

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS AGGEU MAGALHÃES
MESTRADO EM BIOCÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA EM SAÚDE

HEYTOR VICTOR PEREIRA DA COSTA NECO

ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO G-197A DO GENE *IL17* NA
INFEÇÃO PELO VÍRUS LINFOTRÓPICO DA CÉLULA T HUMANA TIPO 1
(HTLV-1)

RECIFE

2015

HEYTOR VICTOR PEREIRA DA COSTA NECO

**ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO G-197A DO GENE *IL17* NA
INFECÇÃO PELO VÍRUS LINFOTRÓPICO DA CÉLULA T HUMANA TIPO 1
(HTLV-1)**

Dissertação apresentada ao curso de Biociências e Biotecnologia em Saúde, do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Dr^a. Clarice Neuenschwander Lins de Moraes

Co-orientadora: Dr^a. Patrícia Muniz Mendes Freire de Moura

Recife

2015

Catálogo na fonte: Biblioteca do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

- N368e Neco, Heytor Victor Pereira da Costa.
Estudo de associação do polimorfismo G-197A do gene IL17 na infecção pelo Vírus Linfotrópico da Célula T Humana Tipo 1 (HTLV-1) / Heytor Victor Pereira da Costa Neco. - Recife: [s.n.], 2015.
74 p. : ilus.
- Dissertação (Mestrado Acadêmico em Biociências e Biotecnologia em Saúde) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz.
- Orientador: Clarice Neuenschwander Lins de Moraes.
Co-orientadora: Patrícia Muniz Mendes Freire de Moura.
1. Vírus Linfotrópico de Células T Humanas Tipo 1 – imunologia. II. Interleucina-17 - genética. Interleucina-17 - imunologia. I. Moraes, Clarice Neuenschwander Lins de. II. Moura, Patrícia Muniz Mendes Freire de. III. Título.

HEYTOR VICTOR PEREIRA DA COSTA NECO

**ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO G-197A DO GENE *IL17* NA
INFECÇÃO PELO VÍRUS LINFOTRÓPICO DA CÉLULA T HUMANA TIPO 1
(HTLV-1)**

Dissertação apresentada ao curso de Biociências e Biotecnologia em Saúde, do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências, para avaliação pela seguinte banca examinadora:

Data de aprovação: 26/02/2015

BANCA EXAMINADORA

Dr^a. Clarice Neuenschwander Lins de Morais
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fiocruz-PE

Dr^a. Virgínia Maria Barros de Lorena
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fiocruz-PE

Dr^a. Norma Lucena Cavalcanti Licínio da Silva
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fiocruz-PE

Aos meus pais, Bernadete e Severino.

Aos meus outros amores, Elisângela, Hugo e Helloysa.

Aos portadores do vírus HTLV.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me permitir realizar sonhos e acordar todos os dias com novos sonhos a ser realizados.

À Patrícia Moura, minha co-orientadora, por suas grandes ideias, por acreditar na minha capacidade, inserindo-me em diversos projetos e por fazer o elo entre eu e minha orientadora, Clarice Moraes, a quem também agradeço muito por ter aceitado me orientar, pela amizade e pelos esforços destinados ao projeto, em meio a tantas atividades que desenvolve. Aprendi, aprendo e ainda aprenderei muito com vocês.

À Vanessa Teixeira, colega de cursinho, primeira pessoa com quem falei no curso de ciências biológicas, amiga de universidade e amiga-orientadora pelas inúmeras vezes em que me tirou dúvidas, me ensinou estatística e a utilizar o Prisma, pelos eventos científicos e pela disposição de sempre em ajudar. Pode colocar isso no Lattes!

Ao Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães e Fundação Oswaldo Cruz, por terem cedido a infraestrutura necessária a realização dos experimentos, desde os equipamentos até parte dos reagentes, e também pela bolsa concedida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia em Saúde - CPqAM, pelos esforços em manter o programa com um bom conceito, pelos auxílios em eventos e por contribuir com a formação de novos pesquisadores.

À Universidade de Pernambuco, onde concluí a graduação e comecei a fazer ciência de fato, pela formação e pelos grandes professores com quem tive a oportunidade de estudar, em especial, Patrícia Moura e Marília Rocha, com as quais aprendi a olhar não apenas para a ciência de bancada, mas também para o lado da educação em ciência.

Agradeço ainda, aos meus amigos de ensino médio e graduação. Apesar de minha ausência em churrascos, festas e idas ao cinema, vocês colaboraram muito na minha caminhada. Um agradecimento especial aos BioLoucos Marcos, Allyson, Rui, Rivaldo, Amanda, Camila, Ana, Bete, Juli, Carlos, Fernanda, Amélia, Maeva, Vanessa, Wilka, Suzy e Paulinho.

Aos amigos de mestrado, em especial o pessoal do “WhoNever”: Cami, Neta, Ross, Klaris, Savirus, Râmulo e Paty. Como único biólogo entre vocês biomédicos, agradeço demais por ser tão bem acolhido e por todos os momentos, desde eventos científicos a shows, bares e cachaçadas em que fomos.

Aos outros amigos do CPqAM, especialmente os amigos do “obraPRIMA”, com quem aprendi e ri muito também. Veruska, Elisa, Lígia, Renan e João, muito obrigado pelos ensinamentos e por cada história engraçada que compartilhamos.

Além de dedicar esta dissertação aos meus pais, também os agradeço, pelo amor, carinho, disponibilidade e pela família maravilhosa que me presentearam. Pai, obrigado por ter me levado ao Aggeu no dia da prova de inglês da seleção do mestrado, enquanto os ônibus estavam paralisados. Eu não teria chegado aqui se não fosse o senhor, literalmente. Mãe, obrigado por confiar em mim e ser sempre a pessoa mais fantástica e maravilhosa que já conheci.

Agradeço aos meus irmãos, por todos os momentos de descontração e implicâncias. Hugo e Helloysa, vocês sabem que “a gente briga, mas a gente se ama”. Agradeço também a Maria Luisa, minha sobrinha, que ao longo de quase um ano, me permitiu acompanhar seu crescimento, desde o dia em que nasceu até as primeiras manhas e batidas na porta do quarto do tio. Obrigado por tudo!

Agradeço também a Elisângela, Lis, minha namorada, melhor amiga e maior ouvinte das coisas que se passam no meu dia-a-dia. Ela aprendeu tanto de HTLV quanto eu ao longo desses anos. Muito obrigado pelos conselhos, opiniões e todos os momentos junto, além das várias vezes em que você teve que ouvir “Amor, hoje não dá porque tenho que escrever!”.

Por último, mas nem um pouco menos importante, agradeço aos membros das bancas de qualificação, jornadas científicas e de antemão, a de defesa por contribuírem para a finalização deste trabalho.

*“A pesquisa básica é como atirar uma flecha
para o ar e, onde ela cair, pintar um alvo.”*

Homer Adkins Burton

NECO, Heytor Victor Pereira da Costa. **Estudo de associação do polimorfismo G-197A do gene *IL17* na infecção pelo Vírus Linfotrópico da Célula T Humana Tipo 1 (HTLV-1).** 2015. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Biociências e Biotecnologia em Saúde) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2015.

RESUMO

O Vírus Linfotrópico da célula T Humana Tipo 1 (HTLV-1) é o agente etiológico da paraparesia espástica tropical/mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP). Entretanto, o HTLV-1 não causa doença na maioria dos indivíduos, pois fatores genéticos individuais podem influenciar a resposta imune. Estudos mostram que polimorfismos de um único nucleotídeo (SNP) podem estar relacionados aos sintomas nos infectados, a exemplo de SNPs no gene da interleucina 17 (IL-17A), citocina com potente atividade pro-inflamatória. Nosso objetivo foi investigar a possível associação do polimorfismo G-197A no gene *IL17* com a presença de sintomas em portadores do HTLV-1. Para tanto, foram coletadas amostras de sangue periférico de 116 pacientes (29 sintomáticos, com HAM/TSP, e 87 assintomáticos) do Hospital Universitário Oswaldo Cruz com diagnóstico positivo para HTLV-1. Após a extração do DNA, a genotipagem do SNP G-197A foi realizada por PCR em tempo real, utilizando sondas TaqMan[®]. Os resultados não mostraram diferenças significativas na frequência alélica entre os grupos ($p=0.110$). Entretanto, a frequência do genótipo homozigoto AA foi maior nos sintomáticos do que nos assintomáticos quando comparada com o genótipo GG ($p=0.032$) e com os genótipos GG/AG ($p=0,0323$). Idade avançada ($p=0.0042$) e sexo feminino ($p=0.028$) também aparecem como fatores de risco no desenvolvimento da doença. Em acréscimo, através da detecção de citocinas por citometria de fluxo no soro de 64 pacientes, não foram detectadas concentrações mínimas de IL-17 em nenhuma das amostras. Porém, as maiores concentrações de IFN- γ e TNF- α foram encontradas nos pacientes HAM/TSP. Portanto, os resultados mostraram que a presença do genótipo AA provavelmente está associado ao desenvolvimento de HAM/TSP. Como perspectiva, para confirmar esses achados, é necessário verificar a frequência deste e de outros SNPs no gene *IL17* em uma população maior, a fim de compreender melhor a resposta presente na patogênese dos vírus HTLV.

Palavras-chave: Vírus Linfotrópico de Células T Humanas Tipo 1 - imunologia. Interleucina-17 - genética - imunologia.

NECO, Heytor Victor Pereira da Costa. **Association study of the G-197A polymorphism in the IL17 gene on infection by Infection of Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1)**. 2015. Dissertation (Academic Master's Degree in Bioscience and Biotechnology on Health) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2015.

ABSTRACT

The Human T cell Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1) is the causative agent of tropical spastic paraparesis / HTLV-1-associated myelopathy (HAM/TSP). However, HTLV-1 does not cause disease in most individuals because individual genetic factors may influence the immune response. Studies have shown that single nucleotide polymorphisms (SNPs) may be related to symptoms in infected, like SNPs in the interleukin 17 gene (IL-17A), a cytokine with potent proinflammatory activity. Our objective was to investigate the possible association of G-197A polymorphism in the IL17 gene with the presence of symptoms in individuals infected with HTLV-1. Peripheral blood samples from 116 patients (29 symptomatic suffering from HAM/TSP and 87 asymptomatic) of the Hospital Universitário Oswaldo Cruz diagnosed positive for HTLV-1 were collected. After extracting the DNA, the SNP genotyping 197A-G of IL17A gene was done by real time PCR using TaqMan® probes. The results showed no significant differences in allele frequencies between the groups ($p = 0.110$). However, the frequency of homozygous genotype AA was higher in the symptomatic than in the asymptomatic when compared to the GG genotype ($p = 0.032$) and the genotypes GG / AG ($p = 0.0323$). Advanced age ($p = 0.0042$) and female gender ($p = 0.028$) also appear as risk factors in disease development. In addition, by detection of cytokines by flow cytometry in the serum of 64 patients were not detected minimum concentrations of IL-17 in any of the samples. However, the highest concentrations of IFN- γ and TNF- α were found in HAM/TSP patients. Therefore, the results showed that the presence of AA genotype probably is associated with the development of HAM/TSP. As perspective, to confirm these findings, it is necessary to check the frequency of this and other SNPs in the IL17 gene in a larger population in order to better understand the response involved in the pathogenesis of HTLV.

