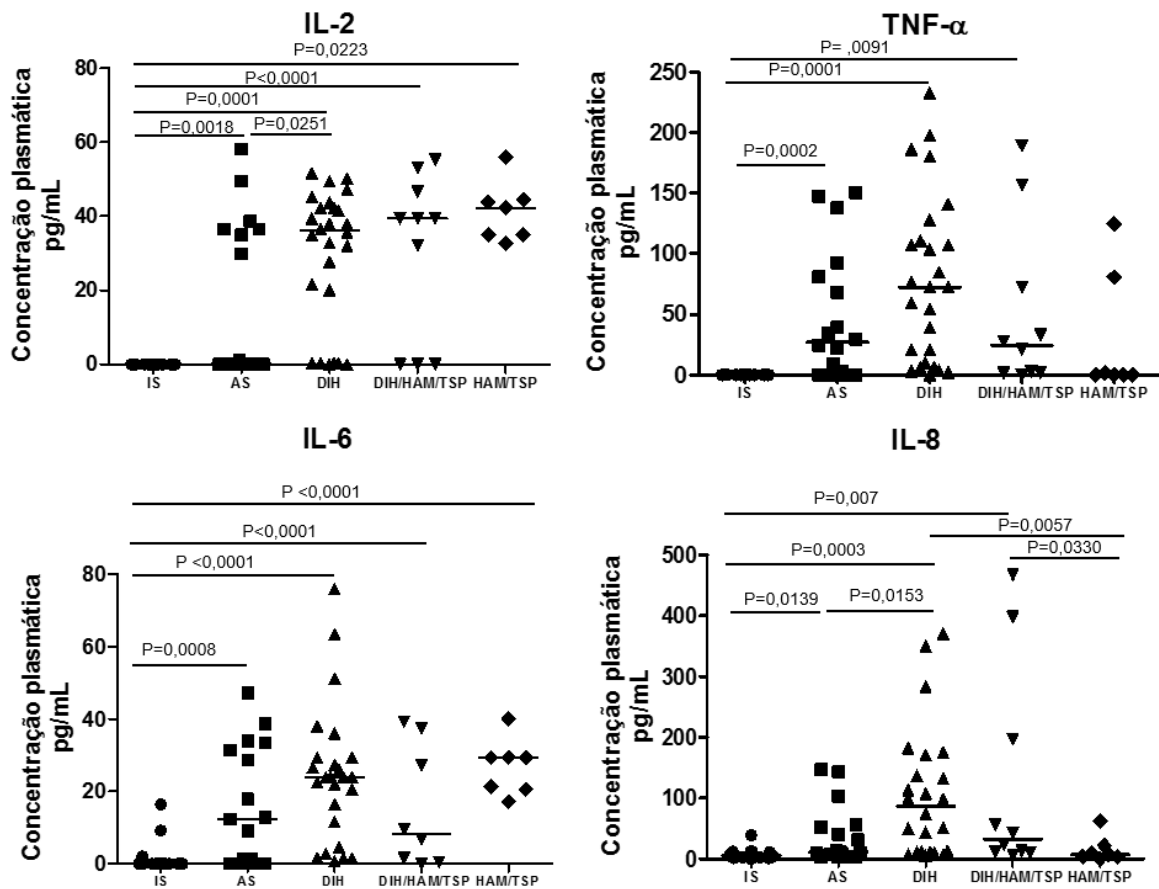


Figura 8. Avaliação das concentrações plasmáticas das citocinas pró-inflamatórias IL-2, TNF- α , IL-6 e IL-8 em indivíduos portadores do HTLV-1 e indivíduos saudáveis. Comparações entre os grupos IS (indivíduos saudáveis) (n=20); AS (portadores assintomáticos) (n=18); DIH (portadores com a Dermatite Infecciosa) (n=26); DIH/HAM/TSP (portadores com a manifestação simultânea DIH e HAM/TSP) (n=10) e HAM/TSP (portadores apenas da HAM/TSP) (n=7). As análises estatísticas foram feitas através do teste não paramétrico de Mann-Whitney e foram observadas diferenças estatisticamente significante entre as medianas da citocina IL-2 dos grupos IS e AS (p=0,0018), IS e DIH (p=0,0001), IS e DIH/HAM/TSP (p<0,0001), IS e HAM/TSP (P=0,0223) e entre os grupos AS e DIH (p=0,0251). Para a citocina TNF- α encontramos diferenças significantes entre grupos IS e AS (p=0,0002), IS e DIH (p=0,0001) e entre IS e DIH/HAM/TSP (p=0,0091). A citocina IL-6 mostrou diferença significantes entre os grupos IS e AS (p=0,0008), IS e DIH (p<0,0001), IS e DIH/HAM/TSP (p=0,0020) e entre IS e HAM/TSP (p<0,0001). Todos os valores das concentrações foram expressos em pg/mL. A avaliação da citocina IL-8 mostrou diferenças estatisticamente significantes entre as medianas dos grupos IS e AS (p=0,0139), IS e DIH (p=0,0003), IS e DIH/HAM/TSP (p=0,007), AS e DIH (p=0,0153), DIH e HAM/TSP (P=0,0057) e entre DIH/HAM/TSP e HAM/TSP (p=0,0330). Todos os valores das concentrações foram expressos em pg/mL.

A avaliação das concentrações plasmáticas da citocina IL-1 β mostrou que portadores assintomáticos e pacientes com a DIH apresentam valores menores quando comparados com indivíduos saudáveis (p=0,0045 e p<0,0001, respectivamente) enquanto os pacientes com a DIH/HAM/TSP apresentaram um leve aumento comparado com os indivíduos saudáveis (p=0,0379). Adicionalmente, os pacientes com a DIH/HAM/TSP apresentaram maiores

concentrações para a IL-1 β quando comparado com o grupo de pacientes com a DIH e com o grupo de pacientes com a HAM/TSP ($p < 0,0001$ e $p = 0,0058$, respectivamente) (Figura 9).

Todos os grupos mostraram níveis de concentração similares para a citocina IL-12p70 (Figura 9).

Ao verificarmos as concentrações plasmáticas da citocina IFN- γ , encontramos que o grupo de indivíduos saudáveis apresentaram menores concentrações que o grupo de indivíduos portadores assintomáticos ($p = 0,0233$) e o grupo de pacientes com a DIH ($p = 0,0289$), contudo, não houve diferenças entre os demais grupos (Figura 9).

A avaliação da citocina IL-17 mostrou que os portadores assintomáticos apresentaram menores concentrações que os indivíduos não infectados ($p < 0,0001$). Enquanto que, considerando os grupos de portadores do HTLV-1, os portadores assintomáticos apresentaram menores níveis que os pacientes de DIH e pacientes com DIH/HAM/TSP, porém não houve diferenças significantes entre as concentrações do grupo HAM/TSP ($p = 0,0049$ e $p = 0,0043$, respectivamente) (Figura 9).

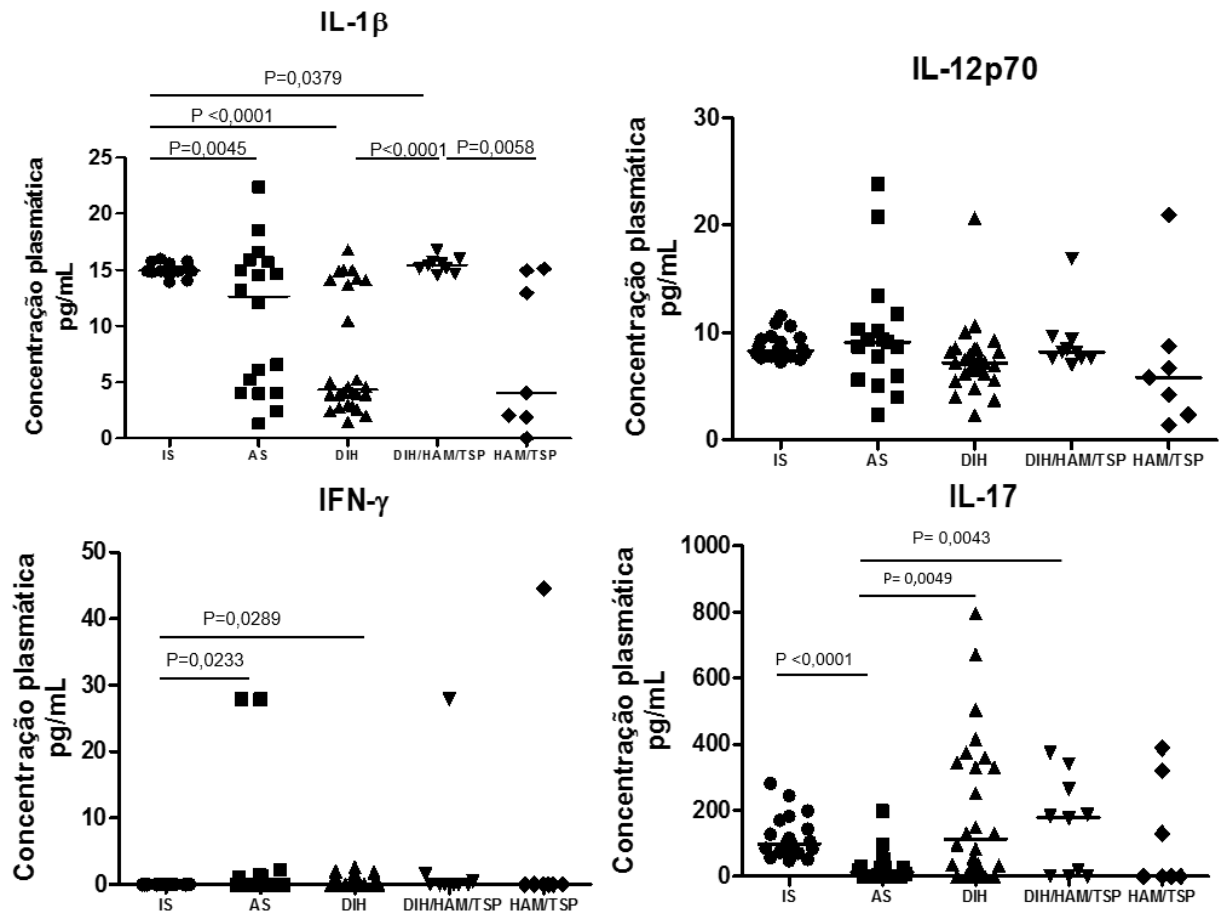


Figura 9. Avaliação das concentrações plasmáticas da citocina IL-1 β , IL-12p70, IFN- γ e IL-17 em indivíduos portadores do HTLV-1 e indivíduos saudáveis. Comparações entre os grupos IS (indivíduos saudáveis) (n=20); AS (portadores assintomáticos) (n=18); DIH (portadores com a Dermatite Infecciosa) (n=26); DIH/HAM/TSP (portadores com a manifestação simultânea DIH e HAM/TSP) (n=10) e HAM/TSP (portadores apenas da HAM/TSP) (n=7). As análises estatísticas foram feitas através do teste não paramétrico de Mann-Whitney. Na avaliação da citocina IL-1 β foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as medianas dos grupos IS e AS ($p=0,0045$), IS e DIH ($p<0,0001$), IS e DIH/HAM/TSP ($p=0,0379$), DIH e DIH/HAM/TSP ($p<0,0001$) e entre DIH/HAM/TSP e HAM/TSP. A avaliação da citocina IL-12p70 não mostrou diferenças estatisticamente significativas. Na avaliação do IFN- γ , houve diferenças significativas apenas entre os grupos IS e AS ($p=0,0233$) e entre IS e DIH ($p=0,0289$). A citocina IL-17 mostrou-se em concentrações diferentes nos grupos IS e AS ($p<0,0001$), AS e DIH ($p=0,0049$), AS e DIH/HAM/TSP ($p=0,0043$). Todos os valores das concentrações foram expressos em pg/mL.

6.2.2 Citocinas anti-inflamatórias

As citocinas IL-4 e IL-10 mostraram maiores níveis de concentrações plasmáticas em portadores do vírus do que em indivíduos saudáveis não infectados (Figura 10). Os indivíduos saudáveis apresentaram concentrações menores para a citocina IL-4 quando comparado com os portadores assintomáticos ($p=0,0062$), com DIH ($p<0,0001$), DIH/HAM/TSP ($p=0,0002$) e HAM/TSP ($p=0,0220$). A avaliação da citocina IL-10 mostrou que os indivíduos saudáveis

apresentaram menores concentrações quando comparado com os portadores assintomáticos ($p=0,0001$), com DIH ($p<0,0001$), DIH/HAM/TSP ($p<0,0001$) e HAM/TSP ($p<0,0001$). Os níveis de IL-4 entre os grupos de portadores do HTLV-1 foram similares, independentemente da condição clínica, enquanto que para a IL-10, os níveis dos portadores assintomáticos foram menores que dos pacientes com a DIH ($p=0,007$), dos pacientes DIH/HAM/TSP ($p=0,042$) e dos pacientes com a HAM/TSP ($p=0,0403$).

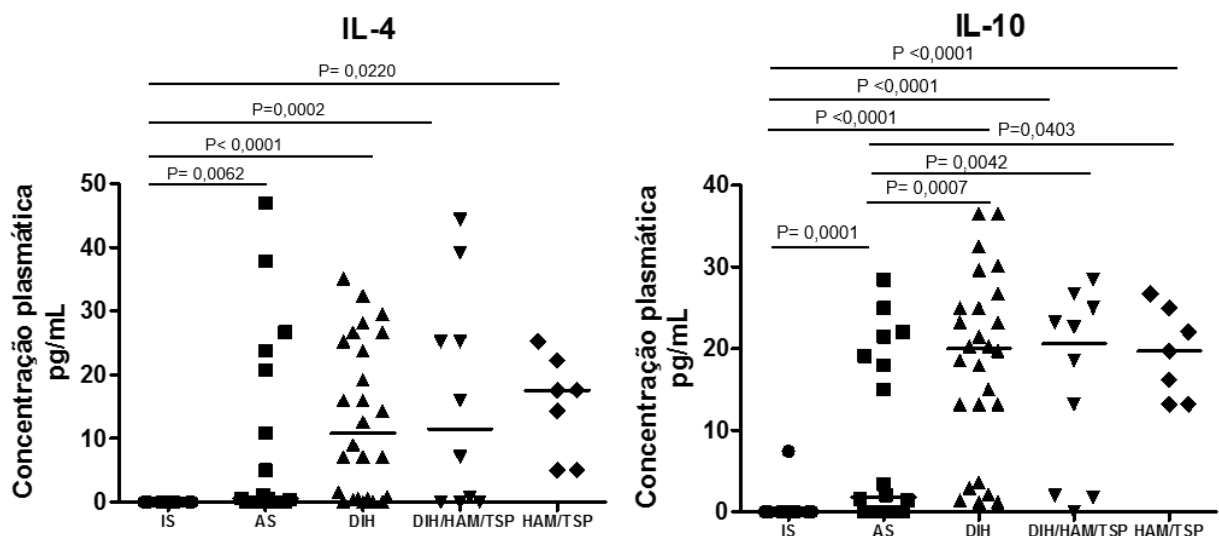


Figura 10. Avaliação das concentrações plasmáticas das citocinas anti-inflamatórias IL-4 e IL-10 em indivíduos portadores do HTLV-1 e indivíduos saudáveis. Comparações entre os grupos IS (indivíduos saudáveis) (n=20); AS (portadores assintomáticos) (n=18); DIH (portadores com a Dermatite Infecciosa) (n=26); DIH/HAM/TSP (portadores com a manifestação simultânea DIH e HAM/TSP) (n=10) e HAM/TSP (portadores apenas da HAM/TSP) (n=7). As análises estatísticas foram feitas através do teste não paramétrico de Mann-Whitney. A avaliação da citocina IL-4 mostrou diferenças estatisticamente significantes entre as medianas dos grupos IS e AS ($p=0,0062$), IS e DIH ($p<0,0001$), IS e DIH/HAM/TSP ($p=0,0002$) e entre IS e HAM/TSP. A avaliação da citocina IL-10 mostrou diferenças estatisticamente significantes entre as medianas dos grupos IS e AS ($p=0,001$), IS e DIH ($p<0,0001$), IS e DIH/HAM/TSP ($p<0,0001$), IS e HAM/TSP ($P<0,0001$), entre AS e DIH ($p=0,007$), entre AS e DIH/HAM/TSP ($p=0,042$) e entre AS e HAM/TSP ($P=0,0403$). Todos os valores das concentrações foram expressos em pg/mL.