Keywords: Human T-lymphotropic virus 1 - immunology. Interleukin-17 - genetics - immunology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura e genoma do HTLV-1	19
Figura 2	Ciclo de Replicação do HTLV-1	21
Figura 3	Prevalência do HTLV-1 no mundo	23
Figura 4	Prevalências do HTLV no Brasil de 1989 a 1996	25
Figura 5	Hipóteses de desenvolvimento da HAM/TSP pelo HTLV-1	30
Figura 6	Citocinas e receptores da Família IL-17	33
Figura 7	Níveis de IL-2 nos grupos estudados	46
Figura 8	Níveis de IFN- γ nos grupos estudados	47
Figura 9	Níveis de TNF- α nos grupos estudados	47
Figura 10	Níveis de IL-4, IL-6 e IL-10 nos grupos estudados	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Allo-SCT	Células-tronco Alogênicas
AMPc	Adenosina Monofosfato Cíclico
ATF	Fator Ativador de Transcrição
ATL	Leucemia/Linfoma de Células T do Adulto
bZIP	Zíper de Leucina Básico
CBA	Cytometric Bead Array
CBP	Proteína de Ligação à Proteína de Ligação Elemento de Resposta da Adenosina Monofosfato Cíclico
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CPqAM	Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães
CRE	Elemento de Resposta a Adenosina Monofosfato Cíclico
CREB	Proteína de ligação elemento de resposta da Adenosina Monofosfato Cíclico
CSF	Fluido Cérebro-espinhal
CXCL	Ligante de Quimiocina
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ELISA	Ensaio Imunoadsorvente Ligado à Enzima
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
FoxP3	Forkhead Box P3
GCA	Arterite de Células Gigantes
G-CSF	Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos
GLUT1	Transportador de Glicose 1
GVHD	Doença do Enxerto Versus Hospedeiro
HAM/TSP	Tropical Spastic Paraparesis / Myelopathy Associated HTLV-1
HBZ	Fator de Zíper de Leucina Básico do HTLV
HCV	Vírus da Hepatite C
HEMOPE	Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
hnRNP-A1	Ribonucleoproteína nuclear heterogênea
HSPG	Heparan Sulfato Proteoglicanos
hTERT	Telomerase Transcriptase Reversa Humana
HTLV	Vírus Linfotrópico da Célula T Humana

HUOC	Hospital Universitário Oswaldo Cruz
ICAM-1	Molécula de Adesão Intercelular 1
IFN- γ	Interferon Gama
IL	Interleucina
IRF3	Fator Regulador de Interferon
Kb	Kilobase
LACEN	Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Milton Bezerra Sobral
LBMV	Laboratório de Biologia Molecular de Vírus
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
LFA-1	Antígeno Associado à Função Leucocitária Tipo 1
LIBM	Laboratório de Imunopatologia e Biologia Molecular
LIMP	Laboratório de Imunoparasitologia
LTR	Longas Terminações Repetidas
MIP	Proteínas Induzidas por Macrófagos/Monócitos
NFAT	Fator Nuclear de Células T Ativadas
NF-kB	Fator Nuclear kappa Beta
NPT	Núcleo de Plataformas Tecnológicas
PAF	Fator de Ativação de Plaquetas
PBMC	Células Mononucleares do Sangue Periférico
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PET/MAH	Paraparesia Espástica Tropical/Mielopatia Associada ao HTLV-1
PROCAPE	Pronto-Socorro Cardiológico Universitário de Pernambuco Prof. Luiz Tavares
RNA	Ácido Ribonucleico
RNA _m	RNA mensageiro
SNP	Polimorfismo de Base Única
STLV	Vírus Linfotrópico da Célula T dos Símios
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGF- β	Fator de transformação do crescimento
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
UPE	Universidade de Pernambuco
WB	Western Blot

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 Vírus Linfotrópicos da Célula T Humana (HTLV)	17
2.1.1 Estrutura Viral	18
2.1.2 Infecção e Ciclo de Replicação	20
2.1.3 Transmissão	22
2.2 Epidemiologia do HTLV-1	23
2.2.1 Epidemiologia no Mundo	23
2.2.2 Epidemiologia no Brasil	24
2.3 Doenças Associadas ao HTLV-1	26
2.3.1 Paraparesia Espástica Tropical/Mielopatia Associada ao HTLV-1 (HAM/TSP)	27
2.3.2 Leucemia/Linfoma de Células T do Adulto (ATL)	28
2.4 Imunopatogênese das doenças associadas ao HTLV-1	29
2.4.1 Imunopatogênese da HAM/TSP	29
2.4.2 Imunopatogênese da ATL	31
2.5 Aspectos Imunológicos da Infecção pelo HTLV-1	32
2.5.1 Respostas Th1 e Th2 na Infecção pelo HTLV-1	32
2.5.2 Resposta Th17 na Infecção pelo HTLV-1	32
2.5.2.1 Interleucina 17A (IL-17A)	33
2.5.2.2 Interleucina 17B, 17C e 17D (IL-17B, IL-17C e IL-17D)	34
2.5.2.3 Interleucina 17E (IL-17E)	34
2.5.2.4 Interleucina 17F (IL-17F)	34
2.6 Polimorfismos no Gene IL17	35
3 JUSTIFICATIVA	36
4 OBJETIVOS	37
4.1 Objetivo Geral	37
4.2 Objetivos Específicos	37
5 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	38
5.1 Desenho do Estudo e Definição do Tamanho da Amostra	38
5.2 Local	38

<i>5.3 Coleta de Dados</i>	38
<i>5.4 Grupos do Estudo</i>	39
<i>5.4.1 Critérios de Inclusão</i>	39
<i>5.4.2 Critérios de Exclusão</i>	39
<i>5.5 Coleta e Processamento do Sangue</i>	39
<i>5.6 Detecção dos Polimorfismos</i>	40
<i>5.7 Quantificação de Citocinas</i>	41
<i>5.8 Análises Estatísticas</i>	42
6 ASPECTOS ÉTICOS	43
7 RESULTADOS	44
8 DISCUSSÃO	48
9 CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS	55
APÊNDICE A – Questionário clínico	70
APÊNDICE B – Características clínicas e epidemiológicas dos grupos estudados	71
APÊNDICE C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	72
ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	73
HUOC/PROCAPE	

1 INTRODUÇÃO

O Vírus Linfotrópico da Célula T Humana Tipo 1 (HTLV-1) foi descoberto em 1979 e descrito em 1980 como o primeiro retrovírus humano (GALLO, 2005; POIESZ et al., 1980). O HTLV-1 pode ser transmitido de três formas: através do aleitamento materno, de mãe para filho, por transmissão sexual ou ainda por transfusão sanguínea/compartilhamento de seringas (MATSUOKA; JEANG, 2007).

Segundo De Thé e Bomford (1993), estima-se que mundialmente existam de 10 a 20 milhões de pessoas infectadas pelo HTLV-1. Deste total, 2,5 milhões de casos estão no Brasil, fazendo deste o país com a maior prevalência (ROMANELLI et al., 2010).

No entanto, apesar do grande número de infectados, a infecção pelo HTLV-1 por si só não ocasiona o surgimento de quadro clínico. Desta forma, a maior parte dos infectados permanece sem sintomas (COSTA et al., 2002).

Quando as manifestações clínicas estão presentes, os indivíduos podem ser acometidos por duas doenças principais, ambas sem cura, a Paraparesia Espástica Tropical/Mielopatia Associada ao HTLV-1 (PET/MAH ou HAM/TSP) e a Leucemia de Células T do Adulto (ATL) (COSTA et al., 2002; OSAME et al., 1986).

Pesquisas buscam esclarecer o motivo de apenas um percentual relativamente pequeno de indivíduos infectados pelo HTLV-1 desenvolverem as doenças associadas a este, enquanto a maioria permanece assintomática, uma vez que diversos fatores na interação vírus – hospedeiro – ambiente são determinantes no desenvolvimento do quadro clínico (BARMAK et al., 2003; COSTA et al., 2002).

Um dos determinantes no desenvolvimento das doenças associadas ao HTLV-1 é a resposta imune do hospedeiro, pois essa pode ser influenciada tanto pela via de infecção, que determina a população-alvo na infecção primária, quanto por fatores genéticos individuais, como polimorfismos nos genes envolvidos na resposta imune (BARMAK et al., 2003).

Apesar das doenças associadas ao HTLV-1 serem muito estudadas, o mecanismo exato realizado pelo HTLV-1 para causar condições inflamatórias ainda não é bem compreendido (ARAYA et al., 2011). Porém, sabe-se que na patogênese causada pelo HTLV, a proteína reguladora mais importante do vírus, Tax, é o principal mecanismo relacionada ao desenvolvimento das diversas doenças, uma vez que induz a expressão de genes envolvidos na ativação e proliferação de células T, além de já ter sido observado que é capaz de regular a expressão da interleucina 17 (IL-17) (DODON et al., 2004; MARTINS et al., 2010).

Estudos recentes tem mostrado, inclusive, que polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs) no gene *IL17* podem estar associados a maior ou menor produção de citocinas em diversas doenças (CHEN et al., 2010; ESPINOZA et al., 2011).

Portanto, o melhor entendimento do desenvolvimento das células Th17 e os efeitos da sinalização de IL-17 e suas atividades pro-inflamatórias na resposta imune podem revelar o potencial de uso desta via no tratamento de doenças imunológicas (WAITE; SKOKOS, 2011).

Assim, busca-se investigar se um polimorfismo no gene *IL17* está associado a presença de sintomas em indivíduos infectados pelo HTLV-1, pois a infecção por esse vírus é endêmica no Brasil e considerada uma doença negligenciada. Portanto, são necessárias pesquisas de base que permitam melhor entendimento e identificação de novas vias envolvidas na imunopatogênese das enfermidades causadas pelo vírus, com a perspectiva de identificar alvos e marcadores que possam sensibilizar a indústria farmacêutica vindo a utilizá-los como terapia, pois estas doenças não possuem cura e muitas vezes deixam os pacientes incapacitados.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Em 1908, quando Ellerman e Bang observaram que a leucemia de galinhas poderia ser transmitida entre a espécie através da inoculação de filtrados de células tumorais, começou-se a perceber que alguns tipos de câncer teriam etiologia viral, ou seja, que alguns vírus participavam do processo de transformação celular, sendo então chamados de vírus oncogênicos, entre os quais inclui-se o retrovírus HTLV (ROMANOS et al., 2008).

2.1 Vírus Linfotrópicos Da Célula T Humana (HTLV)

O HTLV, Vírus Linfotrófico da Célula T Humana, possui quatro tipos distintos já identificados: HTLV-1, HTLV-2, HTLV-3 e HTLV-4. Evolutivamente, esse oncovírus, pertencente à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae* e gênero *Deltaretrovirus*, pode ter surgido a partir do contato entre humanos e primatas não-humanos infectados, uma vez que retrovírus relacionados, como o STLV (Vírus Linfotrófico da Célula T de Símios), já foram descritos em primatas do velho mundo. Observa-se portanto, que a transmissão zoonótica e a natureza transmissível e patogênica de vírus relacionados, como o STLV (KROOM et al., 2010).

No entanto, dos quatro tipos distintos existentes, apenas o HTLV-1 tem sido associado a doenças devido a sua maior patogenicidade, apesar de o HTLV-2 aumentar o risco de neuropatias inflamatórias e doenças infecciosas (BARTMAN et al., 2008; BISWAS et al., 2010; MAHIEUX; GESSAIN, 2003).

O HTLV-1 foi descoberto nos Estados Unidos em 1979 e descrito no ano seguinte como o primeiro retrovírus humano (GALLO, 2005; POIESZ et al., 1980). A transmissão do HTLV-1 ocorre principalmente por via sexual e contato com sangue através de transfusões e compartilhamento de seringas, podendo ser transmitido também de mãe para filho, durante o aleitamento materno (KINOSHITA et al., 1987; MATSUOKA; JEANG, 2007).

Estima-se que existam atualmente 20 milhões de pessoas infectadas em todo o mundo, encontrando-se as maiores prevalências no Japão, África, ilhas do Caribe e América do Sul, locais onde mais de 1% da população está infectada (PROIETTI et al., 2005). No Brasil, estudos de soroprevalência relatam 2,5 milhões de infectados, fazendo deste o país com maior número de casos (ROMANELLI et al., 2010).

Porém, apesar da maior parte dos infectados permanecer assintomática ao longo da vida, aproximadamente 3% desenvolvem Leucemia/Linfoma de Células T do Adulto (ATL) e outros

3% desenvolvem uma doença inflamatória no Sistema Nervoso Central conhecida como Mielopatia Associada ao HTLV-1/Paraparesia Espástica Tropical (HAM/TSP) (GESSAIN et al., 1985; TAKATSUKI, 2005; VERDONCK et al., 2007).

Em 1981, dois anos depois da descoberta do HTLV-1, Robert Gallo e seus colaboradores isolaram de um indivíduo com leucemia um vírus muito menos patogênico, o HTLV-2. O HTLV-2 é um vírus bastante similar ao HTLV-1, compartilhando cerca de 70% de homologia e similaridade estrutural. No entanto, é endêmico em populações indígenas da África e Américas e já foi encontrado em usuários de drogas na Europa e Estados Unidos (GALLO, 2005; GESSAIN; CASSAR, 2012; MELAMED et al., 2014; MURPHY, 2004).

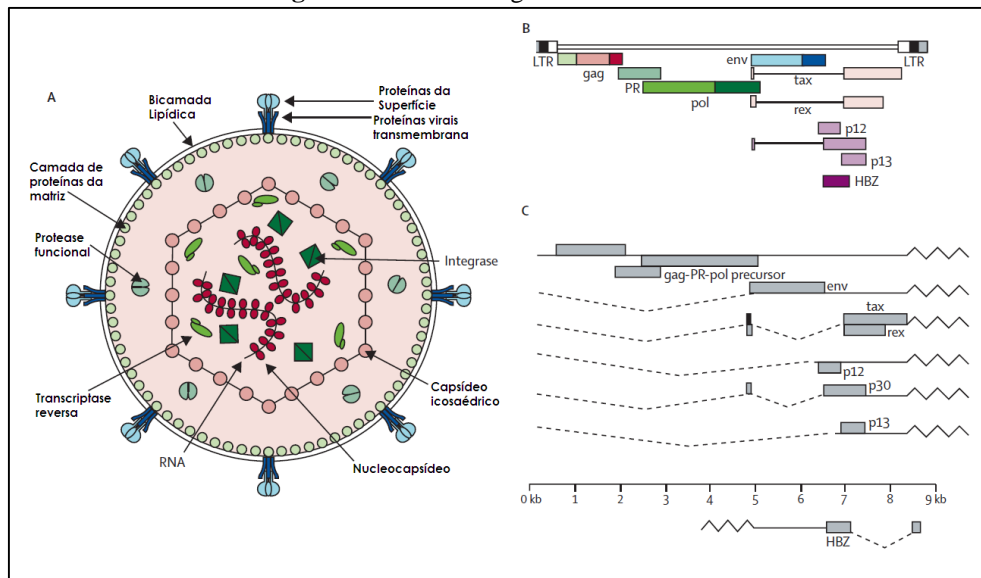
Apesar de não ser o agente etiológico de doenças graves como aquelas causadas pelo HTLV-1, manifestações neurológicas e mielopatia foram descritas em indivíduos infectados pelo HTLV-2, além deste ter sido associado a inflamações crônicas e ao aumento da mortalidade relacionada ao câncer (BARTMAN et al. 2008; BISWAS et al., 2009; BISWAS et al., 2010; MELAMED et al., 2014; ORLAND et al., 2003).

O terceiro tipo de HTLV (HTLV-3) foi descoberto em 2005 em indivíduos assintomáticos que viviam em áreas de floresta tropical de Camarões do Sul, cujos soros apresentavam sorologia indeterminada para HTLV. No mesmo ano, o HTLV-4 foi descoberto em células mononucleares de sangue periférico (PBMCs) de um caçador que vivia em Camarões. Porém, até hoje não foram encontrados sintomas relacionados à infecção por estes dois tipos virais, apesar da proteína Tax-3 do HTLV-3 ter analogia funcional com a Tax do HTLV-1 em termos de ativação da transcrição, sugerindo possível patogenicidade do terceiro tipo viral (CALATTINI et al., 2005; CHEVALIER et al., 2012; GESSAIN et al., 2013; MAHIEUX; GESSAIN, 2011; WOLFE et al., 2005).

Os aspectos biológicos virais descritos nas próximas sessões consideram apenas o HTLV-1, uma vez que este é o tipo viral melhor compreendido e mais associado a doenças.

2.1.1 Estrutura Viral

A partícula viral do HTLV-1 (Figura 1) é formada por um envelope de 80 a 110 nanômetros de diâmetro (TAYLOR et al., 1999). O genoma é RNA de fita simples diploide, com cerca de 9Kb, contendo genes estruturais (*gag*, *pol* e *env*), a região pX, que contém genes reguladores (*tax* e *rex*) e genes acessórios (*p12*, *p13*, *p30* e *HBZ*) e duas terminações longas repetidas (LTRs) (GALLO, 2002; KASHANCHI; BRADY, 2005; KAZANJI; GESSAIN, 2003; MATSUOKA; JEANG, 2007; VERONESI, 2002).

Figura 1 - Estrutura e genoma do HTLV-1

Fonte: Adaptado de Van Doreen (2005).

Legenda: O HTLV-1 possui de 80-110 nm de diâmetro. Seu genoma é formado pelo RNA de fita simples diploide que contém genes estruturais (*gag*, *pol*, *env*), genes reguladores (*tax*, *rex*) e genes acessórios (*p12*, *p13*, *p30*, *HBZ*).

Cada gene estrutural é responsável pela codificação de diferentes proteínas presentes na estrutura do vírus. Enquanto o gene *gag* codifica proteínas do capsídeo, p52 e suas derivadas p19 e p24, o gene *pol* é responsável pela codificação das enzimas transcriptase reversa e integrase e o gene *env* pela proteína transmembrana gp21 e a gp46 (LE BLANC et al., 2001; OLIVEIRA; AVELINO, 2007).

Os genes reguladores, por sua vez, codificam proteínas muito importantes no ciclo do HTLV-1. O gene *tax* é um gene regulador que codifica uma proteína de mesmo nome, Tax, uma fosfoproteína nuclear transativadora responsável pela regulação da transcrição do genoma do provírus do HTLV através da interação com diversas proteínas reguladoras. Estudos demonstraram que Tax está relacionada a ativação de genes celulares, como genes de citocinas (IL-2, IL-1, IL-3, IL-6, TGF- β , Fator de Crescimento de Granulócitos entre outros) e protooncogenes. O outro gene regulador, *rex* codifica a proteína Rex, capaz de realizar regulação pós-transcricional de proteínas estruturais do vírus (GALLO, 2002; OLIVEIRA; AVELINO, 2007; VERONESI, 2002).

O gene HBZ do HTLV-1 codifica uma importante proteína que contém um domínio de zíper de leucina básico (bZIP). Essa proteína, chamada de fator bZIP do HTLV (HBZ), é a única codificada na fita negativa do provírus e possui a capacidade de reprimir a transcrição do HTLV-1 através da dimerização com CREB, um dos fatores essenciais à formação do complexo protéico responsável pela ativação da transcrição viral (CLERC et al., 2008).

Com o passar dos anos, a importância de HBZ vem sendo ainda mais demonstrada em estudos que relatam seu envolvimento em diversas funções, como a inibição da resposta imune inata mediada por IRF3, a conversão de células infectadas em células T regulatórias, a indução da transcrição de Foxp3 e a supressão da apoptose, o que demonstra um papel não apenas acessório na patogenia das doenças causadas pelo vírus (DOUVILLE et al., 2011; MATSUOKA, 2013; TANAKA-NAKANISHI et al., 2014).

2.1.2 Infecção e Ciclo de Replicação

O HTLV-1 infecta preferencialmente células linfoides periféricas, em especial os linfócitos T CD4+ de memória e os linfócitos T CD8+, apesar de ter sido observado que também pode infectar células da imunidade inata, a exemplo dos monócitos e células dendríticas (JONES et al., 2008; YASUNAGA et al., 2001). Atualmente, observou-se *in vitro* que o HTLV-1 foi capaz de infectar inclusive células mesenquimais estromais humanas (RODRIGUES et al., 2014). Assim, o surgimento das diversas manifestações clínicas está relacionado ao tipo de resposta imune que é desencadeada (JOURNO; MAHIEUX, 2011).