6.3. AVALIAÇÃO DE QUIMIOCINAS

Foram avaliadas as quimiocinas CCL-27 e CCL-22 (Figura 11). Os níveis da quimiocina CCL-22 foram maiores nos indivíduos saudáveis quando comparados com os

grupos de portadores do vírus (portadores assintomáticos ($p=0,0005$), pacientes com a DIH ($p=0,0203$), pacientes com a DIH/HAM/TSP ($p=0,0051$), ou pacientes com a HAM/TSP ($p=0,0005$). Porém, dentre os grupos de portadores do HTLV-1 o grupo de pacientes com a DIH apresentaram maiores concentrações comparado com o grupo de pacientes com a HAM/TSP ($p=0,0220$).

Quanto à quimiocina CCL-27, o grupo de pacientes com a DIH/HAM/TSP apresentou as menores concentrações, quando comparados com o grupo de indivíduos saudáveis ($p=0,0037$), com os portadores assintomáticos ($p=0,0003$) e com os pacientes com a DIH ($p=0,0008$), porém não houve diferenças significantes quando comparados com o grupo HAM/TSP.

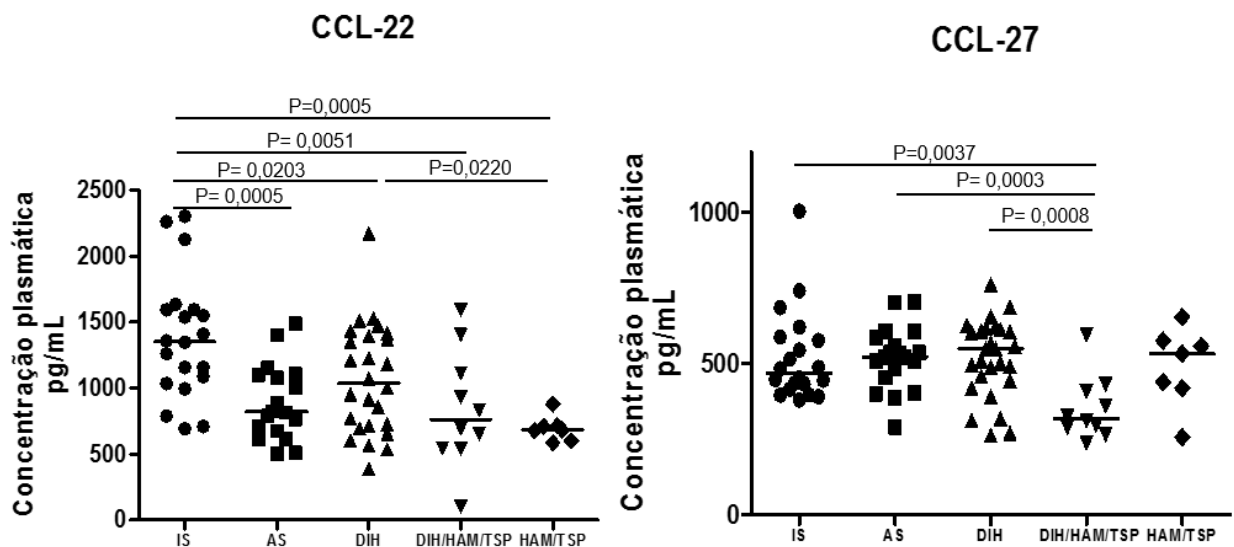


Figura 11. Avaliação das concentrações plasmáticas das quimiocinas CCL-22 e CCL-27 em indivíduos portadores do HTLV-1 e indivíduos saudáveis. Comparações entre os grupos IS (indivíduos saudáveis) ($n=20$); AS (portadores assintomáticos) ($n=18$); DIH (portadores com a Dermatite Infecciosa) ($n=26$); DIH/HAM/TSP (portadores com a manifestação simultânea DIH e HAM/TSP) ($n=10$) e HAM/TSP (portadores apenas da HAM/TSP) ($n=7$). As análises estatísticas foram feitas através do teste não paramétrico de Mann-Whitney. Para a quimiocina CCL-22, foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre as medianas dos grupos IS e AS ($p=0,0005$), IS e DIH ($p=0,0203$), IS e DIH/HAM/TSP ($p=0,0051$), IS e HAM/TSP ($P=0,0005$) e entre DIH e HAM/TSP ($P=0,0220$). A avaliação da quimiocina CCL-27 mostrou diferenças estatisticamente significantes entre as medianas dos grupos IS e DIH/HAM/TSP ($p=0,0037$), AS e DIH/HAM/TSP ($p=0,0003$), DIH e DIH/HAM/TSP ($p=0,0008$). Todos os valores das concentrações foram expressos em pg/mL.

A tabela 4 resume os valores de mediana para as concentrações das citocinas e quimiocinas avaliadas neste estudo nos grupos incluídos nas análises.

Tabela 4: Valores de mediana da concentração plasmática das citocinas estudadas em Indivíduos saudáveis não infectados, nos portadores assintomáticos, pacientes com DIH, pacientes com manifestação simultânea de DIH e HAM/TSP, e pacientes apenas com a HAM/TSP.

MEDIANA DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA (PG/ML)					
	Indivíduos Saudáveis	Portadores Assintomáticos	DIH	DIH/HAM/TSP	HAM/TSP
IL-1B	14,93 (13,93 – 15,99)	12,64 (1,3 – 22,37)	4,33 (1,44 – 16,76)	15,41 (14,5 – 16,76)	4,03 (0,0-15,12)
IL-2	0,0 (0,0 – 0,0)	0,145 (0,0 – 58,11)	36,15 (0,0 – 51,69)	39,43 (0,0 – 55,26)	42,33 (32,84-55,97)
TNF-A	0,0 (0,0 – 10,91)	8,38 (0,0 – 48,05)	11,60 (0,0 – 76,51)	15,97 (0,0 – 57,07)	0,0 (0,0-124,6)
IL-6	0,0 (0,0 – 16,43)	12,31 (0,0 – 47,22)	23,98 (0,76 – 75,81)	8,155 (0,0 – 39,32)	29,35 (17,18-39,98)
IL-8	5,94 (0,0 – 39,07)	10,94 (2,38 – 147,2)	86,60 (5,03 – 371,0)	32,58 (5,2 – 467,7)	7,0 (0,0-62,63)
IFN-	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 2,21)	0,0 (0,0 – 2,65)	0,0 (0,0 – 1,58)	0,0 (0,0-44,55)
IL-12P70	8,32 (7,27 – 11,57)	9,12 (2,33 – 23,82)	7,2 (2,29 – 20,64)	8,19 (7,0 – 16,87)	7,2 (2,29-20,64)
IL-17	99,79 (48,21 – 282,1)	12,71 (0,0 – 198,2)	113,7 (0,0 – 796,0)	179,0 (0,0 – 374,6)	0,0 (0,0-388,5)
IL-4	0,0 (0,0 – 0,0)	0,61 (0,0 – 46,97)	10,81 (0,0 – 35,13)	11,53 (0,0 – 44,40)	17,58 (5,03-25,24)
IL-10	0,0 (0,0 – 0,0)	1,83 (0,0 – 28,46)	20,01 (1,17 – 36,51)	20,59 (0,0 – 28,46)	19,72 (13,2-26,72)
CCL-22	1.352 (693,2 – 2.301)	819,2 (503,3 – 1.487)	1.037 (389,1 – 2.172)	763,5 (104,1 – 1.592,0)	684,7 (587,1-878,3)
CCL-27	467,8 (379,6 – 1.003)	521,1 (290,3 – 705,0)	548,6 (262,7 – 761,8)	317,8 (237,9 – 595,7)	532,6 (256,1-653,4)

6.4 CORRELAÇÃO ENTRE CITOCINAS E QUIMIOCINAS

No intuito de avaliar possíveis relações entre as concentrações das citocinas e quimiocinas estudadas, realizamos a análise de correlação entre as mesmas no grupo de Indivíduos saudáveis (tabela 5), no grupo de Portadores assintomáticos (tabela 6), no grupo de pacientes DIH (tabela 7), no grupo de pacientes com a manifestação simultânea da DIH/HAM/TSP (tabela 8), e no grupo de pacientes com a HAM/TSP (tabela 9). As correlações significantes perfeitas (****), fortes (***), moderadas (**) e fracas (*) foram sinalizadas na matriz de correlação de acordo com o Coeficiente de Spearman (ρ). As correlações significantes nos grupos avaliados foram resumidas na tabela 10.

Tabela 5: Matriz de correlação das citocinas e quimiocinas no grupo de indivíduos saudáveis não infectados (IS).

IS	IL-10	IL-6	TNF-	IL-2	IL-4	IFN- γ	IL-17	IL-1 β	IL-8	IL-12p70	CCL-22	CCL-27
IL-10	1,0	** 0,54 (P=0,0138)	0,3399	0	0	0	0,2188	0,2623	-0,01989	0,09961	-0,2984	-0,2586
IL-6		1,0	0,3053	0	0	0	-0,1560	0,3420	0,1119	0,2068	-0,09895	-0,2108
TNF-			1,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IL-2				1,0	0	0	0	0	0	0	0	0
IL-4					1,0	0	0	0	0	0	0	0
IFN- γ						1,0	0	0	0	0	0	0
IL-17							1,0	0,1029	0,27	0,2093	-0,07368	-0,1203
IL-1 β								1,0	0,5330	** 0,6133 (P=0,004)	0,2219	0,3515
IL-8									1,0	0,3607	0,4421	0,1173
IL-12p70										1,0	-0,08509	0,09714
CCL-22											1,0	** 0,7038 (P=0,0005)
CCL-27												1,0

Correlações significantes foram sinalizadas como perfeitas (****), fortes (***), moderadas (**) e fracas (*). Nas células encontram-se os valores do Coeficiente de Spearman (ρ) e entre parênteses estão os valores de “p”.

Tabela 6: Matriz de correlação das citocinas e quimiocinas no grupo de portadores assintomáticos (AS).

AS	IL-10	IL-6	TNF-	IL-2	IL-4	IFN- γ	IL-17	IL-1 β	IL-8	IL-12p70	CCL-22	CCL-27
IL-10	1,0	** 0,6908 (P=0,0015)	0,06	*** 0,9058 (P<0,0001)	*** 0,9074 (P<0,0001)	0,4512	0,3931	-0,42	0,2945	-0,07765	-0,42	-0,14
IL-6		1,0	0,10	** 0,6789 (P=0,0019)	** 0,7374 (P=0,0005)	0,0832	0,2687	-0,31	0,4515	-0,1367	-0,37	-0,11
TNF-			1,0	-0,2093	-0,03408	** 0,5751 (P=0,0125)	0,2983	0,27	** 0,7882 (P=0,0001)	** 0,6475 (P=0,0037)	-0,045	0,42
IL-2				1,0	*** 0,8642 (P<0,0001)	0,2038	0,2270	-0,46	0,03309	-0,2384	-0,39	-0,26
IL-4					1,0	0,1788	0,2535	-0,38	0,2564	-0,1852	-0,39	-0,32
IFN- γ						1,0	* 0,4849 (P=0,0414)	-0,081	* 0,4859 (P=0,0409)	** 0,5378 (P=0,0213)	-0,16	0,18
IL-17							1,0	-0,19	0,3637	0,1188	0,012	-0,20
IL-1 β								1,0	-0,00206	0,5981	0,76	0,079
IL-8									1,0	0,2994	-0,24	0,30
IL-12p70										1,0	0,27	0,36
CCL-22											1,0	-0,20
CCL-27												1,0

Correlações significantes foram sinalizadas como perfeitas (****), fortes (***), moderadas (**) e fracas (*). Nas células encontram-se os valores do Coeficiente de Spearman (ρ) e entre parênteses estão os valores de “p”.

Tabela 7: Matriz de correlação das citocinas e quimiocinas no grupo de pacientes com a DIH.

DIH	IL-10	IL-6	TNF-F	IL-2	IL-4	IFN- γ	IL-17	IL-1 β	IL-8	IL-12p70	CCL-22	CCL-27
IL-10	1,0	* 0,4783 (P=0,0134)	0,1	** 0,5366 (P=0,0047)	0,3235	** -0,7089 (P<0,0001)	0,3182	-0,1482	0,3454	-0,08306	0,2181	-0,10
IL-6		1,0	0,3	** 0,7061 (P<0,0001)	0,3083	** -0,7176 (P<0,0001)	* 0,4277 (P=0,0293)	0,2059	* 0,4963 (P=0,0099)	0,2512	0,4196	-0,13
TNF-F			1,0	* 0,4426 (P=0,0236)	* 0,4426 (P=0,0236)	-0,2561	-0,1296	* 0,4104 (P=0,0373)	0,3420	* 0,4361 (P=0,0259)	0,05540	-0,24
IL-2				1,0	** 0,6305 (P=0,0006)	** -0,7152 (P<0,0001)	0,3687	0,1073	0,3656	0,1529	* 0,4056 (P=0,0398)	0,011
IL-4					1,0	** -0,5081 (P=0,008)	0,2531	* 0,4088 (P=0,0381)	0,1611	0,3634	0,2533	-0,17
IFN- γ						1,0	-0,3592	-0,1117	-0,2505	-0,1932	-0,3343	0,26
IL-17							1,0	0,1763	0,1874	0,03073	0,3861	-0,012
IL-1 β								1,0	0,2961	* 0,9228 (P<0,0001)	0,02807	-0,46
IL-8									1,0	0,2025	-0,01744	-0,18
IL-12p70										1,0	-0,08141	-0,43
CCL-22											1,0	-0,03385
CCL-27												1,0

Correlações significantes foram sinalizadas como perfeitas (****), fortes (***), moderadas (**) e fracas (*). Nas células encontram-se os valores do Coeficiente de Spearman (ρ) e entre parênteses estão os valores de “p”.

Tabela 8: Matriz de correlação das citocinas e quimiocinas no grupo de pacientes com a DIH e a HAM/TSP.

DIH/HAM/TSP	IL-10	IL-6	TNF-	IL-2	IL-4	IFN- γ	IL-17	IL-1 β	IL-8	IL-12p70	CCL-22	CCL-27
IL-10	1,0	**** 0,8667 (P=0,0022)	0,21	** 0,7891 (P=0,0097)	** 0,7632 (P=0,0140)	** -0,5021 (P<0,0001)	0,23	0,2128	** 0,7212 (P=0,0234)	0,48	0,006	-0,03030
IL-6		1,0	0,61	** 0,6524 (P=0,0476)	** 0,6832 (P=0,0349)	** -0,5021 (P<0,0001)	0,34	0,4012	* 0,9030 (P=0,0008)	0,32	-0,25	-0,2970
TNF-			1,0	0,08077	0,2339	-0,2739	0,2	0,2188	** 0,7455 (P=0,0174)	-0,32	-0,45	-0,3576
IL-2				1,0	0,4858	** -0,6378 (P<0,0001)	0,23	0,3303	0,4536	0,31	0,13	0,2423
IL-4					1,0	** -0,3946 (P<0,0001)	-0,27	0,4044	0,5170	0,16	-0,47	-0,3631
IFN- γ						1,0	0,023	** -0,5500 (P<0,0001)	-0,3651	-0,28	-0,02	-0,04564
IL-17							1,0	-0,3385	0,4479	0,09	0,15	-0,1657
IL-1 β								1,0	0,1763	0,32	-0,35	-0,2067
IL-8									1,0	0,14	0,21	-0,3091
IL-12p70										1,0	0,42	0,2523
CCL-22											1,0	** 0,7576 (P=0,0149)
CCL-27												1,0

Correlações significantes foram sinalizadas como perfeitas (****), fortes (***), moderadas (**) e fracas (*). Nas células encontram-se os valores do Coeficiente de Spearman (ρ) e entre parênteses estão os valores de “p”.

Tabela 9: Matriz de correlação das citocinas e quimiocinas no grupo de pacientes com a HAM/TSP.

HAM/TSP	IL-10	IL-6	TNF-	IL-2	IL-4	IFN- γ	IL-17	IL-8	IL-1 β	IL-12p70	CCL-22	CCL-27
IL-10	1,000	-0,337	-0,249	0,073	0,009	0,618	***0,875 (p=0,012)	-0,036	-0,360	0,324	-0,631	0,018
IL-6		1,000	-0,409	-0,206	-0,075	-0,635	-0,307	0,334	-0,296	-0,445	0,185	-0,111
TNF-			1,000	0,348	0,732	-0,338	-0,304	-0,670	0,020	-0,158	-0,315	-0,118
IL-2				1,000	0,156	0,206	0,308	0,126	-0,487	-0,396	0,180	***0,829 (p=0,034)
IL-4					1,000	-0,520	0,020	** -0,764 (p=0,048)	-0,346	-0,364	-0,564	-0,382
IFN- γ						1,000	0,676	0,408	0,204	0,612	0,000	0,408
IL-17							1,000	0,158	-0,394	0,197	-0,374	0,256
IL-8								1,000	0,214	0,286	0,464	0,464
IL-1 β									1,000	0,750	0,143	-0,357
IL-12p70										1,000	-0,321	-0,321
CCL-22											1,000	0,571
CCL-27												1,000

Correlações significantes foram sinalizadas como perfeitas (****), fortes (***), moderadas (**) e fracas (*). Nas células encontram-se os valores do Coeficiente de Spearman (ρ) e entre parênteses estão os valores de “p”.

Tabela 10: Correlações moderadas e fortes entre citocinas e quimiocinas nos grupos avaliados.

Grupo	Citocinas correlacionadas	Coefficiente de Spearman (ρ)	Valor de p	Intensidade
INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS (IS)	IL-10 / IL-6	0,54	P=0,0138	Moderada
	IL-1 β / IL-12p70	0,6135	P=0,004	Moderada
	CCL-22 / CCL-27	0,7038	P=0,0005	Moderada
PORTADORES ASSINTOMÁTICOS (AS)	IL-10 / IL-6	0,6908	P=0,0015	Moderada
	IL-10 / IL-2	0,9058	P<0,0001	Forte
	IL-10 / IL-4	0,9074	P<0,0001	Forte
	IL-6 / IL-2	0,6789	P=0,0019	Moderada
	IL-6 / IL-4	0,7374	P=0,0005	Moderada
	TNF- α / IFN- γ	0,5751	P=0,0125	Moderada
	TNF- α / IL-8	0,7882	P=0,0001	Moderada
	TNF- α / IL-12p70	0,6475	P=0,0037	Moderada
	TNF- α / IL-15	0,5547	P=0,042	Moderada
	IL-2 / IL-4	0,8642	P<0,0001	Forte
	IFN- γ / IL-12p70	0,5378	P=0,0213	Moderada
PACIENTES COM A DERMATITE INFECCIOSA (DIH)	IL-1 β / IL-12p70	0,9228	P<0,0001	Forte
	IL-10 / IL-2	0,5366	P=0,0047	Moderada
	IL-10 / IFN- γ	-0,7089	P<0,0001	Moderada Negativa
	IL-6 / IL-2	0,7061	P<0,0001	Moderada
	IL-6 / IFN- γ	-0,7176	P<0,0001	Moderada Negativa
	IL-2 / IL-4	0,6305	P=0,0006	Moderada
	IL-2 / IFN- γ	-0,7152	P<0,0001	Moderada Negativa
PACIENTES COM MANIFESTAÇÃO DA DIH E HAM/TSP	IL-4 / IFN- γ	-0,5081	P=0,008	Moderada Negativa
	IL-10 / IL-6	0,8667	P=0,0022	Forte
	IL-10 / IL-2	0,7891	P=0,0097	Moderada
	IL-10 / IL-4	0,7632	P=0,0140	Moderada
	IL-10 / IFN- γ	-0,5021	P<0,0001	Moderada Negativa
	IL-10 / IL-8	0,7212	P=0,0234	Moderada
	IL-6 / IL-2	0,6524	P=0,0476	Moderada
	IL-6 / IL-4	0,6832	P=0,0476	Moderada
	IL-6 / IFN- γ	-0,5021	P<0,0001	Moderada negativa
	IL-6 / IL-8	0,9030	P=0,0008	Forte
	TNF- α / IL-8	0,7455	P=0,0174	Moderada
PACIENTES COM A HAM/TSP	IL-2 / IFN- γ	-0,6378	P<0,0001	Moderada negativa
	IFN- γ / IL-1 β	-0,55	P<0,0001	Moderada negativa
	CCL-22 / CCL-27	0,7576	P=0,0149	Moderada
	IL-10 / IL-17	0,0875	P=0,012	Forte
	CCL-27 / IL-2	0,829	P=0,034	Forte
	IL-8 / IL-4	-0,764	P=0,048	Moderada negativa

6.5 CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DAS CITOCINAS PLASMÁTICAS E A CARGA PROVIRAL.

Foi quantificada a carga proviral nos portadores de HTLV-1 incluídos no estudo. Esta quantificação foi feita no DNA extraído da mesma coleta a partir da qual foram avaliados os níveis plasmáticos de citocinas e quimiocinas. A carga proviral quantifica o número de células infectadas na amostra avaliada. As medianas da carga proviral foram 0,272 cópias/100 PBMC para o grupo dos portadores assintomáticos, 5,98 cópias/100 PBMC para o grupo de pacientes com DIH, 14,68 cópias/100 PBMC para o grupo de pacientes de DIH que também manifestaram HAM/TSP e 2,4 cópias/100 PBMC para o grupo de pacientes com a HAM/TSP. Assim, a carga proviral apresentou-se menor no grupo de portadores assintomáticos quando comparado com o grupo de pacientes com a DIH ($p=0,0161$) ou quando comparado com o grupo de pacientes DIH/HAM/TSP ($p<0,0001$). Ao compararmos a carga proviral do grupo DIH com o grupo HAM/TSP, não encontramos diferenças significantes (Figura 12). Não foram observadas correlações entre a carga proviral e os valores de concentração para nenhuma citocinas ou quimiocinas em nenhum dos grupos separadamente, contudo a análise de correlação feita considerando todos os portadores de HTLV-1 como um único grupo de infectados mostrou correlações positivas fracas entre a carga proviral e as citocinas IL-8 ($r=0,3531$; $p=0,0128$) e IL-10 ($r=0,3647$; $p=0,01$) (Figura 13).

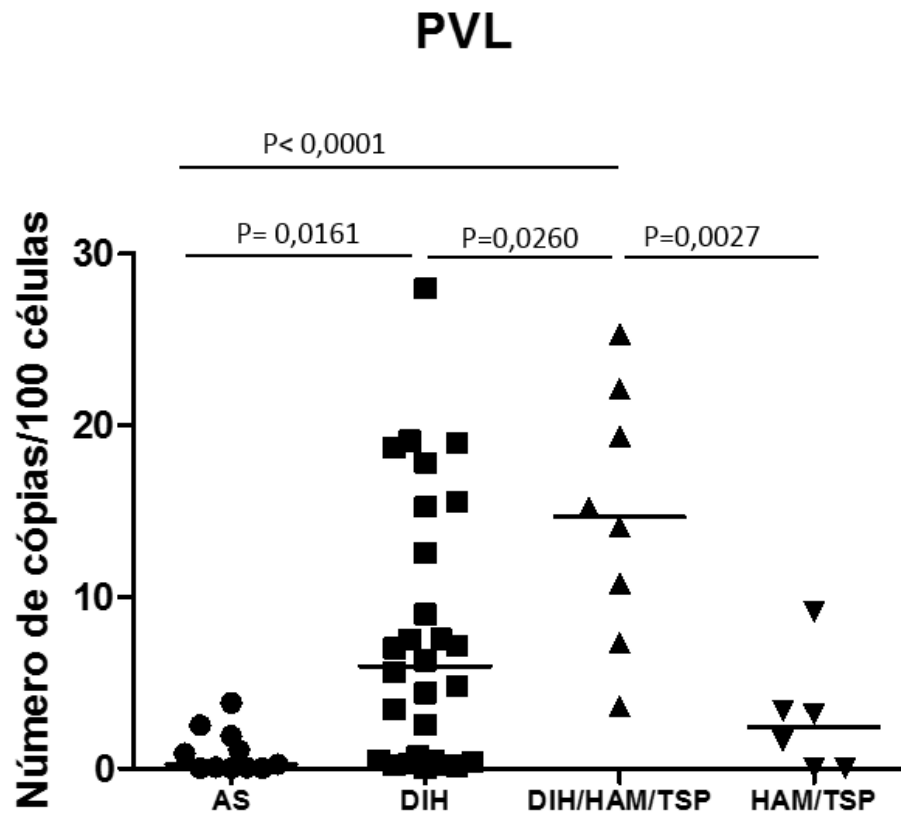


Figura 12: Comparação da carga proviral entre os grupos estudados. Foram comparados os grupos de portadores assintomáticos (n=12), DIH (n=28), DIH/HAM/TSP (n=8) e HAM/TSP (n=6). Foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre as medianas dos grupos Assintomáticos e DIH/HAM/TSP ($p < 0,0001$), entre as medianas do grupo Assintomático e do grupo DIH ($p = 0,0161$), entre os grupos DIH e DIH/HAM/TSP ($p = 0,0266$) e entre o grupo DIH/HAM/TSP e HAM/TSP ($p = 0,0027$). Foi considerada a carga proviral (CPV) para cada 100 células.

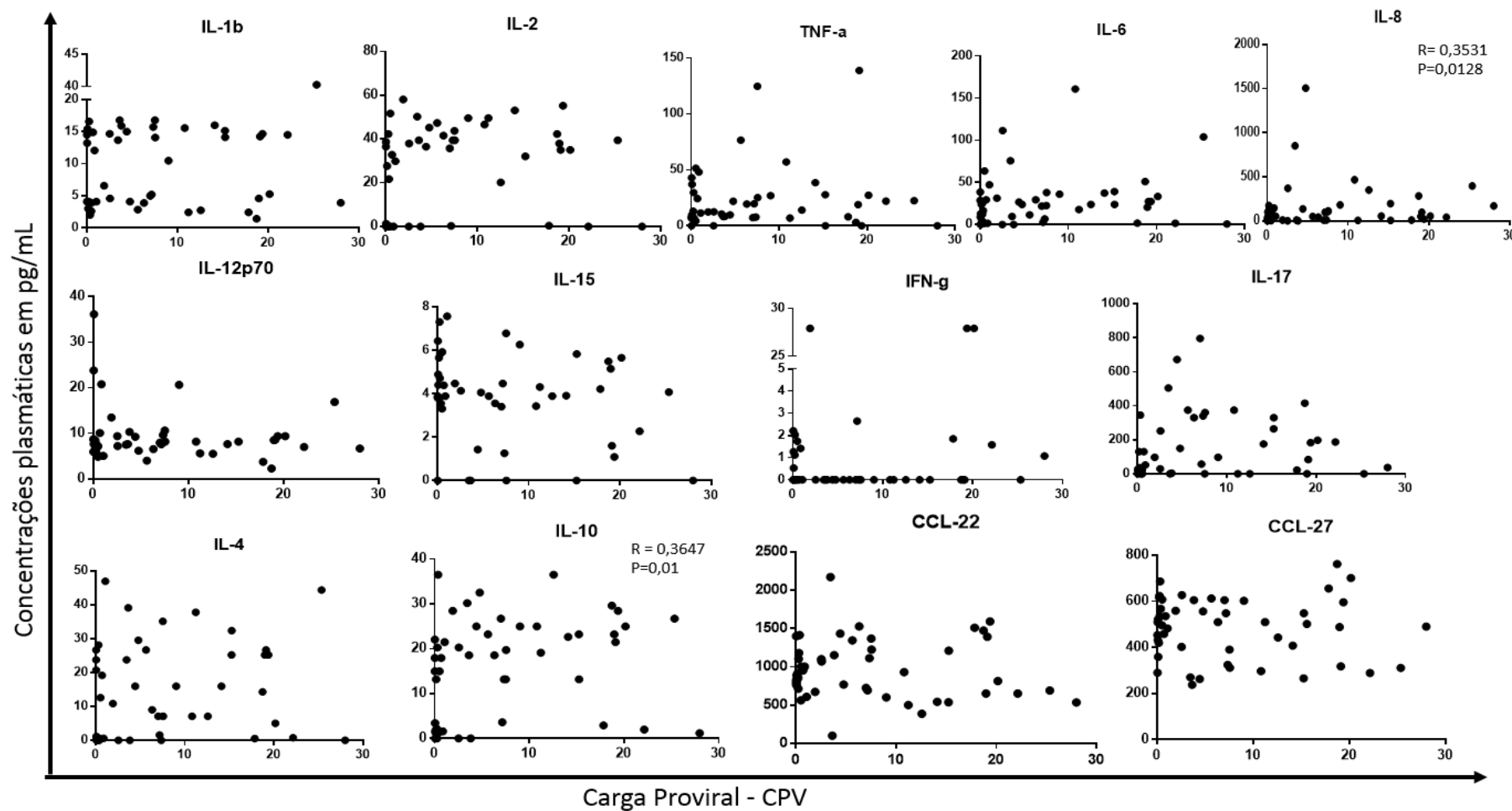


Figura 13: Correlação entre a carga proviral e as citocinas e quimiocinas considerando todos os grupos portadores assintomáticos (n=12), DIH (n=28), DIH/HAM/TSP (n=10) e HAM/TSP (n=7) em um único grupo de infectados. Foram observadas correlações significantes entre a carga proviral e a concentração das citocinas IL-8 ($r=0,3531$; $p=0,0128$) e IL-10 ($r=0,3647$; $p=0,01$). Foi considerada a carga proviral (CPV) para cada 100 células e a concentração das citocinas e quimiocinas foi expresso em pg/mL.

6.6 CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE CITOCINAS E QUIMIOCINAS NA REMISSÃO DA DIH.

Alguns dos pacientes de DIH incluídos (e sem manifestação de HAM/TSP) no estudo entraram em remissão. Foram comparados os níveis de citocinas pro-inflamatórias e anti-inflamatórias para o mesmo paciente na fase de doença ativa e na fase de remissão da DIH, considerando como remissão mais de 6 meses sem doença e sem tratamento. Somente observamos diferença nas concentrações plasmáticas da quimiocina CCL-27 ($p=0,0344$), de forma que os valores de concentração desta quimiocina foram mais elevados quando os pacientes de DIH entraram em remissão (figura 14).

6.7 CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE CITOCINAS E QUIMIOCINAS NA MANIFESTAÇÃO DA HAM/TSP EM PACIENTES COM DIH.