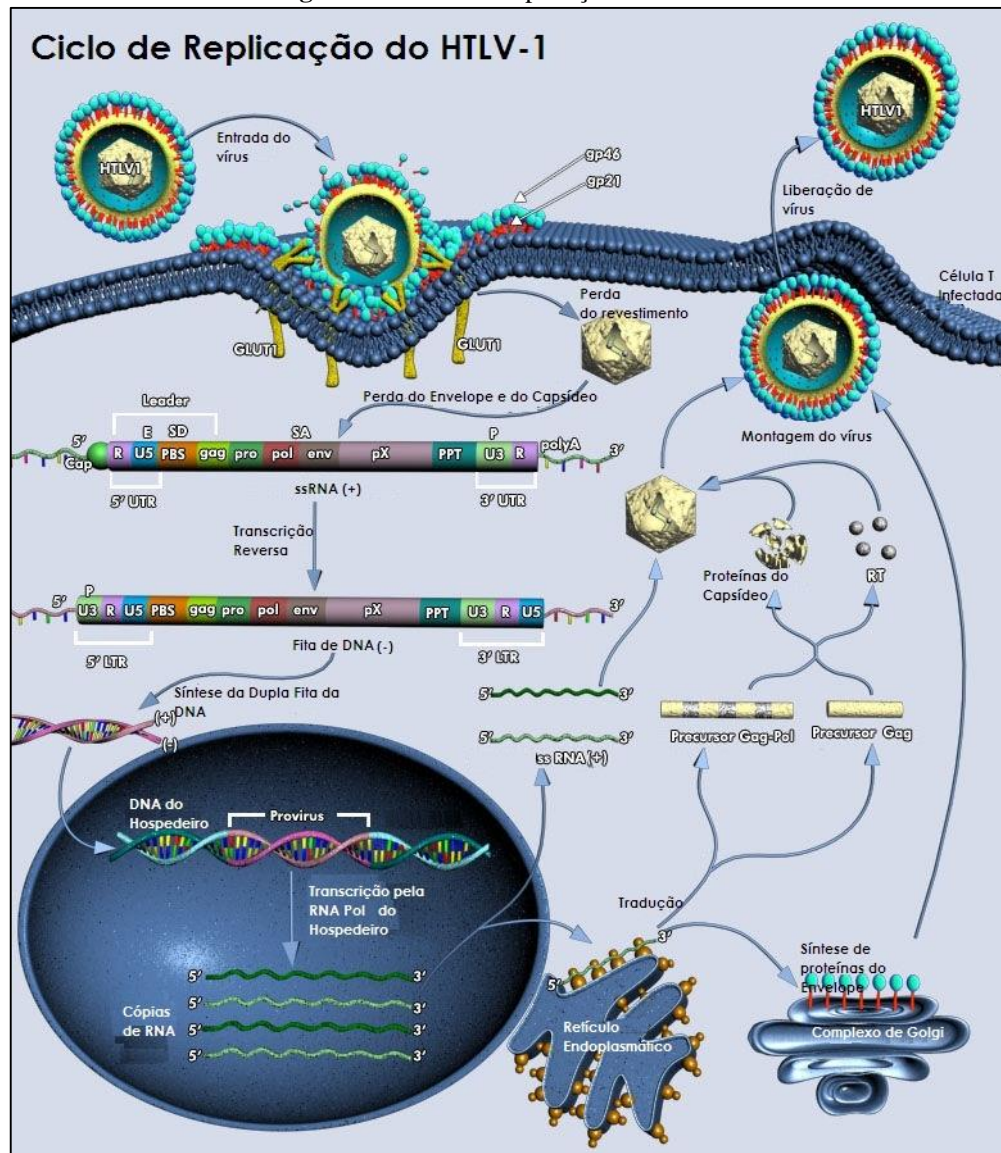
Para Costa (2002), o que determina o rumo da infecção é a resposta das células T CD8+, pois nos pacientes sintomáticos a carga proviral encontra-se elevada assim como a resposta imunológica. Além disso, o HTLV-1 é capaz de atravessar a barreira hemato-encefálica junto aos linfócitos infectados, em especial os CD4+.

Para infectar todos esses tipos celulares, o receptor do HTLV-1 tem que ser uma molécula comumente expressa na superfície das células anteriormente citadas (KOYANAGI et al., 1993). Estudos mostraram que as proteínas do envelope do HTLV-1 interagem com três moléculas de superfície para conseguir entrar nas células: Heparan Sulfato Proteoglicanos (HSPG), Neuropilina-1 e o Transportador de Glicose 1 (GLUT1) (GHEZ et al., 2006; JONES et al., 2005; MANEL et al., 2003).

Primeiramente, o envelope do vírion HTLV-1 se une a moléculas de HSPG, formando complexos. Em seguida, os complexos são estabilizados pela interação com moléculas de Neuropilina-1. Por fim, GLUT-1 associa-se ao complexo permitindo o processo de fusão para a entrada do vírus, como ilustra a Figura 2 (JONES et al., 2011).

Dentro da célula, a transcriptase reversa presente no capsídeo do HTLV-1 utiliza o RNA viral para sintetizar DNA. A partir de então, a dupla fita do DNA proviral segue para o núcleo e é integrado no genoma do hospedeiro pela ação da Integrase.

Figura 2 – Ciclo de Replicação do HTLV-1



Fonte: Adaptado de Qiagen (2013).

Legenda: O HTLV-1 interage inicialmente com moléculas de HSPG, Neuropilina 1 e GLUT-1 para conseguir infectar a célula.

Segundo Clerc (2008), durante sua integração no genoma do hospedeiro, o provírus do HTLV-1 utiliza a RNA Polimerase II para replicação e expressão dos genes virais. Porém, a ativação da transcrição do HTLV-1 requer proteínas, como Tax, que no entanto, sozinha não se liga ao DNA. Assim, é necessário seu recrutamento ao promotor viral, onde ajudará a formar um complexo com o fator de transcrição celular CREB ou outros membros da família ATF/CREB, proteínas que possuem domínio de zíper de leucina básico (bZIP) responsável por estimular a dimerização protéica e ligação ao DNA.

Na região 5' LTR do provírus, os complexos Tax-CREB associam-se a três CRE virais (vCREs), elementos que possuem sequência central semelhantes à CRE celular e que são reconhecidas por CREB. A formação deste complexo no promotor, permite que os coativadores

p300 e CBP (Proteína de Ligação a CREB) liguem-se ao promotor, através do contato direto com Tax, permitindo a integração do vírus no genoma do hospedeiro (CLERC, 2008).

Com o vírus integrado, acontece a replicação e posterior transcrição dos genes do HTLV-1, produzindo o RNA mensageiro (RNAm) de proteínas como Tax e Rex, capazes de regular a replicação viral (GALLO; POIESZ; RUSCETTI, 1981; IGAKURA et al.; 2003; VARMUS, 1988).

Quando a proteína Rex é produzida em grande quantidade, há formação de um novo RNAm, responsável por codificar proteínas estruturais que formam novas partículas virais e seguem para a membrana celular, levando uma parte dessa, emergindo por brotamento na superfície celular (FERREIRA JÚNIOR; PLANELLES; ROSENBLATT, 1997).

Como a maioria dos indivíduos infectados pelo HTLV-1 são assintomáticos, percebe-se que a infecção por esse vírus é latente na maioria das pessoas. Porém, os mecanismos pelos quais o HTLV-1 entra em latência ou é reativado ainda não estão esclarecidos. Philip et al. (2014) mostraram que a maioria das células HeLa infectadas pelo HTLV-1 em seu estudo tornaram-se senescentes, enquanto quando a atividade de NF- κ B foi bloqueada, a senescência não aconteceu, levando as células infectadas a se dividir continuamente produzindo as proteínas virais.

Os autores mostraram, baseados na expressão relativa das proteínas reguladoras Tax, Rex e HBZ, que a infecção em cultura pode levar a dois resultados: 1) A latência é estabelecida por HBZ; ou 2) A reativação é permitida por Rex, através da regulação de exportação de mRNAs. Quando a expressão de Tax/Rex é dominante sobre HBZ, proteínas estruturais são expressas e ocorre hiperativação de NF- κ B, induzindo a senescência. Porém, quando HBZ é dominante sobre Tax/Rex, proteínas reguladoras (Tax/Rex/HBZ) são expressas, enquanto não há expressão de proteínas estruturais, ocasionando a latência da infecção (PHILIP et al., 2014).

A forma latente do HTLV-1 é chamada de provírus, cujas partículas estranhas acarretam na produção de anticorpos, estabelecendo uma infecção prolongada (FRANCHINI, 1995).

2.1.3 Transmissão

A transmissão do HTLV-1 ocorre através do contato com células infectadas vivas, via transmissão vertical (durante o aleitamento materno ou mais raramente no útero), contato sexual e transfusão sanguínea/compartilhamento de seringas (BERTOTTO et al., 1990; MANNIS; HISADA; LA GRENADE, 1999; MATSUOKA; YASUNAGA, 2013).

Segundo Yasunaga et al. (2001), provírus do HTLV-1 foram encontrados em células T efetoras/de memória no leite materno, expressando LFA1 e ICAM-1, o que pode demonstrar a capacidade do HTLV-1 em alterar o fenótipo das células infectadas para facilitar sua entrada no leite materno e em outros locais, como o sêmen.

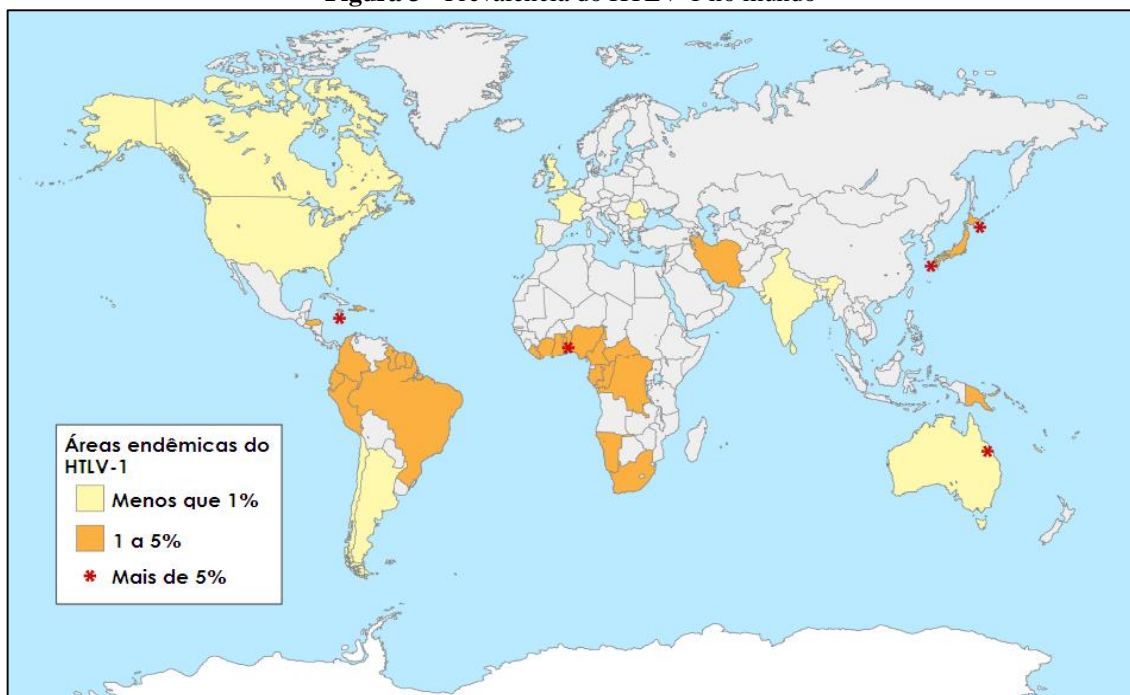
A rápida transmissão celular pode ocorrer devido a diversas características do vírus. Por exemplo, o HTLV-1 possui a capacidade de atravessar barreiras epiteliais, como o trato digestório, por mecanismos de transcitose (MARTIN-LATIL et al., 2012). Além disso, os vírions podem infectar células dendríticas que existem nessas barreiras, migrando então para os linfonodos, onde realizam sinapses com as células T (JONES et al., 2008).

2.2 Epidemiologia do HTLV-1

2.2.1 Epidemiologia no Mundo

A distribuição geográfica do HTLV-1 é estudada desde que o vírus foi descrito e, como pode ser visto na Figura 3, traz Japão, África, Ilhas do Caribe, América Central e América do Sul como as áreas de maior prevalência no mundo, apresentando mais de 1% da população infectada (PROIETTI et al., 2005).

Figura 3 - Prevalência do HTLV-1 no mundo



Fonte: Adaptado de Proietti (2005).

Legenda: O HTLV-1 está distribuído geograficamente em todo o mundo, com áreas em que a prevalência chega a 37%, como o Japão.