Avaliamos as concentrações plasmáticas das citocinas incluídas neste estudo em pacientes de DIH antes e depois da manifestação de HAM/TSP. Observamos a redução na produção de TNF- α no momento em que o paciente apresentou a manifestação simultânea de DIH e HAM/TSP ($p=0,0197$). As outras citocinas avaliadas não mostraram diferenças significantes nos seus níveis quando os pacientes de DIH manifestaram simultaneamente a HAM/TSP. Para este estudo também é necessário o aumento do número de pacientes para dados conclusivos (Figura 15).

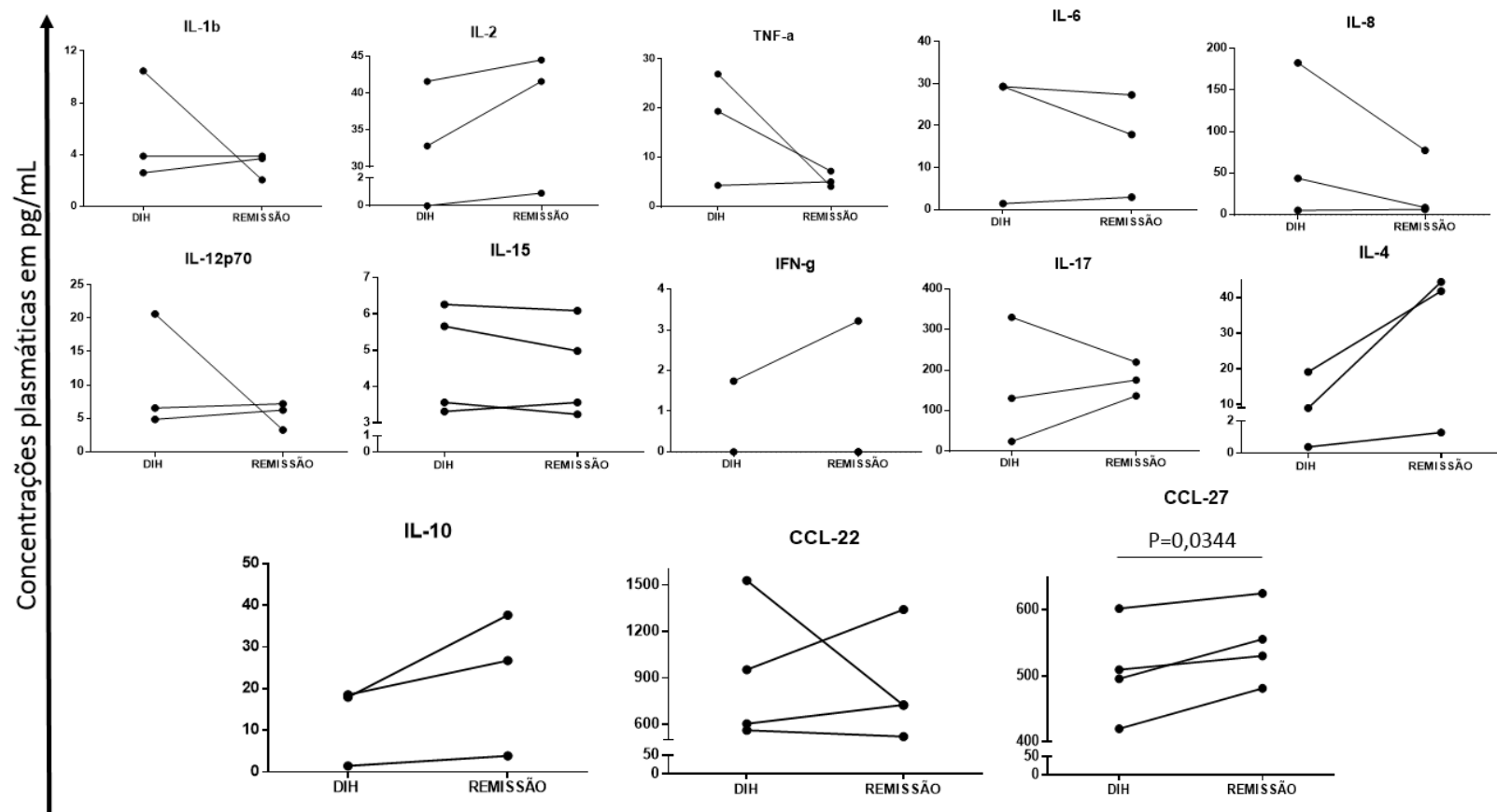


Figura 14. Concentrações plasmáticas das citocinas e quimiocinas estudadas no momento em que o paciente apresentava a DIH com lesões cutâneas (DIH) e no momento em que não haviam mais lesões (REMISSÃO). No gráfico, temos as avaliações das concentrações plasmáticas das citocinas IL-1 β , IL-2, TNF- α , IL-6, IL-8, IL-12p70, IL-15, IFN- γ , IL-17, IL-4, IL-10, CCL-22 e CCL-27. Apenas para a quimiocina CCL-27 encontramos uma diferença significativa entre os dois momentos das análises, sendo maior no momento da remissão da DIH ($p=0,0344$). As análises estatísticas foram feitas através do teste t Student para amostras pareadas. Todos os valores das concentrações foram expressos em pg/mL.

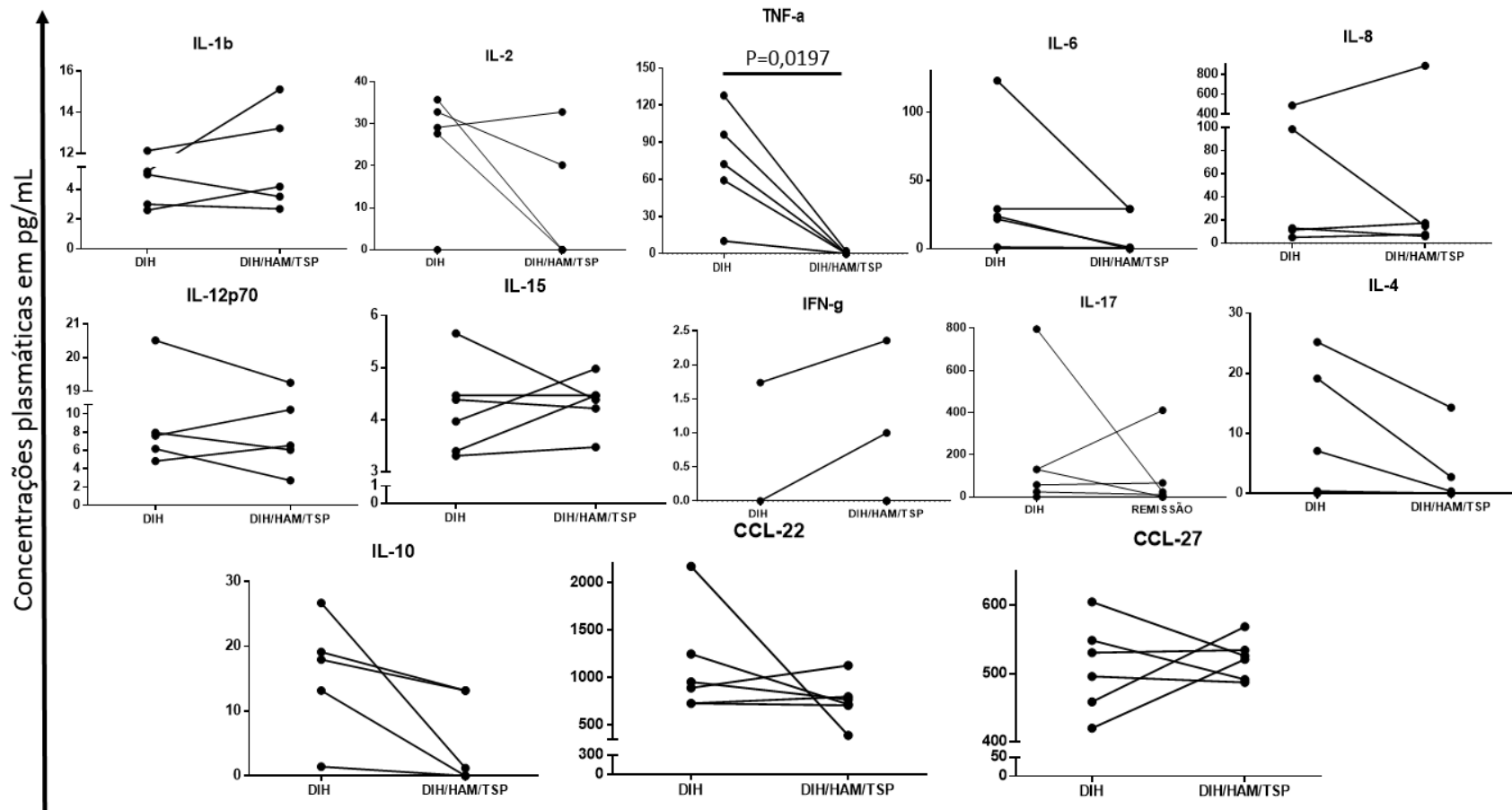


Figura 15. Concentrações plasmáticas das citocinas e quimiocinas estudadas no momento em que o paciente manifestava DIH e no momento posterior, quando desenvolveu simultaneamente a HAM/TSP (DIH/HAM/TSP). No gráfico, temos as avaliações das concentrações plasmáticas das citocinas IL-1 β , IL-2, TNF- α , IL-6, IL-8, IL-12p70, IL-15, IFN- γ , IL-17, IL-4, IL-10, CCL-22 e CCL-27. Apenas para a citocina TNF- α encontramos uma diferença significativa entre os dois momentos das análises, sendo menor no momento que o paciente apresenta a manifestação simultânea DIH/HAM/TSP ($p=0,0197$). As análises estatísticas foram feitas através do teste t Student para amostras pareadas. Todos os valores das concentrações foram expressos em pg/mL.

7 DISCUSSÃO

7.1 PADRÃO DE CITOCINAS E QUIMIOCINAS NOS GRUPOS DE PORTADORES DO HTLV-1 E EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS DA MESMA FAIXA ETÁRIA

Neste estudo avaliamos o perfil plasmático de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, além das quimiocinas CCL-22 e CCL-27, em indivíduos saudáveis, em portadores do HTLV-1 assintomáticos, em pacientes com manifestação de DIH, em pacientes com a manifestação simultânea de DIH/HAM/TSP e em pacientes com a manifestação da HAM/TSP, todos na faixa infanto-juvenil. Avaliamos também estas citocinas na DIH em atividade e na remissão das lesões, além do momento antes e depois do desenvolvimento da HAM/TSP nos pacientes com DIH.

Os nossos resultados indicam que na infecção pelo HTLV-1 na faixa infanto-juvenil parece ocorrer uma desregulação imunológica que se relaciona com maiores concentrações plasmáticas das citocinas pró-inflamatórias IL-2, IL-6, TNF- α , IL-8, e IL-1 β . Para as últimas três citocinas, os valores das concentrações plasmáticas para o grupo HAM/TSP mostraram-se similares ao do grupo de indivíduos saudáveis. Esta diferença de padrão observada entre este grupo e os outros grupos de indivíduos portadores do HTLV-1 pode estar relacionada com a patogênese de HAM/TSP. Neste sentido, quando os pacientes de DIH manifestam também HAM/TSP observa-se uma diminuição nos níveis plasmáticos de TNF- α em amostras pareadas. Ao avaliarmos a citocina IFN- γ , houve um leve aumento de concentração apenas nos grupos de portadores assintomáticos e no grupo de pacientes com a DIH, quando comparados com o grupo de indivíduos saudáveis sem a infecção. Porém, os valores detectados foram muito baixos e encontraram-se fora da curva padrão para esta citocina na técnica utilizada. Devido aos baixos níveis detectados *ex vivo*, consideramos que para esta citocina seria mais adequada a quantificação dos seus níveis em sobrenadantes das PBMCs procedentes de indivíduos dos diferentes grupos cultivadas e estimuladas *in vitro*. Além disso, os indivíduos infectados pelo HTLV-1 mostraram maior produção das citocinas anti-inflamatórias IL-4 e IL-10, assim como menor produção da quimiocina CCL-22 quando comparados com os indivíduos não infectados. Estes resultados parecem nos mostrar que a presença do vírus no organismo hospedeiro pode ser um fator que altere o padrão de resposta inflamatória mediada pelas citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias como já mencionado em estudos com indivíduos adultos infectados pelo HTLV-1 realizados por Brito-Melo e colaboradores (2013) e por Starling e colaboradores (2013).

Dentre estas moléculas, o TNF- α , a IL-4 e a IL-6 apresentaram níveis similares nos portadores do HTLV-1, independentemente da condição clínica apresentada, se relacionando com a presença do vírus e não com a manifestação de doença associada. Não existem na literatura trabalhos que avaliem concentrações plasmáticas destas moléculas na faixa considerada no presente trabalho. Nascimento e colaboradores (2009) avaliaram a concentração de citocinas *in vitro* em sobrenadantes de células mononucleares cultivadas em pacientes de DIH e as compararam com portadores e não portadores adultos (NASCIMENTO et al., 2009). Em portadores do HTLV-1 adultos, foram reportados níveis similares de IL-2, IL-10 e TNF- α quando comparados com indivíduos saudáveis não infectados também adultos (STARLING et al., 2013). Neste mesmo estudo, demonstrou-se também que, comparado com portadores do HTLV-1 assintomáticos e com indivíduos saudáveis, a IL-6 apresentou-se em alta concentração no plasma de indivíduos com HAM/TSP (STARLING et al., 2013). O TNF- α possui importante função na citólise de células tumorais, bem como na defesa contra células infectadas por estimular a adesão de leucócitos no endotélio. Por sua vez, a IL-6 é um importante mediador da inflamação, estimulando a proliferação de células B, auxiliando na resposta humoral (MACKAY et al., 1993). Tem sido descrito um aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α nas PBMC de pacientes HAM/TSP, bem como da citocina IL-6 no líquido cefalorraquidiano quando comparado com PBMC de portadores assintomáticos (NISHIMOTO et al., 1990; KUBOTA et al., 1998). Em nosso estudo não observamos maiores concentrações da citocina IL-6 em pacientes com DIH, nem em pacientes com a DIH/HAM/TSP ou em pacientes com a HAM/TSP, comparados com os portadores assintomáticos, o que pode nos sugerir que nesta faixa etária, a IL-6 não esteja assumindo papel importante no desenvolvimento das doenças, uma vez que o tempo de convivência com o vírus é menor. Da mesma forma, o TNF- α pode estar contribuindo com a resposta citotóxica contra as células infectadas por estimular a adesão leucocitária. Nos portadores do HTLV-1, o aumento nas concentrações da citocina IL-4, comparado com os indivíduos saudáveis, pode favorecer a supressão da inflamação, uma vez que possui função anti-inflamatória por estimular a produção de anticorpos (YAMANO et al., 2009).

Já foram reportados também maiores níveis séricos de CCL-22 em portadores assintomáticos adultos, pacientes de HAM/TSP e ATLL comparados com indivíduos não infectados (TOULZA et al., 2010). Também foi reportado que linhagens celulares infectadas com o HTLV-1 secretam grandes quantidades de CCL-22 e atraem células T que expressam CCR4, podendo explicar a transmissão preferencial do vírus em células CD4+CCR4+ (HIESHIMA et al., 2008). Foi sugerido recentemente que o CCL-22 induzida pelo HTLV-1

manteria uma frequência alta de CD4+FoxP3+, o que contribuiria na persistência do HTLV-1 ao diminuir a resposta citotóxica contra o HTLV-1 (TOULZA et al., 2008; TOULZA et al., 2010). Deste modo, esperávamos maior concentração de CCL-22 nos portadores do HTLV-1 a respeito dos indivíduos não infectados. Neste estudo realizado por Toulza, os valores de mediana de concentração da quimiocina CCL-22 nos grupos de indivíduos infectados pelo HTLV-1 foram similares aos valores encontrado em nosso estudo, contudo, ao observarmos os indivíduos saudáveis sem a infecção nos dois estudos, percebemos que o referido grupo do estudo de Toulza apresentou menor mediana que o grupo em nosso estudo. Esta observação pode estar relacionada com o fator idade, uma vez que os indivíduos do estudo de Toulza eram adultos, enquanto em nosso estudo os indivíduos estão na faixa etária infanto-juvenil, contudo são necessárias mais análises que permitissem avaliar o fator idade neste grupo.