No Japão, a prevalência estimada varia desde áreas onde o vírus não é encontrado a locais com soroprevalências que chegam a 37%, a exemplo das ilhas de Shikoku, Kyushu e Okinawa, no sudoeste do país (GONÇALVES et al., 2010; YOSHIDA; MIYOSHI; HINUMA, 1982).

Algumas ilhas do Caribe apresentam altas taxas de infecção pelo HTLV-1. Na Jamaica, por exemplo, a prevalência é de aproximadamente 5% (MURPHY et al., 1991). Já no continente africano, a soroprevalência varia de 0,6%, no Marrocos, a mais de 5% em países da África Subsaariana, como Benin, Guiné Bissau e Camarões (DUMAS et al., 1991; GONÇALVES et al., 2010).

Segundo Murphy et al. (1991), a Europa e a América do Norte, apesar de possuírem baixas prevalências, apresentam casos de infecção restritos, em geral, a grupos imigrantes, que emigraram de áreas endêmicas. Na França e nos Estados Unidos, por exemplo, baixas taxas foram relatadas em doadores de sangue, com prevalência de 0,0039% e 0,025%, respectivamente (COUROUCÉ et al., 1998; MURPHY et al., 1991).

Na Austrália, embora a prevalência seja baixa em doadores de sangue, foi descrita uma prevalência de 14% em aborígenes do Território do Norte (BASTIAN; HINUMA; DOHERTY, 1993).

Na América do Sul, o HTLV-1 está presente em todos os países, com prevalência média de 0,73% em doadores de sangue no Chile e 0,07% na Argentina (GONÇALVES et al., 2010; VASQUEZ et al., 1991).

As prevalências no Brasil, Colômbia e Peru parecem estar de alguma forma relacionadas com a latitude e a altitude das regiões. Na Colômbia, áreas de baixa altitude registram prevalências de 4,3%, enquanto áreas de alta altitude relatam prevalência de 0,73% (MALONEY et al., 1989).

2.2.2 Epidemiologia no Brasil

O HTLV-1 foi descrito no Brasil pela primeira vez em Campo Grande, no Mato Grosso do Sul, em uma comunidade de imigrantes japoneses, cuja maioria da população era oriunda de Okinawa (KITAGAWA et al., 1986).

Com a Portaria nº 1.376 de 1993 do Ministério da Saúde, todo o sangue doado no Brasil passou a ser submetido a triagem sorológica (BRASIL, 1993). Essa portaria permitiu o estudo das prevalências do HTLV-1 em doadores de diversas regiões do país.

A frequência de infecção pelo HTLV-1 no Brasil (Figura 4) varia de 0,08% em Florianópolis, no sul do país, a 1,35% em Salvador, sendo a região Nordeste a que apresenta maior prevalência para a infecção (CARNEIRO-PROIETTI; CATALAN-SOARES; PROIETTI, 2002; GALVÃO-CASTRO et al., 1997).

Figura 4 - Prevalências do HTLV no Brasil de 1989 a 1996



Fonte: Adaptado de Carneiro-Proietti et al. (2002).

Legenda: Presente em todos os estados brasileiros, estudos de soroprevalência no Brasil afirmam que o HTLV-1 é mais prevalente na região Nordeste.

Em estudos posteriores, demonstrou-se que as maiores taxas de soroprevalência para HTLV-1/2 no Brasil estão no Maranhão, na Bahia, no Pará e em Pernambuco (CATALAN-SOARES; CARNEIRO-PROIETTI; PROIETTI, 2005).

Devido ao tráfico de escravos vindos da África, há maior probabilidade de pessoas infectadas pelo HTLV-1 serem encontradas em estados como Pernambuco, Salvador e Rio de Janeiro. Em Pernambuco, o retrovírus foi identificado pela primeira vez em 1990 em uma paciente de Goiana, a 60 Km do Recife, acometida por Leucemia/Linfoma de Células T do Adulto. Posteriormente, o estudo da etiologia confirmou que a via de infecção da paciente foi através do aleitamento materno, uma vez que esta foi amamentada por três anos pela mãe, portadora de HTLV-1 e com marido negativo para a infecção (FLORÊNCIO et al., 1990 apud LOUREIRO, 2011).

Estudos de soroprevalência revelaram que entre doadores de sangue de Pernambuco houve 0,8% de presença de anticorpos para HTLV-1/2, enquanto para os que utilizavam o sangue houve soroprevalência de 16,6% em hemofílicos, 11,2% em portadores de anemias hereditárias e 7,4% em portadores de leucemia mielóide aguda, o que sugere a alta prevalência entre doadores e transfundidos (LOUREIRO et al., 1994 apud LOUREIRO, 2008).

2.3 Doenças associadas ao HTLV-1

Os fatores genéticos e imunológicos do hospedeiro são relatados como os principais responsáveis pelo desenvolvimento de manifestações clínicas relacionadas ao HTLV-1, sejam elas neoplásicas, inflamatórias ou infecciosas (ROMANELLI; CARAMELLI; PROIETTI, 2010).

Nos últimos anos, diversas doenças foram associadas à infecção pelo HTLV-1. São elas: uveíte, dermatite infecciosa, síndrome de Sjögren, polimiosite, tireoidite, polineuropatias, linfoma cutâneo de células T, artropatias e alveolite linfocitária. Em acréscimo, a presença do HTLV-1 em co-infecção com outros parasitas, a exemplo da estrogiloidíase, escabiose, tuberculose e hanseníase aparece em vários estudos como agravante dos quadros clínicos observados nessas doenças (COOPER; VAN DER LOEFF; TAYLOR, 2009; MORI et al., 2005; SEGUCHI et al., 2006; VERDONCK et al, 2007).

Porém, o HTLV-1 está relacionado a doenças proliferativas graves e aparece como agente etiológico de duas doenças principais: Leucemia/Linfoma de Células T do Adulto (ATL), uma doença neoplásica, e Paraparesia Espástica Tropical/Mielopatia Associada ao HTLV-1 (HAM/TSP), uma enfermidade caracterizada por intensa inflamação no Sistema Nervoso Central (MAHIEUX; GESSAIN, 2003).

2.3.1 Paraparesia Espástica Tropical/Mielopatia Associada ao HTLV-1 (HAM/TSP)

A HAM/TSP é uma síndrome desmielinizante crônica e incapacitante causada pelo HTLV-1 e que leva a fraqueza progressiva dos membros inferiores, disfunção erétil, fraqueza na bexiga e no intestino e dores nas partes inferiores das pernas e costas (ANDERSON; MARTIN, 2014).

A mielopatia apresenta-se como a manifestação neurológica mais frequente do HTLV-1. Em 1969, antes de o HTLV-1 ter sido isolado, alguns casos de paraparesia espástica idiopática foram descritos, sendo chamados depois de Paraparesia Espástica Tropical (TSP ou PET) (CHAMPS et al., 2010; VERDONCK; GOTUZZO, 2010). Posteriormente, Gessain et al. (1985) demonstraram que 68% dos casos de Paraparesia Espástica Tropical (PET) apresentavam sorologia positiva para HTLV-1.

No Japão, Osame (1986) encontrou uma manifestação neurológica semelhante à descrita por Gessain, no entanto chamou de Mielopatia Associada ao HTLV-1 (HAM ou MAH), uma vez que o termo *tropical* parecia inadequado para uma doença endêmica do Japão, uma região temperada. Percebendo que se tratava da mesma enfermidade, o autor acabou por usar o termo Mielopatia Associada ao HTLV-1/Paraparesia Espástica Tropical (PET/MAH ou HAM/TSP, de *HTLV-1 Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis*) (CHAMPS et al., 2010; ROMÁN; OSAME, 1988; VERDONCK; GOTUZZO, 2010).

A HAM/TSP é caracterizada principalmente pela paraparesia espástica lenta e progressiva, bem como pela presença de anticorpos anti-HTLV-1 no soro e no fluido cérebro-espinhal dos pacientes (CSF) (NAKAGAWA et al., 1996; NAKAMURA, 2009). Gessain e Gout (1992) colocam como características patológicas da doença, a paraplegia ou paraparesia espástica progressiva e crônica, distúrbios no esfíncter e uma perda de sensibilidade mínima, além de haver comprometimento dos nervos periféricos e supra-espinhal em alguns casos.

Essa doença, que ocorre em cerca de 1 a 5% dos infectados pelo HTLV-1, afeta mais mulheres que homens, na proporção 2,5:1 a 3:1. Além disso, a HAM/TSP acomete indivíduos, em sua maior parte, nas 4ª e 5ª décadas de vida e, menos raramente, antes dos 20 anos e após os 70 anos. A doença é tão incapacitante que após dez anos de sua instalação, aproximadamente 30% dos pacientes encontram-se paraplégicos e confinados ao leito (CARNEIRO-PROIETTI et al., 2002; SANTOS; MUNIZ; CARVALHO, 2009).

Apesar de pacientes HAM/TSP apresentarem maior mortalidade e morbidade em relação à população em geral, ainda não existe cura ou tratamentos antirretrovirais para o HTLV-1 (ANDERSON; MARTIN, 2014).

Embora a HAM/TSP seja bem estudada desde que foi descrita, os esforços limitados para se desenvolver terapias eficazes fazem com que as opções de tratamento ainda sejam escassas. Porém, interferon- α , interferon- γ , terapia antirretroviral, corticoides, ácido valpróico, anticorpos monoclonais anti-CD25 entre outras moléculas, já foram testadas mas os resultados foram inconclusivos (MARTIN; TAYLOR, 2014).

Ainda assim, o paciente pode ser tratado seguindo duas abordagens: a) o tratamento para os sintomas (como dor ou rigidez); e b) o tratamento da causa (como a inflamação da medula espinhal) (NEUSIEDLER, 2012).

A bexiga hiperativa, por exemplo, pode ser controlada com o uso de Oxybutynin, uma droga que reduz a atividade do músculo da bexiga (THUROFF et al., 1991). Em relatos de caso mais recentes, este sintoma é tratado com a toxina Onabotulinum A, popularmente conhecida como Botox[®] (CARNEIRO NETO et al., 2014).

A inflamação da medula espinhal, por sua vez, pode ser reduzida com corticosteroides. Inclusive, estudos relataram melhora neurológica quando os pacientes que receberam corticosteroides foram tratados com fisioterapia e drogas anti-espásticas como adjuvantes (CRODA et al., 2008).

Em acréscimo, tratamentos com agentes imunossupressores, como interferon- α e ciclosporina, também tem sido testados com eficácia. Além disso, foi visto recentemente que células T CD8+CCR4+ e células T CD4+CCR4+ são alvos terapêuticos de primeira linha para tratar a HAM/TSP através de Mogamulizumab, um anticorpo anti-CCR4 (MARTIN et al., 2012; SÁNCHEZ-MONTALVÁ et al., 2015; YAMAUCHI et al., 2015).

2.3.2 Leucemia/Linfoma de Células T do Adulto (ATL)

Nos anos 70, uma doença de células T que ainda não havia sido descrita acometia adultos da ilha de Kyushu, no sudoeste do Japão, onde pacientes apresentavam lesões cutâneas, hepatoesplenomegalia, linfadenopatia e hipercalcemia. Esta doença foi então chamada de Linfoma (ou Leucemia) de células T do Adulto (ATL), associada posteriormente ao HTLV-1, o tipo viral mais relacionado a doenças, uma vez que todos os pacientes apresentavam anticorpos para este vírus (TAKATSUKI, 2005). Porém, embora exista entre 10 e 20 milhões de infectados pelo vírus, apenas de 1 a 4% desenvolvem ATL durante a sétima década de vida (KOKORIS et al., 2004).

A leucemia de células T do adulto é caracterizada por ser uma proliferação maciça de células T infectadas pelo HTLV-1. A ATL tem um período de latência de mais de 30 anos e

pode apresentar os sintomas de organomegalia, lesões cutâneas, hipercalcemia e presença de linfócitos atípicos (AKBARIN et al., 2013; CABRERA et al., 1994; KOKORIS et al., 2004). Segundo Cessay et al. (2012), as células T na ATL também expressam CD25, molécula normalmente não expressa nas células T.

Bazarbachi et al. (2013) afirmam que o pior prognóstico da ATL se dá devido a quimioresistência intrínseca e imunossupressão grave, com os pacientes apresentando uma sobrevida média de menos de 12 meses.

Apesar de ainda não apresentar cura, resultados promissores foram relatados utilizando o tratamento padrão no ocidente, zidovudina e interferon- α como terapia antiviral. Recentemente, estudos vem sendo realizados para verificar o potencial terapêutico quando utilizados transplantes de células-tronco alogênicas (allo-SCT), telomerase transcriptase reversa humana (hTERT) entre outros alvos moleculares. O Mogamulizumab, anticorpo monoclonal anti-CCR4, também foi estudado e apresentou efeitos citotóxicos em células ATL (BAZARBACHI et al., 2013; MIYAZAKI et al., 2013; UTSUNOMIYA et al., 2015).

2.4 Imunopatogênese das doenças associadas ao HTLV-1

2.4.1 Imunopatogênese da HAM/TSP

Embora a fisiopatologia do vírus não seja inteiramente conhecida, são consideradas três hipóteses para explicar o desenvolvimento da HAM/TSP pelo HTLV-1 (Figura 5).

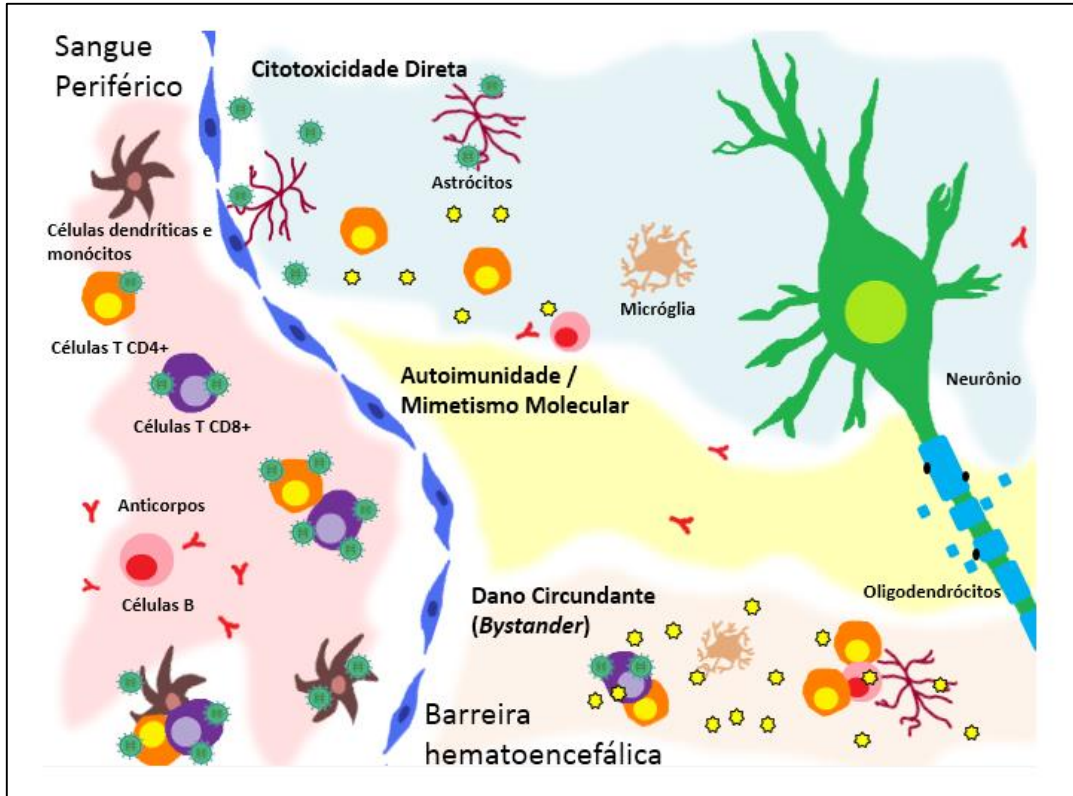
A primeira hipótese trata de um mecanismo de citotoxicidade direta, na qual células T CD8+ infectadas pelo HTLV-1 seriam capazes de cruzar a barreira hematoencefálica e destruir as células da glia infectadas pelo vírus, seja por citotoxicidade direta ou pela produção de citocinas (FURAKAWA et al., 2003; IJICHI; OSAME, 1995; NAKAMURA et al., 1993).

A segunda hipótese é chamada de autoimune e trata-se de um mecanismo de mimetismo molecular, no qual a ribonucleoproteína nuclear heterogênea (hnRNP-A1), uma proteína neuronal do hospedeiro, é bastante semelhante a Tax, a proteína mais importante do vírus, e desencadeia um intenso processo inflamatório autoimune com lesão dos neurônios (LEVIN et al., 2002).

A terceira hipótese, chamada de “*bystander*” ou dano circundante, é a mais aceita e trata-se da capacidade que linfócitos T CD4+ infectados e linfócitos T CD8+ específicos para Tax teriam em atravessar a barreira hematoencefálica e produzir grandes quantidades de citocinas pró-inflamatórias, ocasionando inflamação e destruição tecidual (KUBOTA et al., 2002;

NAGAI; OSAME, 2003; OSAME, 2002). Esta hipótese corrobora com Biddson et al. (1997), que mostraram a alta toxicidade de mediadores potencialmente inflamatórios (citocinas, quimiocinas e metaloproteinases) quando produzidos em altas concentrações no sistema nervoso.

Figura 5 - Hipóteses de desenvolvimento da HAM/TSP pelo HTLV-1



Fonte: Elaborada pelo autor.

No entanto, apesar do ataque direto do vírus aos neurônios não ser provado, suspeita-se que o sistema nervoso apresente contaminação indireta por linfócitos infectados, gerando respostas imunológicas humorais e celulares, uma vez que citocinas, a exemplo das interleucinas, Fator de Ativação de Plaquetas (PAF) e Fator de Necrose Tumoral (TNF) tem sido encontradas no soro de pacientes HAM/TSP, desempenhando função na desmielinização dos neurônios (COSTA et al., 2002; DE CASTRO-COSTA et al., 2002; IZUMO et al., 1992; LIBERSKI et al., 1999).

Segundo Santos, Muniz e Carvalho (2009), os principais determinantes no desenvolvimento da HAM/TSP são fatores virais, polimorfismos genéticos do hospedeiro, carga proviral e a resposta imune do hospedeiro.

As células T, após a infecção pelo HTLV-1, são hiperativadas e proliferam-se intensamente, acarretando em uma exacerbada produção de citocinas pró-inflamatórias e também de quimiocinas como CXCL-9 e CXCL-10, fundamentais no recrutamento de células

Th1. Além disso, células T regulatórias (CD4⁺ CD25⁺ foxp3⁺) encontram-se significativamente reduzidas, o que evidencia a contribuição da ausência de modulação da resposta imunológica e a exacerbação de mediadores solúveis na HAM/TSP (GUERREIRO et al., 2006; SANTOS; MUNIZ; CARVALHO, 2009).

Em acréscimo, estudos envolvendo murinos apresentaram altos níveis de IL-6 e IL-17, sugerindo a presença de uma resposta do tipo Th17 na infecção pelo HTLV-1 (SWAIMS et al., 2010). Inclusive, Dodon et al. (2004) encontraram altos níveis de expressão de IL-17 na infecção pelo HTLV-1.

2.4.2 *Imunopatogênese da ATL*

Na Leucemia/Linfoma de Células T do Adulto, o gene *tax* tem um papel fundamental na transformação e proliferação das células infectadas pelo HTLV-1, codificando uma proteína reguladora de mesmo nome que é responsável por induzir o crescimento das células T infectadas pelo vírus (GONÇALVES et al., 2010; MARRIOTT; SEMMES, 2005; YOSHIDA, 2001).

Na patogênese da ATL, a proteína Tax pode se ligar a fatores de transcrição e cofatores transcripcionais promovendo a transcrição tanto do genoma proviral, como de genes celulares, a exemplo de citocinas (IL-2), receptores de citocinas (IL-2R α) e genes antiapoptóticos. Porém, através da ligação a complexos protéicos, Tax também é capaz de reprimir a transcrição de genes envolvidos no controle do ciclo celular, na ativação da apoptose e no reparo do DNA, além de se ligar diretamente a proteínas envolvidas na supressão do tumor, inibindo-as (VERDONCK et al., 2007; YOSHIDA, 2001).

No entanto, um novo gene chamado fator bZIP do HTLV-1 (HBZ), cujo RNAm foi detectado em 100% de células ATL, foi descrito como mais importante que *tax* na leucemogênese e na transformação celular (FAN et al., 2010; MATSUOKA; GREEN, 2009).

Estudos suprimindo a transcrição de HBZ por RNA de interferência mostraram uma pequena diminuição na proliferação das células ATL, demonstrando a função deste gene na proliferação celular (FAN et al., 2010; SATOU et al., 2006).

Com a importância clara desses dois componentes, aceita-se atualmente que Tax é importante na instalação da ATL, enquanto o fator de zíper de leucina básico do HTLV-1, proteína codificada pelo HBZ, é fundamental para manter o fenótipo transformado (COOK et al., 2013).

2.5 Aspectos Imunológicos da Infecção pelo HTLV-1

2.5.1 Respostas Th1 e Th2 na Infecção pelo HTLV-1

O HTLV-1 infecta preferencialmente linfócitos T CD4+, porém estudos demonstraram a capacidade do vírus em infectar outros tipos celulares, como os linfócitos T CD8+ e células NK (NAGAI et al., 2001; TAKAMOTO et al., 1997).

Na infecção pelo HTLV-1 predomina uma resposta imune de perfil Th1, com produção de citocinas como interferon gama (IFN- γ), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), IL-6 e quimiocinas, a exemplo das proteínas induzidas por macrófagos/monócitos (MIP-1 α e MIP-1 β) (BIDDISON et al., 1997). A potente resposta Th1 observada na infecção pelo vírus é capaz de inibir a produção de citocinas por células Th2, a exemplo da IL-4, tornando os infectados mais susceptíveis a doenças causadas por helmintos (CARVALHO et al., 2001; LAL et al., 1996; SOUZA-MACHADO et al., 2003).