No grupo de portadores assintomáticos, observamos que a citocina IL-17 apresentou-se em menores valores de concentração que em indivíduos saudáveis sem a infecção, o que também foi observado em pacientes adultos por Leal e colaboradores (2013) podendo estar relacionado com mecanismos de supressão de células Th17 nos portadores assintomáticos (LEAL et al., 2013). Contrariamente, em nosso estudo, esta citocina esteve em maiores concentrações nos pacientes com a DIH ou com a DIH/HAM/TSP, o que pode estar relacionado com a resposta pró-inflamatória associada à esta citocina. Embora tem sido apontado este mecanismo em pacientes HAM/TSP ou em portadores do HTLV-1, nossos resultados indicam que pacientes jovens com a HAM/TSP apresentam valores de concentração da IL-17 similares ao encontrado no grupo de portadores assintomáticos (ELAIN et al., 2014; SARKIS et al., 2013).

A DIH é uma doença inflamatória sistêmica associada ao HTLV-1, que se caracteriza principalmente pela aparição de lesões cutâneas eritemato-descamativas e crostosas em áreas determinadas do corpo (MORENO-CARVALHO et al., 1992; NAKAGAWA, 1995; LAGRENADE et al., 1998, OLIVEIRA et al., 2005). A sua clínica é similar à da dermatite atópica e frequentemente é necessário o diagnóstico diferencial entre ambas as dermatites. A maior concentração plasmática das citocinas IL-2, IL-8, IL-17 e IL-10 nos pacientes com a DIH em comparação aos portadores assintomáticos parecem sugerir o estabelecimento de uma resposta pró-inflamatória acompanhada da produção de citocinas anti-inflamatórias. De maneira interessante, não houve diferenças significantes nas concentrações destas citocinas entre os grupos de pacientes com DIH e o grupo de pacientes com DIH/HAM/TSP, sugerindo que a manifestação adicional da mielopatia não influi na regulação das mesmas. De forma

parecida, Starling e colaboradores (2013) não observaram diferenças nos níveis plasmáticos de IL-2 e IL-10 entre os portadores assintomáticos e os pacientes de HAM/TSP adultos.

O fato das concentrações das citocinas IL-8 e IL-10 terem correlacionado com a carga proviral parece sugerir que a produção destas citocinas estejam ocorrendo em resposta ao número de células infectadas, que principalmente são células T CD4⁺ infectadas. Já foi mostrado que a proteína viral Tax pode transativar o gene da IL-8, aumentando sua expressão com o auxílio de fatores transcricionais em linhagens celulares (MORI et al., 1995; MORI et al., 1998; ZHANG et al., 2000).

Neste grupo, as maiores concentrações plasmáticas das citocinas IL-2 e IL-8 pode sugerir que nos pacientes com a DIH estas citocinas participam de alguma maneira na patogênese da doença. As células infectadas se caracterizam por ter aumento na expressão de CD25, receptor da IL-2, induzida pela *Tax* (INOUE et al., 1986; YAMANO et al., 2009). Desta forma a IL-2 poderia estar relacionada com um estímulo à linfoproliferação de células T infectadas, como foi encontrada em portadores assintomáticos adultos (STARLING et al., 2010). Em nosso estudo, não observamos correlação entre os níveis de IL-2 e a carga proviral em nenhum dos grupos, o que pode sugerir que, a IL-2 tenha um papel na proliferação não apenas de células infectadas, mas de toda população de células T e que não se relaciona com o número de células infectadas na amostra analisada. Quanto à citocina IL-8, as maiores concentrações poderiam estar auxiliando na migração de linfócitos, uma vez que para esta citocina possui atividade quimiotática (descrita hoje como quimiocina CxCL8) além de ser um grande mediador na resposta inflamatória dérmica, estimulando a divisão dos queratinócitos, podendo explicar quadros de paraceratose e hiperkeratose característicos da DIH, como mostrados por Bittencourt e Oliveira (2005).

A respeito da IL-17 e a manifestação de DIH, tem sido descrito que a secreção desta citocina é realizado por células Th17, um subtipo de células T de memória, e parece ter um papel importante na patogênese de doenças inflamatórias cutâneas, como a psoríase (HARRINGTON et al., 2005; ZABA et al., 2007). Pouco se conhece sobre o papel das células Th17 na infecção pelo HTLV-1 e os poucos trabalhos disponíveis foram feitos na HAM/TSP do adulto, onde foram observados maiores níveis de RNA de IL-17 em PBMC de pacientes com esta mielopatia quando comparados com portadores assintomáticos após cultivo *ex vivo* (SARKIS et al., 2013). Esta citocina também parece ter um papel importante no mecanismo de defesa do hospedeiro contra infecções bacterianas, como a do *Staphylococcus aureus*, bactéria encontrada com muita frequência nas lesões de pacientes de DIH (ISHIGAME et al., 2009; CHO et al., 2010; AUJLA et al., 2008). Na Dermatite Atópica, patologia com

sintomatologia muito similar à DIH e na qual também é encontrada infecção por *S aureus*, foi observada expressão elevada de IL-17, a qual foi relacionada com o remodelamento tecidual (BATISTA et al., 2014; SIMON et al., 2014). Desta forma, a maior produção desta citocina nos pacientes com a DIH pode também ocorrer em resposta à infecção bacteriana, contudo, esse aumento nas concentrações plasmáticas, pode contribuir com a patogênese da DIH ou com a ativação da inflamação nestes pacientes como já relatado em pacientes com a HAM/TSP (ELAIN et al., 2014; SARKIS et al., 2013). O quadro dermatológico dos pacientes de DIH não se modifica pelo fato de manifestar HAM/TSP, apresentando lesões cutâneas similares e também infectas pelo *S. aureus*. Esta semelhança no quadro dermatológico entre estes dois grupos poderia explicar os níveis similares observados para a IL-17 nos dois grupos.

Na avaliação da citocina IL-4, houve apenas uma tendência a maiores medianas de concentração no grupo de pacientes com a DIH e no grupo com a DIH/HAM/TSP. Assim, nossos resultados podem ser um indicativo de que nestes pacientes esteja ocorrendo uma tentativa de imunomodulação para reestabelecer o equilíbrio imunológico. Este mecanismo foi sugerido por Brito-Melo e colaboradores (2013) para pacientes com HAM/TSP quando avaliaram os níveis intracelulares desta citocina em células CD4+ circulantes.

A HAM/TSP também é uma doença inflamatória sistêmica, porém se caracteriza pelo acometimento do sistema nervoso central com dano tecidual no cordão espinhal (MORENO-CARVALHO et al., 1992; NAKAGAWA, 1995; LAGRENADE et al., 1998, OLIVEIRA et al., 2005). O desconhecimento que ainda se tem sobre a HAM/TSP na faixa infante-juvenil, nos levou a incluir um grupo, ainda que pequeno, de pacientes que manifestaram simultaneamente a DIH e a HAM/TSP nesta faixa etária e um grupo menor de pacientes que desenvolveram apenas a HAM/TSP. Deste modo, os resultados obtidos para estes grupos terão que ser confirmados com um maior número de pacientes incluídos. A manifestação adicional de HAM/TSP nos pacientes de DIH se relacionou no nosso estudo com uma diminuição da quimiocina CCL-27 e com um aumento de IL-1 β . A CCL-27 está associada com o direcionamento de linfócitos T de memória para a pele, participando da inflamação mediada por células T (MORALES et al., 1999, XIA et al., 2014; HOMEY et al., 2002), sendo possível que na manifestação da HAM/TSP em pacientes com DIH a diminuição desta quimiocina no plasma possa favorecer o direcionamento de linfócitos T CD4+ e CD8+ para o SNC, porém isto ainda precisa ser melhor investigado. Como já discutido, estudos de populações linfocitárias circulantes seriam necessários para poder avaliar melhor esta relação com a DIH/HAM/TSP. Na manifestação da HAM/TSP em pacientes com a DIH, o aumento

nas concentrações plasmáticas da citocina IL-1 β , pode favorecer a expressão de moléculas de adesão no endotélio e a transmigração de linfócitos sobre a barreira hemato-encefálica com a destruição de astrócitos (KURODA et al., 1993; FERRARI et al., 2004). Como este aumento nos níveis desta citocina ocorreu na comparação do grupo de manifestação simultânea de DIH e HAM/TSP em referência aos grupos DIH e HAM/TSP, sugere-se estar relacionado com algum mecanismo da co-manifestação destas duas patologias.

Embora a citocina IL-12p70 seja apontada como um importante estímulo à produção de INF- γ , como também importante papel em melhorar a resposta das células CD8+ (TRINCHIERI, 2003; ENOSE-AKAHATA et al., 2008), nossos resultados parecem indicar que a referida citocina não esteja participando nas condições experimentais analisadas da resposta imune contra a infecção pelo HTLV-1.

Como já discutido anteriormente, a menor concentração da citocina IL-8 no grupo de pacientes com a HAM/TSP quando comparado com o grupo DIH e com o grupo DIH/HAM/TSP, pode estar relacionado com a migração de linfócitos, papel executado por esta citocina, atuando então como mediadora na resposta inflamatória dérmica estando envolvida com a patogênese da DIH (MORI et al., 1995). Assim, este aumento na produção da IL-8 no grupo DIH/HAM/TSP estaria mais relacionado com a DIH do que com a HAM/TSP ou com algum mecanismo da co-manifestação.

A maior parte das correlações observadas entre as citocinas e quimiocinas estudadas são moderadas e ocorrem nos portadores de HTLV-1. Isto provavelmente se relaciona à própria existência de uma resposta imune orquestrada contra o vírus. As correlações fortes observadas nos portadores assintomáticos entre a IL-2 e as citocinas anti-inflamatórias IL-4 e IL-10 poderiam estar relacionadas com um equilíbrio entre a resposta pro e anti-inflamatória, o que poderia estar contribuindo com uma carga proviral baixa e um quadro clínico assintomático. Isto estaria de acordo com o relatado por Brito-Melo e colaboradores (2007). Na DIH e na DIH com manifestação simultânea de HAM/TSP onde parece ocorrer uma maior desregulação desta resposta, foram encontradas correlações entre a IL-2, a IL-6, a IL-10, todas se correlacionando de forma negativa com o INF- α , o que não é visto ocorrer no grupo de pacientes com a HAM/TSP, sugerindo que estas correlações possam ser devido à algum mecanismo relacionado com a patogênese da DIH. Deste modo, este equilíbrio, observado nos portadores assintomáticos, poderia não acontecer de maneira tão efetiva nestes grupos. Existem diferenças em algumas das correlações detectadas entre o grupo de pacientes com DIH, entre o grupo de pacientes com DIH/HAM/TSP e entre o grupo de pacientes com a HAM/TSP, sugerindo que a manifestação adicional de HAM/TSP em pacientes de DIH leva a

indução de mecanismos imunológicos parcialmente diferentes do observado na DIH ou na HAM/TSP.

Nossos dados indicam que o desenvolvimento da DIH se relaciona com um aumento da carga proviral. Estes resultados estão de acordo com Primo e colaboradores (2005), que mostraram maior carga proviral nos pacientes de DIH quando comparados com portadores assintomáticos adultos (Primo et al., 2005). O diferencial neste trabalho é a comparação da carga proviral entre grupos na faixa etária infanto-juvenil e portanto, com um tempo de infecção menor. Além disso, na manifestação adicional de HAM/TSP nos pacientes com esta dermatite incrementa ainda mais este parâmetro, uma vez que elevados níveis de carga proviral foram relacionados na literatura com um fator de risco no desenvolvimento da HAM/TSP em adultos (Taylor, 1999). Contrariamente, encontramos no grupo de pacientes com a HAM/TSP cargas provirais menores que a observada no grupo de pacientes com a DIH e no grupo de pacientes com a DIH/HAM/TSP. Este resultado é inesperado e não temos explicação para o mesmo. Precisaremos aumentar o número de indivíduos com manifestação de HAM/TSP neste análise e, confirmando o resultado, ampliar o estudo para tentar entender porque na faixa infanto-juvenil a manifestação de HAM/TSP não se relaciona com um aumento da carga proviral.

7.2 CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE CITOCINAS E QUIMIOCINAS NA REMISSÃO DA DIH E NA MANIFESTAÇÃO DA DIH/HAM/TSP

O número de pacientes incluídos na comparação das concentrações plasmáticas nos pacientes DIH em atividade e quando estes entraram em remissão foi muito pequeno, o que não permite ampla discussão sobre os resultados. Ainda assim, foi possível observar um aumento significativo na concentração da quimiocina CCL-27 quando o paciente de DIH entra em remissão. Este resultado foi inesperado pois acreditávamos que os níveis desta quimiocina seriam maiores na DIH e diminuiriam na remissão. Na dermatite atópica, a qual apresentam uma clínica muito parecida aos pacientes com DIH e também é crônica e recidiva na ausência de tratamento, foram observados níveis séricos elevados de CCL-27, que correlacionam com a severidade da doença, sugerindo existir um papel no processo inflamatório desta dermatite (KAKINUMA et al., 2003). Porém, os níveis desta quimiocina na DIH em atividade foram similares aos dos portadores assintomáticos e aumentaram quando as lesões cutâneas desapareceram. Em ambas as dermatites acontece presença de *Staphylococcus aureus* nas lesões, porém na dermatite atópica, há um infiltrado linfocitário nas lesões cutâneas de linfócitos T CD4+ e linfócitos T CD8+ enquanto na DIH a infiltração é principalmente CD8+

não funcional (OLIVEIRA et al., 2005), o que pode indicar não haver grande quantidade de células infectadas na lesão cutânea. Acreditamos que, na remissão da DIH, o aumento plasmático de CCL-27 pudesse levar para a migração de linfócitos T para a derme, participando da recuperação da integridade dérmica. Estudos do perfil de citocinas nas lesões e das populações celulares circulantes nestas duas condições clínicas (atividade e remissão) são necessários para maiores conclusões.

A manifestação da HAM/TSP em pacientes DIH se relacionou com uma diminuição dos níveis plasmáticos de TNF- α . Esta citocina é um mediador importante para o estabelecimento da inflamação estando envolvido na ativação de células do endotélio, o que pode auxiliar as células do sistema imune a migrarem do endotélio para os sítios de inflamação (TENDLER et al., 1991; STARLING et al., 2010). Já foi relatado a presença desta citocina apenas no líquido de pacientes HAM/TSP quando comparado com análises das concentrações séricas (KURODA et al., 1993), o que pode indicar a migração de células produtoras de TNF- α para o SNC. Estudos adicionais são necessários para poder esclarecer melhor este fenômeno.

7.3 LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVAS FUTURAS

Embora nossos resultados não sejam conclusivos, este estudo abre perspectivas para outros estudos do perfil de citocinas nas lesões dérmicas, bem como no líquido de pacientes com a DIH, com a DIH/HAM/TSP e com a HAM/TSP. Além disso, o grupo de pesquisa estará se empenhando em aumentar o número de indivíduos acompanhados para os futuros estudos realizados, uma vez que essa é uma dificuldade em estudos de doenças raras ou de baixa frequência na população.