Citocinas do tipo Th1, em especial o IFN- γ , são fundamentais para o desempenho da função citotóxica das células T, além de modular a resposta Th2 negativamente, enquanto citocinas do tipo Th2 (IL-4 e IL-10) podem regular negativamente a ação do IFN- γ sobre células T e suprimir a resposta Th1 (CARVALHO et al., 2001; KOSTENSE et al., 2001; MOSMANN; MOORE, 1991).

2.5.2 Resposta Th17 na Infecção pelo HTLV-1

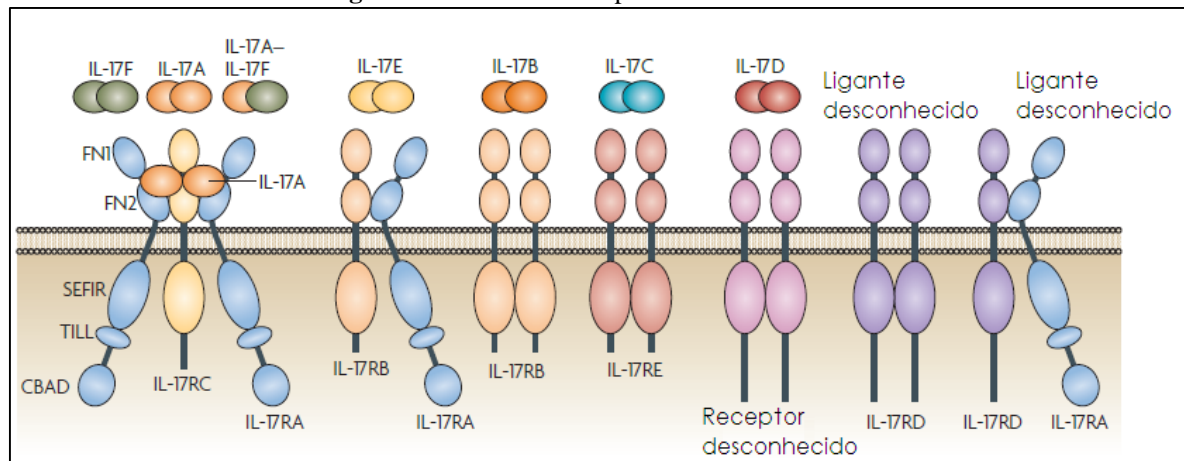
Estudos tem demonstrado que células Th17 também estão envolvidas na patogenia de algumas doenças autoimunes, uma vez que a deleção ou neutralização do gene *IL17*, foi capaz de inibir processos autoimunes em modelos animais (IVANOV et al., 2006; NAKAE et al., 2003).

Apesar de ainda não estar claro se e como as células Th17 podem estar envolvidas na resposta imune contra a replicação do HTLV-1, sabe-se que a proteína viral Tax possui a capacidade de regular a expressão de diversos genes envolvidos na ativação e proliferação de células T, a exemplo do gene *IL17*, que produz uma citocina da Família IL-17 (DODON et al., 2004; LEAL et al., 2013; MARTINS et al, 2010)

Swaims et al (2010) encontraram em seu estudo altos níveis de IL-6 e IL-17 em murinos infectados, sugerindo a presença de uma resposta Th17 na infecção pelo HTLV-1.

A Família IL-17 (Figura 6) compreende diversas moléculas relacionadas a interleucina 17, uma citocina pró-inflamatória secretada principalmente por células T ativadas. Atualmente, essa família, que não possui similaridade de sequência com nenhuma outra citocina conhecida, reúne seis integrantes diferentes: IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E e IL-17F. No entanto, ainda não foram descobertos todos os receptores e ligantes das moléculas dessa família (MOSELEY; HAUDENSCHILD; REDDI, 2003; STARNES et al., 2002; YAO et al., 1995a).

Figura 6 - Citocinas e receptores da Família IL-17



Fonte: Adaptado de Gaffen (2009).

Legenda: A família IL-17 é formada por seis citocinas diferentes (IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E e IL-17F). Porém, nem todos os receptores foram descritos ainda.

2.5.2.1 Interleucina 17A (IL-17A)

Antes chamada de CTLA-8 (*Cytotoxic T Lymphocyte Antigen 8*), a interleucina 17 (IL-17A) é uma glicoproteína homodimérica de 20 a 30 kDa secretada predominantemente por células T CD4+ de memórias ativadas. Devido à sua sequência de aminoácidos diferente, a molécula não foi inicialmente descrita como uma citocina, o que ocorreu quando caracterizações posteriores demonstraram que estimulava a produção de fatores como IL-6, IL-8 e G-CSF (Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos) (FOSSIEZ et al., 1996; YAO et al., 1995a, 1995b).

Por meio dos receptores IL-17RA e IL-17RC, a IL-17A é responsável por induzir diferentes tipos celulares a produzir outras citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e metaloproteinases, ocasionando o recrutamento de neutrófilos para o foco inflamatório e levando a inflamação do tecido. Assim, respostas de IL-17A tem sido encontradas exacerbadas em patologias autoimunes como artrite reumatoide, doença inflamatória do intestino, esclerose múltipla entre outras (CHEN et al., 2010; WILSON et al., 2007).

2.5.2.2 Interleucinas 17B, 17C e 17D (IL-17B, IL-17C e IL-17D)

Dos membros da Família IL-17, as citocinas IL-17B, IL-17C e IL-17D são as menos caracterizadas. No entanto, apesar do receptor da IL-17D permanecer desconhecido, foi relatado que a IL-17B liga-se ao receptor IL-17RB, enquanto IL-17C é capaz de ligar-se a IL-17RE e ativar NF- κ B. Além disso, IL-17B e IL-17C são capazes de estimular a transcrição de genes pró-inflamatórios e aumentar a produção de TNF-alfa, enquanto a IL-17D apresenta perfil pró-inflamatório em células endoteliais e inibe, *in vitro*, a proliferação de células progenitoras mielóides (GAFFEN, 2009; LI et al., 2000; SHI et al., 2000; STARNES et al.; 2001; YAMAGUCHI et al., 2007;).

2.5.2.3 Interleucina 17E (IL-17E)

A IL-17E é uma citocina produzida por células epiteliais da mucosa e outros tipos celulares, que se liga a um complexo receptor, formado por IL-17RB e IL-17RA. Estudos mostraram que a IL-17E, quando superexpressa, promove eosinofilia, além de estimular a produção de citocinas Th2 (CLAUDIO et al., 2009; GAFFEN, 2009; LEE et al., 2001).

Segundo Dong (2008), a IL-17E também limita o desenvolvimento das células Th17 induzindo as células dendríticas a expressarem IL-13 ou inibindo os macrófagos de produzirem IL-23.

2.5.2.4 Interleucina 17F (IL-17F)

A IL-17F é a citocina melhor caracterizada da família IL-17, juntamente a IL-17A. É o único membro da família que foi cristalizado para estudos estruturais (HYMOWITZ et al., 2001). Assim como a IL-17A, a IL-17F é um homodímero covalente, porém Chang e Dong (2007) demonstraram que essas duas citocinas podem formar heterodímeros.

A sinalização de IL-17A, IL-17F e do heterodímero IL-17A - IL-17F acontece através das subunidades do receptor, IL-17RA e IL-17RC, que formam um complexo. Porém, as duas citocinas tem efeitos biológicos diferentes: enquanto a IL-17A está envolvida na patologia de doenças autoimunes e no recrutamento de neutrófilos com efeitos de sinalização mais potentes, a IL-17F está também envolvida no recrutamento de neutrófilos e na proteção contra patógenos extracelulares, no entanto, com uma resposta mais fraca (GAFFEN, 2009; KOLLS; LINDÉN, 2004; KUESTNER et al., 2007; WRIGHT et al., 2007; WRIGHT et al., 2008;).

2.6 Polimorfismos no Gene IL17

Polimorfismos de base única (SNPs, de *Single Nucleotide Polymorphisms*) são alterações de pares de bases na sequência do DNA. Esses polimorfismos, importantes fontes de heterogeneidade genética, podem acarretar em mudanças morfológicas, bem como em mudanças na resposta imunológica do organismo. Desta forma, estudos de associação com SNPs podem ser utilizados para avaliar o risco de desenvolvimento de diversas doenças (KRUGLYAK; NICKERSON, 2001; YAMADA, 2008).

O polimorfismo G-197A (rs2275913) está localizado no gene *IL17A*, no braço curto do cromossomo 6 em um motivo de ligação para o Fator Nuclear de Células T ativadas (NFAT) e parece ser um importante regulador do promotor do gene *IL17*, podendo ter efeitos sobre a regulação da transcrição de IL-17 (ESPINOZA et al., 2011; OCEJO-VINYALS et al., 2013).

Caracterizado pela troca de Adenina por Guanina, esse SNP tem sido relacionado ao aumento do risco de desenvolvimento e progressão de doenças inflamatórias, uma vez que estudos demonstraram que o alelo ancestral (A) deste polimorfismo está associado à produção aumentada da citocina IL-17 (ARISAWA et al., 2008; ESPINOZA et al., 2011).

Polimorfismos no gene *IL17* foram recentemente associado a diversas doenças, a exemplo da osteoartrite, colite ulcerativa, tuberculose pulmonar, câncer gástrico, doença do enxerto versus hospedeiro (GVHD), asma infantil entre outras (CHEN et al., 2010; ESPINOZA et al., 2011; HAYASHI et al., 2013; HAN et al., 2014; OCEJO-VINYALS et al., 2013; ZHANG et al., 2014).

3 JUSTIFICATIVA

Apesar de existirem algumas hipóteses que expliquem a fisiopatologia da HAM/TSP, a patogênese dessa doença ainda não é bem compreendida. Ainda assim, sabe-se que a resposta imune do hospedeiro pode estar envolvida no aparecimento do quadro clínico.

A IL-17A, por exemplo, é uma citocina que tem sido recentemente implicada com mecanismos presentes em doenças e quadros inflamatórios. Inclusive, polimorfismos no gene que codifica essa citocina tem sido associados a inúmeras doenças.

No entanto, não existem estudos de polimorfismos no gene *IL17* em infectados pelo HTLV-1. Dessa forma, a análise da associação do polimorfismo G-197A no gene *IL17* com a presença da sintomatologia nos infectados pelo HTLV-1, bem como das citocinas presentes no soro dos indivíduos, contribuirá em um melhor entendimento sobre a imunopatogênese da HAM/TSP, além de permitir a identificação de possíveis alvos e marcadores que possam estar envolvidos no processo inflamatório observado na doença.

4 OBJETIVOS

4.1 *Objetivo Geral*

Investigar a existência de associação do polimorfismo G-197A no gene *IL17* com a presença de sintomatologia em indivíduos infectados pelo HTLV.

4.2 *Objetivos Específicos*

- a) Determinar a frequência do polimorfismo G-197A do gene *IL17* nos diferentes grupos de indivíduos com diagnóstico positivo para infecção por HTLV;
- b) Quantificar citocinas dos perfis Th1/Th2/Th17 (IL-2, IFN- γ , TNF- α /IL-4, IL-6, IL-10/IL-17) no soro de indivíduos com diagnóstico positivo para infecção por HTLV;
- c) Verificar existência de associação entre as frequências alélicas/genotípicas das variantes polimórficas do gene *IL17* nos diferentes grupos em estudo;
- d) Correlacionar os níveis de citocinas dos perfis Th1/Th2/Th17 com a presença de sintomatologia nos grupos em estudo.