Tendo em vista que os estudos de avaliação de citocinas e quimiocinas publicados na literatura se concentram em indivíduos adultos e em estudos de cultivos celulares, buscamos avaliar as concentrações plasmáticas das citocinas e quimiocinas nos indivíduos jovens infectados pelo HTLV-1, uma vez que avaliar as concentrações destas moléculas no sangue periférico sem estimulação pode nos dar resultados diferenciados acerca do perfil imunológico, facilitando até mesmo a identificação de um biomarcador para as patologias estudadas. Ainda assim, verificamos a extrema importância de ser realizado um estudo que avalie os tipos celulares e as redes de interação das citocinas estudadas, de forma a entender como estas citocinas estão interagindo e assumindo um papel na patogênese das doenças associadas ao HTLV-1.

Embora tenhamos conseguido discutir nossos resultados, neste estudo a avaliação da citocina IFN- γ mostrou-se inadequada para avaliação direta das concentrações plasmáticas devido às baixas concentrações encontradas no sangue periférico, os quais estiveram abaixo do nível de detecção, sendo necessário realizar avaliações do IFN- γ com outra metodologia ou até mesmo avaliar a produção desta citocina por estimulação *in vitro* de células. Ainda assim, demos continuidade a este estudo, pois a maior parte das amostras utilizadas foram provenientes de plasmas congelados em momentos anteriores de acompanhamento da coorte, da qual obtivemos os indivíduos para este estudo, não havendo mais possibilidades de repetir as avaliações das amostras dos períodos mais antigos.

8 CONCLUSÕES

- ✓ Existe uma desregulação imunológica na infecção pelo HTLV-1 na faixa infanto-juvenil, caracterizada por um aumento nas concentrações plasmáticas das citocinas IL-6, IL-2, L-4 e IL-10 e por uma redução nas concentrações plasmáticas da quimiocina CCL-22;
- ✓ Portadores assintomáticos preservam maior equilíbrio entre a resposta pró-inflamatória e anti-inflamatória, que junto com uma menor carga proviral, pode estar relacionado com a manutenção do quadro clínico assintomático.
- ✓ Pacientes com a DIH/HAM/TSP parecem exibir um descontrole imunológico parcialmente diferente dos pacientes que apresentam apenas a DIH ou a HAM/TSP, podendo estar relacionado com mecanismos da co-manifestação ainda desconhecidos.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A.K. et al. Functional diversity of helper T lymphocytes. **Nature**, v. 383, n. 6603, p. 787-793, 1996.
- AHUJA, J. et al. Induction of pro-inflammatory cytokines by human T-cell leukemia virus type-1 Tax protein as determined by multiplexed cytokine protein array analyses of human dendritic cells. **Biomedicine Pharmacotherapy**., v. 61, n. 4, p. 201-208, 2007.
- ALI, A. et al. Dendritic cells infected in vitro with human T cell leukaemia/lymphoma virus type-1 (HTLV-1); enhanced lymphocytic proliferation and tropical spastic paraparesis. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 94, n. 1, p. 32–37, 1993.
- ALLEN, S.J.; CROWN, S.E.; HANDEL, T.M. Chemokine: receptor structure, interactions, and antagonism. **Annual Review Immunology**; v. 25, p.787-820, 2007.
- ARAINGA, M.; MURAKAMI, H.; AIDA, Y. Visualizing spatiotemporal dynamics of apoptosis after G1 arrest by human T cell leukemia virus type 1 Tax and insights into gene expression changes using microarray-based gene expression analysis. **BMC Genomics**, v13, p275, 2012.
- ARAÚJO, A. P. et al. Juvenile human T lymphotropic virus type I-associated myelopathy. **Clinical Infectious Diseases**., v. 35, n. 2, p.201-204, 2002.
- ARAYA, N. et al. HTLV-1 induces a Th1-like state in CD4+CCR4+ T cells. **Journal Clinical Investigation**., v. 124, n. 8, p. 3431-3442, aug. 2014.
- ARAYA, N. et al. Human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and regulatory T cells in HTLV-1-associated neuroinflammatory disease. **Viruses**, v. 3, n. 9, p. 1532-1548, sep. 2011.
- ASQUITH, B. et al. In vivo T lymphocyte dynamics in humans and the impact of human T-lymphotropic virus 1 infection. **Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America**., v. 104, n. 19, p. 8035-8040, may. 2007.
- ASQUITH, et al. A functional CD8+ cell assay reveals individual variation in CD8+ cell antiviral efficacy and explains differences in human T-lymphotropic virus type 1 proviral load. **Journal Genetic Virology**., v. 86, Pt 5, p. 1515-1523, may. 2005.
- AUJLA, S.J. et al. IL-22 mediates mucosal host defense against Gramnegative bacterial pneumonia. **Nature Medicine**, v. 14, p. 275–281, 2008.
- AZAKAMI, K. et al. Severe loss of invariant NKT cells exhibiting anti-HTLV-1 activity in patients with HTLV-1-associated disorders. **Blood**, v. 114, n. 15, p. 3208–3215, 2009.

AZIMI, N. et al. How does interleukin 15 contribute to the pathogenesis of HTLV type 1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis? **AIDS Research Human Retroviruses**, Nov 1; v16(16), p1717-1722, 2000.

AZIMI, N. et al. Human T cell lymphotropic virus type I Tax protein transactivates interleukin 15 gene transcription through an NF-kappaB site. **Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America**, v. 95, n. 5, p. 2452-2457, 1998.

BABA, M. et al. Constitutive expression of various chemokine genes in human T-cell lines infected with human T-cell leukemia virus type 1: role of the viral transactivator Tax. **International Journal Cancer**, v. 66, n. 1, p. 124-129, 1996.

BANGHAM, C.R.; TOULZA, F. Adult T cell leukemia/lymphoma: FoxP3(+) cells and the cell-mediated immune response to HTLV-1. **Advances in Cancer Research**, v. 111, p. 163-182, 2011.

BANGHAM, C.R. Human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1): persistence and immune control. **International Journal of Hematology**, v. 78, n. 4, p. 297-303, 2003.

BARNARD, A.L. et al. Engagement of specific T-cell surface molecules regulates cytoskeletal polarization in HTLV-1-infected lymphocytes. **Blood**, v. 106, n. 3, p. 988-995, 2005.

BARROS, N. et al. CD4+ T cell subsets and Tax expression in HTLV-1 associated diseases. **Pathogens and Global Health**, v. 107, n. 4, p. 202-206, jun. 2013.

BARTHOLOMEW, C. et al. HTLV-1 serostatus of mothers of patients with adult T-cell leukemia and HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **Journal Human Virology**, v. 1, n. 4, p. 302-305, 1998.

BATISTA, D.I. et al. Profile of skin barrier proteins (filaggrin, claudins 1 and 4) and Th1/Th2/Th17 cytokines in adults with atopic dermatitis. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 29, n. 6, p.1091-1095, 2014.

BELLON, M. et al. Deregulation of microRNA involved in hematopoiesis and the immune response in HTLV-1 adultT-cell leukemia. **Blood**, v. 113, n. 20, p. 4914-4917, may. 2009.

BEZERRA, C.A. et al. Evaluation of the microbicidal activity and cytokines/chemokines profile released by neutrophils from HTLV-1-infected individuals. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 74, n. 3, p. 310-317, 2011.

BITTENCOURT, A.L. et al. Histopathological and immunohistochemical studies of infective dermatitis associated with HTLV-1. **European Journal of Dermatology**, v. 15, n. 1, p. 26-30, 2005.

BITTENCOURT, A. L. Vertical transmission of HTLV-1/II: a review. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v. 40, n. 4, p. 245-251, 1998.

BITTENCOURT, A. L. et al. Adult T-cell leukemia/lymphoma in Bahia, Brazil: analysis of prognostic factors in a group of 70 patients. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 128, p. 875-882, 2007.

BITTENCOURT, A. L. et al. Manifestações infanto-juvenis da infecção pelo vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV-I). **Jornal de Pediatria**, v.82, n. 6, 2006.

BITTENCOURT, A. L.; BARBOSA, H. S. et al. Adult T-cell leukemia/lymphoma with a mixed CD4+ and CD8+ phenotype and indolent course. **Journal Clinical Oncology**, v. 25, n. 17, p. 2480-2482, 2007

BITTENCOURT, A. L.; FARRE, L. Leucemia/linfoma de células T do adulto. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 83, n. 4, p. 351-359, 2008.

BITTENCOURT, A. L.; OLIVEIRA, M. F.; Dermatite infecciosa associada ao HTLV-I (DIH) infanto-juvenil e do adulto. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 80, Supl 3, p. 364-369, 2005.

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- α and guarantee asymptomatic clinical status during chronic HTLV-I infection. **Clinical Experimental Immunology**, v. 147, n. 1, p. 35-44, 2007.

BRITO-MELO, G.E. et al. Phenotypic study of peripheral blood leucocytes in HTLV-I-infected individuals from Minas Gerais, Brazil. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 55, n. 6, p. 621-628, 2002.

BUDAGIAN, V. et al. IL-15/IL-15 receptor biology: a guided tour through an expanding universe. **Cytokine Growth Factor Reviews**, v. 17, n. 4, p. 259-280, 2006

CAHILL, C.M.; ROGERS, J.T. Interleukin (IL) 1 β induction of IL-6 is mediated by a novel phosphatidylinositol 3-kinase-dependent AKT/I κ B kinase α pathway targeting activator protein-1. **Journal of Biology Chemistry**, v. 283, n. 38, p. 25900-25912, 2008.

CARROLL, H.P.; PAUNOVIC, V.; GADINA, M. Signalling, inflammation and arthritis: Crossed signals: the role of interleukin-15 and -18 in autoimmunity. **Rheumatology**, v. 47, n. 9, p. 1269-1277, 2008.

CARVALHO, E.M. et al. Cytokine profile and immunomodulation in asymptomatic human T-lymphotropic virus type 1-infected blood donors. **Journal Acquired Immune Deficiency Syndrome**, v. 27, n. 1, p. 1-6, may. 2001.

CATALAN-SOARES, B.; CARNEIRO-PROIETTI, A.B.; PROIETTI, F.A. Heterogeneous geographic distribution of human T-cell lymphotropic viruses I and II (HTLV-1/II): serological screening prevalence rates in blood donors from large urban areas in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, n. 3, p. 926-931, 2005.

CAVROIS, M. et al. Adult T-cell leukemia/lymphoma on a background of clonally expanding human T-cell leukemia virus type-1-positive cells. **Blood**, v. 88, n. 12, p. 4646-4650, dec. 1996.

CHENTOUF, M. et al. Possible protective effect of membrane lipid rafts against interleukin-1 β -mediated anti-proliferative effect in INS-1 cells. **PLoS One**, v. 9, n. 7, p. e102889, 2014. Disponível em: <doi: 10.1371/journal.pone.0102889, 2014>.

CHO, J.S. et al. IL-17 is essential for host defense against cutaneous *Staphylococcus aureus* infection in mice. **Journal Clinical Investigation**, v. 120, p. 1762–1773, 2010.

COELHO-DOS-REIS, J. G. Immunological profile of HTLV-1-infected patients associated with infectious or autoimmune dermatological disorders. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 7, p. e2328, 2013.

COUTINHO, R. et al. Human T lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) proviral load induces activation of T-lymphocytes in asymptomatic carriers. **BMC Infectious Diseases**, v. 22, n. 14, p. 453, aug. 2014.

DE CASTRO-COSTA et al. Proposal for diagnostic criteria of tropical spastic paraparesis/HTLV-I-associated myelopathy (TSP/HAM). **AIDS Reseach Human Retroviruses**, v. 22, n. 10, p. 931-935, out. 2006.

DE LA FUENTE, L. et al. HTLV infection among young injection and non-injection heroin users in Spain: prevalence and correlates. **Journal Clinical Virology**, v. 35, n. 3, p. 244-249, mar. 2006.

DE MAEYER, E.; DE MAEYER-GUIGNARD, J. Interferon-gamma. **Current Opinion of Immunology**, v. 4, n. 3, p. 321-326, 1992.

DIEHL, S. et al. The two faces of IL-6 on Th1/Th2 differentiation. **Molecular Immunology**. v. 39, n. 9, p. 531-536, dec. 2002.

DINARELLO, C.A. Biologic basis for interleukin-1 in disease. **Blood**, v. 87, n. 6, p. 2095-2147, 1996.

DODON, M.D. et al. Tax protein of human T-cell leukaemia virus type 1 induces interleukin 17 gene expression in T cells. **Journal Genetic Virology**, v. 85, n. 7, p. 1921-1932, 2004.

DONEGAN, E. et al. Transfusion transmission of retroviruses: human T-lymphotropic virus types I and II compared with human immunodeficiency virus type 1. **Transfusion**, v. 34, n. 6, p. 478-483, jun. 1994.

DUYNE, R. V, et al. Localization and Sub-Cellular Shuttling of HTLV-1 Tax with the miRNA Machinery. **PLoS One**, v. 7, n. 7, p. e40662, 2012.

ELAIN, G. et al. The selective anti-IL17A monoclonal antibody secukinumab (AIN457) attenuates IL17A-induced levels of IL6 in human astrocytes. **Glia**, v. 62, n. 5, p.725-735, may. 2014.

ENOSE-AKAHATA, Y et al. Humoral immune response to HTLV-1 basic leucine zipper factor (HBZ) in HTLV-1-infected individuals. **Retrovirology**, v. 10, n. 19, feb. 2013.

ENOSE-AKAHATA, Y. et al. Retrovirally induced CTL degranulation mediated by IL-15 expression and infection of mononuclear phagocytes in patients with HTLV-I-associated neurologic disease. **Blood**, v. 112, n. 6, p. 2400–2410, sep. 2008.

ETOH. K, et al. Persistent clonal proliferation of human T-lymphotropic virus type I-infected cells in vivo. **Cancer Research**, v. 57, n. 21, p. 4862-4867, nov. 1997.

FARRE, L. et al. Early Sequential Development of Infective Dermatitis, Human T Cell Lymphotropic Virus Type 1–Associated Myelopathy, and Adult T Cell Leukemia/Lymphoma. **Clinical Infectious Diseases**, v. 46, n. 3, p. 440-442, 2008.

FEHNIGER T. A.; CALIGIURI, M.A. Interleukin 15: biology and relevance to human disease. **Blood**, 97(1): 14-32. 2001

FERRARI, C.C. et al. Reversible demyelination, blood-brain barrier breakdown, and pronounced neutrophil recruitment induced by chronic IL-1 expression in the brain. **The American Journal of Pathology**, v. 165, n. 5, p. 1827-1837, nov. 2004.

FOSSIEZ F. et al. T cell interleukin-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. **Journal Experimental Medicine**. 183, 2593–2603, 1996.

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

FUKUSHIMA, N. et al. Blockade of IL-2 receptor suppresses HTLV-I and IFN-gamma expression in patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **International Medicine**, v. 46, n. 7, p. 347-351, 2007.

FURUKAWA, Y. et al. Different cytokine production in tax-expressing cells between patients with human T cell lymphotropic virus type I (HTLV-I)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis and asymptomatic HTLV-I carriers. **Journal Infectious Diseases**, v. 187, n. 7, p. 1116-1125, apr. 2003.

FURUYA T, et al. Elevated levels of interleukin-12 and interferon-gamma in patients with human T lymphotropic virus type I-associated myelopathy. **Journal of Neuroimmunology**, v. 95, n. 1-2, p. 185-189, 1999.

FUZII, H.T. et al. Immunopathogenesis of HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). **Life Science**, v. 104, n. 1-2, p. 9-14, may. 2014.

GAUDRAY, G., et al. The complementary strand of the human T-cell leukemia virus type 1 RNA genome encodes a bZIP transcription factor that down-regulates viral transcription. **Journal of Virology**, v. 76, n. 24, p. 12813-12822, 2002.

GESSAIN, A.; CASSAR, O. Epidemiological Aspects and World Distribution of HTLV-1 Infection. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, n. 3, p. 388, 2012.

GESSAIN, A.; GALLO, R.C.; FRANCHINI, G. Low degree of human T-cell leukemia/lymphoma virus type I genetic drift in vivo as a means of monitoring viral transmission and movement of ancient human populations. **Journal of Virology**, v. 66, n. 4, p. 2288-2295, 1992.

GILLITZER, R. et al. Upper keratinocytes of psoriatic skin lesions express high levels of NAP-1/IL-8 mRNA in situ. **Journal Investigation Dermatology**, v. 97, n. 1, p. 73-79, 1991.

GONCALVES, D.U. et al. HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) inflammatory network. **Inflammation Allergy Drug Targets**, v. 7, n. 2, p. 98-107, 2008.

GOON, P. K. C. et al. Human T cell lymphotropic virus (HTLV) type-1-specific CD8+ T cells: frequency and immunodominance hierarchy. **Journal of Infectious Diseases**, v. 189, n. 12, p. 2294-2298, 2004

GOON, P. K. C. et al. Human T cell lymphotropic virus type I (HTLV-1)-specific CD4+ T cells: immunodominance hierarchy and preferential infection with HTLV-1. **Journal of Immunology**, v. 172, n. 3, p. 1735-1743, 2004.

GOON, P.K.C. et al. High Circulating frequencies of tumor necrosis factor alpha- and interleukin-2-secreting human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-specific CD4+ T-cells in patients with HTLV-1-associated neurological disease. **Journal of Virology**, v. 77, n. 17, p. 9716-9722, sep. 2003.

GRETEN, T. F. et al., Direct visualization of antigen-specific T cells: HTLV-1 Tax11-19-specific CD8+ T cells are activated in peripheral blood and accumulate in cerebrospinal fluid from HAM/TSP patients. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, n. 13, p. 7568-7573, 1998.

GUERREIRO, J.B. et al. Spontaneous neutrophil activation in HTLV-1 infected patients. **Braz Journal Infectious Diseases**, v. 9, n. 6, p. 510-514, 2005.

HANAMSAGAR, R. et al. Toll-like receptor (TLR) and inflammasome actions in the central nervous system. **Trends immunol., Oxford**, v. 33, n. 7, p. 333-342, 2012

HANCHARD, B, L.A. et al. Childhood infective dermatitis evolving into adult T-cell leukaemia after 17 years. **Lancet**, v. 338, n. 8782-8783, p. 1593-1594, 1991.

HANON, E. et al. CR. High production of interferon gamma but not interleukin-2 by human T-lymphotropic virus type I-infected peripheral blood mononuclear cells. **Blood**, v. 98, n. 3, p. 721-726, 2001.

HARADA, A. et al. Essential involvement of interleukin-8 (IL-8) in acute inflammation. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 56, n. 5, p. 559-564, 1994.

HARRINGTON, L.E. et al. Interleukin 17-producing CD4⁺ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. **Nature Immunology**, v. 6, n. 11, p. 1123-1132, nov. 2005.

HAYASHI, D. et al., Reduced Foxp3 expression with increased cytomegalovirus-specific CTL in HTLV-1-associated myelopathy. **Journal of Neuroimmunology**, v. 200, n. 1-2, p. 115-124, 2008.

HAYES, D.P. et al. Expression of Epstein-Barr virus (EBV) transcripts encoding homologues to important human proteins in diverse EBV associated diseases. **Molecular Pathology**, v. 52, n. 2, p. 97-103, 1999.

HIESHIMA, K. et al. Tax-inducible production of CC chemokine ligand 22 by human T cell leukemia virus type 1 (HTLV-1)-infected T cells promotes preferential transmission of HTLV-1 to CCR4-expressing CD4⁺ T cells. **Journal of Immunology**, v. 180, n. 2, p. 931-939, jan. 2008.

HIGUCHI, M. et al. Downregulation of proapoptotic Bim augments IL-2-independent T-cell transformation by human T-cell leukemia virus type-1 Tax. **Cancer Medicine**, v. 3, n. 6, p. 1605-1614, 2014.

HLELA, C. et al. The prevalence of human T-cell lymphotropic virus type 1 in the general population is unknown. **AIDS Review**, v. 11, n. 4, p. 205-214, oct-dec. 2009.

HÖLLSBERG, P. et al. Characterization of HTLV-1 in vivo infected T cell clones. IL-2-independent growth of nontransformed T cells. **Journal of Immunology**, v. 148, n. 10, p. 3256-3263, 1992.

HOMEY, B. et al. CCL27-CCR10 interactions regulate T cell-mediated skin inflammation. **Nature Medicine**, v. 8, n. 2, p. 157-165, 2002.

IGAKURA, T. et al. Spread of HTLV-1 between lymphocytes by virus-induced polarization of the cytoskeleton. **Science**, v. 299, n. 5613, p. 1713-1716, 2003.

INAGAKI, A. et al. Clinical significance of serum Th1-, Th2- and regulatory T cells-associated cytokines in adult T-cell leukemia/lymphoma: high interleukin-5 and -10 levels are

significant unfavorable prognostic factors. **International Journal of Cancer**, v. 118, n. 12, p. 3054-3061, jun. 2006.

INOUE, J. et al Induction of interleukin 2 receptor gene expression by p40x encoded by human T-cell leukemia virus type 1. **The EMBO Journal**, v. 5, n. 11, p. 2883-2888, nov. 1986.

ISHIGAME, H. et al. Differential roles of interleukin-17A and -17F in host defense against mucoepithelial bacterial infection and allergic responses. **Immunity**, v. 30, p. 108–119, 2009.

IWASAKI, Y. Pathology of chronic myelopathy associated with HTLV-1 infection (HAM/TSP). **Journal Neurology Science**, v. 96, n. 1, p.103-123, 1990.

IWASAKI, Y. et al. Infiltration of helper/inducer T-lymphocytes heralds central nervous system damage in human T-cell leukemia virus infection. **The American Journal Pathology**, v. 140, p. 1003–1008, 1992.

JACOBSON, S. et al. Circulating CD8+ cytotoxic T lymphocytes specific for HTLV-I pX in patients with HTLV-I associated neurological disease. **Nature**, v. 348, n. 6298, p. 245-248, nov. 1990.

JEANG, K.T. et al. Life, death, and tax: role of HTLV-1 oncoprotein in genetic instability and cellular transformation. **The Journal of Biology Chemistry**, v. 279, n. 31, p. 31991-31994 2004.

JIN, Q. et al. Infection of CD4+ T lymphocytes by the human T cell leukemia virus type 1 is mediated by the glucose transporter GLUT-1: evidence using antibodies specific to the receptor's large extracellular domain. **Virology**, v. 349, n. 1, p. 184-196, 2006.

JONES, K.S. et al. Heparan sulfate proteoglycans mediate attachment and entry of human T-cell leukemia virus type 1 virions into CD4+ T cells. **Journal of Virology**, v. 79, n. 20, p. 12692-12702, 2005.

JOVANOVIC, D. V. et al. IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL-6 and TNF- α , by human macrophages. **Journal of Immunology**, v. 160, p. 3513–3521, 1998.

KAI H, et al. CCR10 and CCL27 are overexpressed in cutaneous squamous cell carcinoma. **Pathology, Research and Practice**, v207(1), p43-48, 2011.

KAJIYAMA, W. et al. Intrafamilial transmission of adult T cell leukemia virus. **Journal of Infectious Diseases**, v. 154, n. 5, p. 851-857, 1986.

KAKINUMA T. et al. Increased serum cutaneous T cell-attracting chemokine (CCL27) levels in patients with atopic dermatitis and psoriasis vulgaris. **Journal Allergy Clinical Immunology**, v. 111, n. 3, p. 592-5977, mar. 2003.

KANNAGI, M. et al., Predominant recognition of human T cell leukemia virus type I (HTLV-1) pX gene products by human CD8⁺ cytotoxic T cells directed against HTLV-1-infected cells. **International Immunology**, v. 3, n. 8, p. 761-767, 1991.

KARAKAWA, M. et al. CCL27 is downregulated by interferon gamma via epidermal growth factor receptor in normal human epidermal keratinocytes. **Journal of Cell Physiology**, v. 229, n. 12, p. 1935-1945, 2014.

KATTAN, T. et al. The avidity and lytic efficiency of the CTL response to HTLV-1. **Journal of Immunology**, v. 182, n. 9, p. 5723-5729, may. 2009.

KCHOUR, G. et al. The combination of arsenic, interferon-alpha, and zidovudine restores an "immunocompetent-like" cytokine expression profile in patients with adult T-cell leukemia lymphoma. **Retrovirology**, v. 10, p. 91, aug. 2013.

KENNEDY M. K. et al. Reversible defects in natural killer and memory CD8 T cell lineages in interleukin 15-deficient mice. **Journal Experimental Medicine**. 191(5): 771-780. 2000.

KIRA, M. J.; NAKAMURA, T.; SAWADA, et al. Antibody titers to HTLV-1-p40tax protein and gag-env hybrid protein in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis: correlation with increased HTLV-1 proviral DNA load. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 107, n. 1, p. 98-104, 1992.

KOYANAGI, Y. et al. In vivo infection of human T-cell leukemia virus type 1 in non-T cells. **Virology**, v. 196, n. 1, p. 25-33, 1993

KUBOTA, R. T. et al. Demonstration of human T lymphotropic virus type I (HTLV-1) tax-specific CD8⁺ lymphocytes directly in peripheral blood of HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis patients by intracellular cytokine detection. **Journal of Immunology**, v. 161, n. 1, p. 482-488 1998.

KURODA, Y.; MATSUI, M. Cerebrospinal fluid interferon-gamma is increased in HTLV-1-associated myelopathy. **Journal of Neuroimmunology**, v. 42, n. 2, p. 223-226, 1993.

KURODA, Y. et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin-1 increase in cerebrospinal fluid, but not in serum, of HTLV-I-associated myelopathy. **Journal of Neuroimmunology**. v. 45, n. 1-2, p. 133-136, jun. 1993.

LA GRENADE, L. et al. Clinical, pathologic, and immunologic features of human T-lymphotrophic virus type I-associated infective dermatitis in children. **Archives of Dermatological Research**, v. 134, n. 4, p. 439-444, apr. 1998.

LA GRENADE, L. HTLV-1-associated infective dermatitis: past, present, and future. **Journal Acquired Immune Deficiency Syndrome Human Retrovirology**, v. 13, n. 1, p. 46-49, 1996.

- LAL, R.B.; RUDOLPH, D.L. Constitutive production of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha from spontaneously proliferating T cells in patients with human T-cell lymphotropic virus type-I/II. **Blood**, v. 78, n. 3, p. 571-574, 1991.
- LAL, R.B. et al. Differential immune responsiveness to the immunodominant epitopes of regulatory proteins (tax and rex) in human T-cell lymphotropic virus type I-associated myelopathy. **Journal of Infectious Diseases**, v. 169, n. 3, p. 496-503, 1994.
- LAMBERT, S. et al. HTLV-1 uses HSPG and neuropilin-1 for entry by molecular mimicry of VEGF165. **Blood**, v. 113, n. 21, p. 5176-5185, 2009.
- LARSON, T.A. et al. Interleukin-2 receptor targeted therapy of ocular disease of HTLV-1-associated adult T-cell leukemia. **Ocular Immunology and Inflammation**, v. 20, n. 4, p. 312-314, 2012.
- LEAL, F.E. et al. Expansion in CD39⁺ CD4⁺ immunoregulatory t cells and rarity of Th17 cells in HTLV-1 infected patients is associated with neurological complications. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 2, p. 2028, 2013.
- LIM, A.G. et al. HTLV-I infection: a dynamic struggle between viral persistence and host immunity. **Journal of Theoretical Biology**, v. 352, p. 92-108, jul. 2014.
- LI-WEBER, M. et al. Human T cell leukemia virus type I Tax enhances IL-4 gene expression in T cells. **European Journal Immunology**, v. 31, n. 9, p. 2623-2632, 2001.
- LODOLCE, J. P. et al. IL-15 receptor maintains lymphoid homeostasis by supporting lymphocyte homing and proliferation. **Immunity**, v. 9, n. 5, p. 669-676, 1998
- LUNA, T. et al. Effect of TNF- α production inhibitors on the production of pro-inflammatory cytokines by peripheral blood mononuclear cells from HTLV-1-infected individuals. **Brazilian Journal Medicine and Biology Research**, v. 44, n. 11, p. 1134-1140, oct. 2011.
- MACAIRE, H. et al. Tax protein-induced expression of antiapoptotic Bcl-1 protein contributes to survival of human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1)-infected T-cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 287, n. 25, p. 21357-21370, 2012.
- MACCHI, B. et al. Human Th1 and Th2 T-cell clones are equally susceptible to infection and immortalization by human T-lymphotropic virus type I. **Journal of Genetic Virology**, v. 79 n. 10, p. 2469-2474, 1998.
- MACKAY, F. et al. Tumor necrosis factor alpha (TNF- α)-induced cell adhesion to human endothelial cells is under dominant control of one TNF receptor type, TNF-R55. **Journal of Experimental Medicine**, v. 177, n. 5, p. 1277-1286, 1993.
- MAEDLER, K. et al. Low concentration of interleukin-1 β induces FLICE-inhibitory protein-mediated beta-cell proliferation in human pancreatic islets. **Diabetes**, v. 55, n. 10, p. 2713-2722, oct. 2006

- MALONEY, E.M. et al. Human T cell lymphotropic virus type I-associated infective dermatitis in Jamaica: a case report of clinical and biologic correlates. **Pediatric Infectious Diseases Journal**, v. 19, n. 6, p. 560-565, jun. 2000.
- MALONEY, E.M. et al. Human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) seroprevalence in Jamaica. II. Geographic and ecologic determinants. **The American Journal of Epidemiology**, v. 133, n. 11, p. 1125-1134, jun. 1991.
- MANEL, N, et al. The ubiquitous glucose transporter GLUT-1 is a receptor for HTLV. **Cell**, v. 115, n. 4, p. 449-459, 2003.
- MANUEL, S. L. et al. Presentation of human T cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) Tax protein by dendritic cells: the underlying mechanism of HTLV-1-associated neuroinflammatory disease. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 86, n. 5, p. 1205-1216, 2009.
- MATSUOKA, M. Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-1) infection and the onset of adult T-cell leukemia (ATLL). **Retrovirology**, v. 2, p. 27, 2005.
- MAZUROV, D. et al. Quantitative comparison of HTLV-1 and HIV-1 cell-to-cell infection with new replication dependent vectors. **PLoS Pathology**. v. 26, n. 2, p. e108, 2010.
- MENEZES, S.M. et al. CD80+ and CD86+ B cells as biomarkers and possible therapeutic targets in HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis and multiple sclerosis. **Journal Neuroinflammation**, v. 11, p. 18, 2014.
- MITCHELL, D. M.; RAVKOV, E.V.; WILLIAMS, M.A. Distinct roles for IL-2 and IL-15 in the differentiation and survival of CD8+ effector and memory T cells. **Journal of Immunology**, v. 184, n. 12, p. 6719-6730, jun. 2010.
- MOGENSEN, T.H.; PALUDAN, S.R. Molecular pathways in virus-induced cytokine production. **Microbiology and Molecular Biology Review**, v. 65, n. 1, p. 131-150, 2001.
- MONTANHEIRO, P.A. et al. The elevated interferon gamma production is an important immunological marker in HAM/TSP pathogenesis. **Scandinavian Journal Immunology**. v. 70, n. 4, p. 403-407, 2009.
- MORALES et al. CTACK, a skin-associated chemokine that preferentially attracts skin-homing memory T cells. **Proceedings of the National Academy of Science of the United State of America**, v. 96, p. 14470-14475, 1999.
- MORI, N. et al. Production of Interleukin 8 in Adult T-Cell Leukemia Cells: Possible Transactivation of the Interleukin 8 Gene by Human T-Cell Leukemia Virus Type I tax. **Cancer research**, v. 55, n. 16, p. 3592-3597, 1995.
- MOSMANN TR et al. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. **Journal of Immunology**, v. 175, n. 1, p. 5-14, jul. 1986.

MUNIZ, A.L. et al. Association of cytokines, neurological disability, and disease duration in HAM/TSP patients. **Arquivos Neuropsiquiatria**, v. 64, n. 2A, p. 217-221, 2006.

MURDOCH, C.; FINN, A. Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. **Blood**, v. 95, n. 10, p. 3032-3043, 2000.

MURPHY, C.A. et al. Divergent pro- and antiinflammatory roles for IL-23 and IL-12 in joint autoimmune inflammation. **Journal Experimental Medicine**, v. 198, n. 12, p. 1951-1957, dec. 2003.

NAGAI, M. et al. Increased activated human T cell lymphotropic virus type I (HTLV-1) Tax11-19-specific memory and effector CD8+ cells in patients with HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis: correlation with HTLV-1 provirus load. **Journal of Infectious Diseases**, v. 183, n. 2, p. 197-205, 2001.

NAGASATO, T. et al., Presence of serum anti-human T-lymphotropic virus type I (HTLV-1) IgM antibodies means persistent active replication of HTLV-1 in HTLV-1-associated myelopathy. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 103, n. 2, p. 203-208, 1991.

NARBUTT, J. et al. The imbalance in serum concentration of Th-1- and Th-2-derived chemokines as one of the factors involved in pathogenesis of atopic dermatitis. **Mediators Inflammatory**, v. 2009, n. 269541, p. 7, 2009.

NASCIMENTO, M.C. 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.

NDHLOVU, L. C. et al., Lower numbers of circulating natural killer T (NK T) cells in individuals with human T lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) associated neurological disease. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 158, n. 3, p. 294-299, 2009.

NEVA, F.A. et al. Interferon-gamma and interleukin-4 responses in relation to serum IgE levels in persons infected with human T lymphotropic virus type I and *Strongyloides stercoralis*. **Journal Infectious Diseases**, v. 178, n. 6, p. 1856-1859, 1998.

NISHIMOTO, N. et al. Elevated levels of interleukin-6 in serum and cerebrospinal fluid of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **Journal of Neurology Science**, v. 97, n. 2-3, p. 183-93, jul. 1990.

NOLZ, J. C.; HARTY, J.T. IL-15 regulates memory CD8+ T cell O-glycan synthesis and affects trafficking. **Journal of Clinical Investigation**, v. 124, n.3, 2014.

NOMURA, K. et al. A family predisposition to Adult T-Cell Leukemia. **Journal of Clinical and Experimental Hematopathology**, v. 46, n. 2, p. 67-71, 2006.

OH, U. et al. Reduced Foxp3 protein expression is associated with inflammatory disease during human T lymphotropic virus type 1 infection. **Journal of Infectious Diseases**, v. 193, n. 11, p. 1557-1566, 2006.

OHASHI, T. et al. Combined cytolytic effects of a vaccinia virus encoding a single chain trimer of MHC-I with a Tax-epitope and Tax-specific CTLs on HTLV-I-infected cells in a rat model. **Biomed Research International**, v. 2014, n. 902478, p. 13, 2014.

OKAJIMA, R.; CASSEB, J.; SANCHES, J.A. Co-presentation of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis and adult-onset infective dermatitis associated with HTLV-1 infection. **International Journal of Dermatology**, v. 52, n. 1, p. 63-68, jul. 2013.

OLIVEIRA, M. F. et al. Infective dermatitis associated with human T-cell lymphotropic virus type 1: evaluation of 42 cases observed in Bahia, Brazil. **Clinical Infectious Diseases**, v. 54, n. 12, p. 1714-1719, 2012. Disponível em: <doi: 10.1093/cid/cis273. Mar 30, 2012.

OLIVEIRA, M.F. et al. Infective dermatitis associated with the human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) in Salvador, Bahia, Brazil. **Clinical Infectious Diseases**, v. 40, p. 90-96, 2005.

PAIS-CORREIA, A.M. et al. Biofilm-like extracellular viral assemblies mediate HTLV-1 cell-to-cell transmission at virological synapses. **Nature Medicine**, v. 16, n. 1, p. 83-89, 2010.

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. **Proceeding National Academy Science of the USA**, v. 77, n. 12, p. 7415-7419, 1980.

POPOVIC, M. et al. Alteration of T-cell functions by infection with HTLV-I or HTLV-II. **Science**, v. 226, n. 4673, p. 459-462, 1984.

PRIMO, J.R. et al. Infective dermatitis and human T cell lymphotropic virus type 1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesia in childhood and adolescence. **Clinical Infectious Diseases**, v. 41, n. 4, p. 535-541, jul. 2005.

PRIMO, J.R. et al. Infective dermatitis and juvenile HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). **Clinical Infectious Diseases**, v. 41, 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 Medicine and Biology Research**, v. 42, n. 8, p. 761-764, 2009.

- PROIETTI, J. R. et al. Infective dermatitis and juvenile HTLV-I associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). **Clinical Infectious Diseases**, v. 41, p. 535-541, 2005;
- PROOYEN, N. V. et al. Human T-cell leukemia virus type 1 p8 protein increases cellular conduits and virus transmission. **Proceeding National Academy of Science of the U S A**. v. 107, n. 48, p. 20738-20743, 2010.
- RAHMAN, S. et al. HTLV-1 Tax mediated downregulation of miRNAs associated with chromatin remodeling factors in T cell with stably integrated viral promoter. **PLoS ONE**, v. 7, n. 4, p. e34490, 2012.
- RAPPL, G. et al. The CD7(-) subset of CD4(+) memory T cells is prone to accelerated apoptosis that is prevented by interleukin-15 (IL-15). **Cell Death Differ**. v. 8, n. 4, p. 395-402, 2001.
- RAUCH, D.A.; HARDING, J.C.; RATNER, L. IL-15 deficient tax mice reveal a role for IL-1 α in tumor immunity. **PLoS One**, v. 9, n. 1, p. e85028, 2014.
- RENGARAJAN, J. et al. Transcriptional regulation of Th1/Th2 polarization. **Immunology Today**, v. 21, n. 10, p. 479-483, oct. 2000.
- ROTHERWELL, N.J. Functions and mechanisms of interleukin 1 in the brain. **Trends Pharmacology Science**, v. 12, n. 11, p. 430-436, 1991.
- ROWAN, A.G.; BANGHAM, C.R. Is There a Role for HTLV-1-Specific CTL in Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma? **Leukocyte Research Treatment**, p. 391953, nov. 2012.
- SAITO, M.; BANGHAM, C.R. Immunopathogenesis of human T-cell leukemia virus type-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis: recent perspectives. **Leukocyte Research Treatment**, p. 259045. Feb. 2012.
- 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, 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. 145-151. nov. 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. 1809-1817, 2012.
- SARKIS, S. et al. Increased osteopontin expression in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) patient cells is associated with IL-17 expression. **Journal of Clinical Virology**, v. 58, n. 1, p. 295-298, 2013.

SATOU, Y. et al. HTLV-1 modulates the frequency and phenotype of FoxP3+CD4+ T cells in virus-infected individuals. **Retrovirology**, v. 9, p. 46, may. 2012.

SATOU, Y. et al. HTLV-1 basic leucine zipper factor gene mRNA supports proliferation of adult T cell leukemia cells. **Proceedings national Academy of Science of the USA.**, v. 103, n. 3, p. 720-725, 2006.

SEIKI, M. et al. Human adult T-cell leukemia virus: complete nucleotide sequence of the provirus genome integrated in leukemia cell DNA. **Proceedings National Academy of Science of the USA.**, v. 80, n. 12, p. 3618–3622, 1983.

SIMON, D. et al. Th17 cells and tissue remodeling in atopic and contact dermatitis. **Allergy**, v. 69, n. 1, p. 125-131, 2014.

SOARES, B.C.C.; CASTRO, M.S.M.; PROIETTI, F.A. Epidemiologia do HTLV-I/ II. In: PROIETTI, A.B. (Ed.) HTLV-I/II. **Cadernos Hemominas. Belo Horizonte: Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais**, 2000. p. 53-75. v. XI.

STANIC, B. et al. IL-10-overexpressing B cells regulate innate and adaptive immune responses. **Journal of Allergy Clinical Immunology**, S0091-6749, n. 14, p. 01045-8, sep. 2014.

STARBECK-MILLER, G.R.; XUE, H.H.; HARTY, J.T. IL-12 and type I interferon prolong the division of activated CD8 T cells by maintaining high-affinity IL-2 signaling in vivo. **Journal of Experimental Medicine**, v. 211, n. 1, p. 105–2010.1084, 2013.

STARLING, A.L. 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.

SUEMORI, K. et al. HBZ is an immunogenic protein, but not a target antigen for human T-cell leukemia virus type 1-specific cytotoxic T lymphocytes. **Journal of Genetic Virology**, v. 90, Pt. 8, p. 1806-1811, 2009.

SWEET, R.D. A pattern of eczema in Jamaica. **Brazilian Journal of Dermatology**, v. 78, n. 2, p. 93-100, 1966.

TAKASHIMA, H. et al. Cytokine production by endothelial cells infected with human T cell lymphotropic virus type I. **Annual Rheumatology Diseases**, v. 55, n. 9, p. 632-637, 1996.

TAKENOUCHE, Y. 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.

- TANAKA, Y. et al. Induction of ICAM-1 and LFA-3 by Tax1 of human T-cell leukemia virus type 1 and mechanism of down-regulation of ICAM-1 or LFA-1 in adult-T-cell-leukemia cell lines. **International Journal Cancer**, v60(4), p554-561, 1995.
- TANG, L. et al. Reduced prevalence of allergic disease in patients with multiple sclerosis is associated with enhanced IL-12 production. **Journal Allergy Clinical Immunology**, v. 102, n. 3, p. 428-435, 1998.
- TENDLER, C.L. et al. Cytokine induction in HTLV-1 associated myelopathy and adult T-cell leukemia: alternate molecular mechanisms underlying retroviral pathogenesis. **Journal Cell Biochemistry**, v. 6, n. 4, p. 302-311, 1991.
- THOULOZE, M.I.; ALCOVER, A. Can viruses form biofilms? **Trends Microbiology**, v. 19, n. 6, p. 257-262, 2011.
- TIEMESSEN, M.M. et al. CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells induce alternative activation of human monocytes/macrophages. **Proceedings National Academy of Science of the USA**, v. 104, n. 49, p. 19446-19451, 2007.
- TOLEDO-CORNELL, C. et al. Soluble IL-2 receptor and beta-2 microglobulin as possible serologic markers of neurologic disease in HTLV-1 infection. **Journal Medicine Virology**, v. 86, n. 2, p. 315-321, 2014.
- TOULZA, F. et al Human T-Lymphotropic Virus Type 1-Induced CC Chemokine Ligand 22 Maintains a High Frequency of Functional FoxP3⁺ Regulatory T Cells. **Journal Immunology**, v. 185, n. 1, p. 183-189, 2010.
- TOULZA, F. et al. High frequency of CD4+FoxP3+ cells in HTLV-1 infection: inverse correlation with HTLV-1-specific CTL response. **Blood**, v. 111, n. 10, p. 5047-5053, 2008.
- TRINCHIERI, G. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. **Nature Review Immunology**, v. 3, n. 2, p. 133-146, 2003.
- TRUJILLO ,J.M. et al. Seroprevalence and cofactors of HTLV-1 infection in Tumaco, Colombia. **AIDS Research Human Retroviruses**, v. 8, n. 5, p. 651-657, 1992.
- TSCHACHLER, E.; FRANCHINI, G. Infective dermatitis a pabulum for human T-lymphotrophic virus type I leukemogenesis? **Archives of Dermatology**, v. 134, p. 487-488, 1998.
- UMEHARA, F, et al. Immunocytochemical analysis of the cellular infiltrate in the spinal cord lesions in HTLV-1-associated myelopathy. **Journal of Neuropathology Experimental and Neurology**, v. 52, n. 4, p. 424-430, 1993.
- UMEHARA, F, et al. Cytokine expression in the spinal cord lesions in HTLV-1-associated myelopathy. **Journal of Neuropathology Experimental and Neurology**, v. 53, n. 1, p. 72-77, 1994.

UMEKITA, K. et al. Treatment with anti-tumor necrosis factor biologic agents in human T lymphotropic virus type I-positive patients with rheumatoid arthritis. **Arthritis Care Research**, v. 66, n. 5, p. 788-792, 2014.

VERBIST, K.C.; FIELD, M.B.; KLONOWSKI, K.D. Cutting edge: IL-15-independent maintenance of mucosally generated memory CD8 T cells. **Journal of Immunology**, v. 186, n. 12, 2011.

XIA, M. et al. CCR10 regulates balanced maintenance and function of resident regulatory and effector T cells to promote immune homeostasis in the skin. **Journal of Allergy Clinical Immunology**, v. 134, n. 3, p. 634-644.e10, sep. 2014.

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, p. e6517, aug. 2009.

YAMANO, Y. et al., Virus-induced dysfunction of CD4+CD25+ T cells in patients with HTLV-I-associated neuroimmunological disease. **Journal of Clinical Investigation**, v. 115, n. 5, p. 1361-1368, 2005.

YASUKAWA, H.; SASAKI, A.; YOSHIMURA, A. Negative regulation of cytokine signaling pathways. **Annual Review Immunology**, v. 18, p. 143-164, 2000.

YOSHIDA, M. Multiple viral strategies of htlv-1 for dysregulation of cell growth control. **Annual Review Immunology**, v. 19, p. 475-96, 2001.

YOSHIE, O. et al. Frequent expression of CCR4 in adult T-cell leukemia and human T-cell leukemia virus type 1-transformed T cells. **Blood**, v. 99, n. 5, p. 1505-1511, mar. 2002.

YOSHIOKA, A. et al. Neuropathological studies of the spinal cord in early stage HTLV-1-associated myelopathy (HAM). **Journal of Neurology and Neurosurg Psychiatry**, n. 9, p. 1004-1007, 1993.

YU, Y. F. et al. Natural killer (NK) cells in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis-decrease in NK cell subset populations and activity in HTLV-1 seropositive individuals. **Journal of Neuroimmunology**, v. 33, n. 2, p.121-128, 1991.

ZABA, L.C. et al. Amelioration of epidermal hyperplasia by TNF inhibition is associated with reduced Th17 responses. **Journal of Experimental Medicine**, v. 204, p. 3183-3194, 2007.

ZHANG, L.; SHARMA, V. Human T-cell lymphotropic virus type-I tax gene induces interleukin-8 secretion by autocrine mechanism and has No effect on interleukin-16 in transfected Jurkat cells. **Biochemistry and Biophysic Research Community**, v. 273, n. 3, p. 865-869, 2000.

ZHANG, Y. et al. TH1/TH2 cell differentiation and molecular signals. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 841, p. 15-44, 2014.

ZIMMERMANN, R. et al. A multicentre sero-behavioural survey for hepatitis B and C, HIV and HTLV among people who inject drugs in Germany using respondent driven sampling. **BMC Public Health**, v. 14, p. 845, aug. 2014.