5 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

5.1 Desenho do Estudo e Definição do Tamanho da Amostra

A pesquisa caracteriza-se como um estudo transversal analítico do tipo caso-controle com comparação de grupos. O tamanho da amostra foi definido por conveniência, uma vez que não existem estudos que apresentem as frequências alélicas de polimorfismos nos genes *IL17* em indivíduos brasileiros infectados pelo HTLV-1, impossibilitando calcular o tamanho da amostra.

5.2 Local

A amostra foi constituída por indivíduos com diagnóstico positivo para HTLV, atendidos no Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias (DIP) do Hospital Universitário Oswaldo Cruz (HUOC) e que aceitaram participar da pesquisa. Para comparação, o grupo controle foi composto por indivíduos com diagnóstico positivo para HTLV, porém assintomáticos.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biologia Molecular de Vírus da Universidade de Pernambuco (LBMV-UPE) e nos Laboratório de Imunopatologia e Biologia Molecular (LIBM-CPqAM), Laboratório de Imunoparasitologia (LIMP-CPqAM) e Núcleo de Plataformas Tecnológicas (NPT), ambos do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM).

5.3 Coleta de Dados

Os dados clínicos e epidemiológicos foram coletados, de forma confidencial e anônima, por meio de um questionário previamente elaborado (Apêndice A) e por meio da análise de prontuários, permitindo o agrupamento dos indivíduos segundo a presença ou ausência de sintomatologia.

Assim, em nosso estudo foram incluídos 116 indivíduos infectados pelo HTLV-1, sendo 29 sintomáticos, apresentando HAM/TSP, e 87 assintomáticos. Conforme exhibe o Apêndice B, a maior parte dos indivíduos pertenceram ao sexo feminino (79,3% no grupo sintomático e 59,8% no grupo assintomático).

A idade média da amostra foi de 49,6 anos, variando de 20 a 76 anos. No entanto, a média de idade dos indivíduos sintomáticos (55 anos) foi maior que a dos assintomáticos (47,8 anos).

5.4 Grupos do Estudo

Os participantes do estudo foram agrupados em dois grupos: 1) Grupo formado por indivíduos com diagnóstico positivo para HTLV, maiores de 18 anos e que apresentam sintomas característicos da HAM/TSP; 2) Grupo formado por indivíduos com diagnóstico positivo para HTLV, maiores de 18 anos, assintomáticos e com tempo de diagnóstico da infecção igual ou superior a três anos.

5.4.1 Critérios de Inclusão

Participaram do estudo indivíduos maiores de 18 anos infectados pelo vírus HTLV com diagnóstico confirmado por outros laboratórios (LACEN-PE, HEMOPE entre outros) através das técnicas ELISA, Western Blot (WB), exame de LCR ou PCR positiva para HTLV.

5.4.2 Critérios de Exclusão

Foram excluídos do estudo indivíduos que se enquadraram em alguma das situações abaixo:

- a) Ausência de confirmação laboratorial por Western Blot, LCR ou PCR;
- b) Portadores de outras comorbidades (HIV, HCV, Acidente Vascular Cerebral, doenças autoimunes, outros distúrbios neurológicos como Mal de Parkinson e Neurosífilis bem como outras neoplasias que não ATL);

5.5 Coleta e Processamento do Sangue

Foram coletadas amostras de sangue periférico dos indivíduos, através de punção venosa à vácuo, em dois tubos vacutainer de 5 ml: i) um com o anticoagulante EDTA, para obtenção de sangue total, e posteriormente de DNA; e ii) um sem anticoagulante (tubo seco), para obtenção do soro.

O DNA das amostras foi extraído a partir de sangue total no LBMV-UPE utilizando o kit de extração de DNA *DNA Purification Wizard Genomic* (PROMEGA), seguindo as instruções do fabricante.

5.6 Detecção dos Polimorfismos

As variáveis polimórficas foram detectadas através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, utilizando o sistema TaqMan[®] SNP Genotyping Assays Real Time PCR.

A PCR em Tempo Real é uma técnica que permite acompanhar em tempo real o processo de quantificação de fragmentos de DNA, amplificando, detectando e quantificando-os em apenas uma etapa, o que minimiza o risco de contaminações.

O sistema *TaqMan*[®] é uma metodologia de PCR em tempo real que utiliza diferentes sondas marcadas com fluorocromos, um para cada nucleotídeo, de acordo com o kit. Esse sistema baseia-se na detecção de fluorescência por um leitor presente no termociclador, capaz de medir a fluorescência emitida pela dissociação dos fluorocromos *reporter* e *quencher* quando a sonda TaqMan é clivada pela taq polimerase, ao anelar na cadeia alvo do DNA.

Para nosso alvo, adquirimos o kit C__15879983_10 *TaqMan*[®] *SNP Genotyping Assays Real Time PCR* (Applied Biosystems), que contém os *primers* e sondas específicos incluídos em sua formulação.

O protocolo que seguimos, como pode ser visto no quadro 1, utiliza 12,5µl como volume final para cada amostra e foi padronizado no LBMV-UPE.

Quadro 1 – Protocolo da PCR em Tempo Real

Reagente	Quantidade
TaqMan [®] SNP Genotyping Assays	0,625 µl
TaqMan [®] Universal PCR Master Mix	6,250 µl
Água Milli-Q	3,125 µl
DNA	2,5 µl
Volume final	12,5 µl

Fonte: Elaborado pelo autor.

Esta etapa da pesquisa foi realizada nas salas de pré-PCR do Departamento de Imunologia do CPqAM e no NPT-CPqAM, onde utilizamos o sistema de PCR em Tempo Real *Applied Biosystems*® 7500.

5.7 Quantificação de Citocinas

A quantificação das citocinas dos perfis Th1/Th2/Th17 foi realizada no LIMP-CPqAM e no NPT-CPqAM, através da técnica de citometria de fluxo, utilizando o sistema CBA (Cytometric Bead Array).

As citocinas IL-2, IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-6, IL-10 e IL-17 foram quantificadas no soro dos indivíduos selecionados, por citometria de fluxo, utilizando o kit *BD Cytometric Bead Array Human Th1/Th2/Th17* (BD Biosciences, San Jose, CA, EUA), seguindo as instruções do fabricante.

O equipamento utilizado para a leitura das amostras foi o citômetro FACSCalibur (BD Biosciences, San Jose, CA, EUA), plataforma equipada com dois lasers e com capacidade de analisar até quatro cores.

O kit utilizado permitiu a quantificação das citocinas IL-2, IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-6, IL-10 e IL-17 em uma mesma amostra.

Na preparação dos padrões de citocinas Th1/Th2/Th17, como estes vem liofilizados, primeiramente os reconstituímos, transferindo as esferas padrão para um tubo cônico tipo falcon e adicionando 2 mL do *Assay Diluent* presente no kit. Este tubo foi nomeado “*Top Standard*” e deixado em temperatura ambiente por 15 minutos. Posteriormente, pipetamos gentilmente para reconstituir as proteínas e nomeamos oito tubos para realizar a diluição seriada, respectivamente, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 e 1:256. Além disso, nomeamos um tubo branco, para servir como controle negativo. Em seguida, adicionamos 300 μ L do *Assay Diluent* em cada um desses tubos e fomos transferindo 300 μ L de um tubo ao outro, a começar pelo “*Top Standard*” para o “1:2” e assim sucessivamente. Como um dos tubos serviu como controle negativo, nele foi colocado apenas o *Assay Diluent*.

Logo depois, fizemos o mix de beads, no qual as beads de cada uma das sete citocinas, com diferentes intensidades de fluorescência, foram conjugadas ao anticorpo de captura específico de cada citocina. Para tanto, as beads foram misturadas com o anticorpo de detecção e conjugadas com reagente de detecção PE, para a posterior incubação com as amostras.

Em resumo, cada tubo foi preparado de acordo com o quadro abaixo e puderam ser homogeneizados e incubados por 3 horas, ao abrigo da luz e em temperatura ambiente.

Quadro 2 – Protocolo de preparação do CBA

Reagente	Quantidade
Amostra	25 μ l
Mix de Beads	35 μ l
Reagente de Detecção PE	25 μ l

Fonte: Elaborado pelo autor.

Após este tempo, foram adicionado 500 μ l do *Wash Buffer* em cada um dos tubos e os mesmos foram centrifugados por 5 minutos em 200g. Em seguida, os sobrenadantes foram descartados e adicionamos 300 μ l de *Wash Buffer* novamente, a fim de ressuspender o pellet de beads de cada tubo. Assim, a leitura foi realizada e os dados puderam ser obtidos no software FCAP Array (BD Biosciences, San Jose, CA, EUA), e analisados no GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, EUA).

5.8 Análises Estatísticas

Todos os dados obtidos foram armazenados e analisados no software *GraphPad Prism* (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, EUA), realizando-se os testes de qui-quadrado, teste T e Mann-Whitney, considerando-se significativas as diferenças com valores de $p < 0,05$.

Para as frequências encontradas do polimorfismo, verificou-se que o gene estudado estava em equilíbrio de Hardy-Weinberg, ou seja, as frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo G-197A apresentaram-se semelhantes entre os grupos.

6 ASPECTOS ÉTICOS

A pesquisa foi aprovada (Anexo A) pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Pernambuco (CEP HUOC/PROCAPE) com registro CAAE 16973113.5.1001.5192 e os indivíduos participantes foram informados sobre o estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice C).

7 RESULTADOS

7.1 Análise das frequências alélicas e genóticas do polimorfismo G-197A na população de estudo

Os três genótipos possíveis, AA, AG e GG, foram encontrados na amostra, em percentuais de 4,3%, 31,9% e 63,8%, respectivamente. A Tabela 1 mostra que o alelo A foi menos frequente que o G, com uma frequência de 20,3%, contra 79,7%, não sendo este resultado significativo ($p=0,1101$).

Tabela 1 - Frequências alélicas e genóticas encontradas nos grupos estudados

	HAM/TSP (N=29)	Assintomáticos (N=87)	OR (95% IC)	P value
<i>IL17A</i>				
rs2275913				
Alelo, n (%)				
A	15 (26)	32 (18)	-	Referência
G	43 (74)	142 (82)	1,54 (0,76-3,12)	0,1101
Genótipo				
A/A	3 (10)	2 (02)	-	Referência
A/G	9 (31)	28 (32)	4,66 (0,67-32,50)	0,0487
G/G	17 (59)	57 (66)	5,02 (0,77-32,63)	0,0327

Fonte: Elaborada pelo autor.

Nota: OR – *Odds Ratio*; IC – Intervalo de Confiança

Quanto aos genótipos, observa-se a predominância do genótipo GG, tanto no grupo sintomático (59%) quanto no grupo assintomático (66%), enquanto o genótipo AG representa 31% nos sintomáticos e 32% nos assintomáticos. O genótipo de risco, AA, apresentou-se em 10% dos indivíduos sintomáticos e em 2% dos assintomáticos.

Comparando-se os genótipos, como mostra a Tabela 1, o resultado foi significativo ($p=0,0485$) quando os grupos que possuíam ao menos um alelo G (GG+A/G) foram confrontados apenas com os indivíduos que possuíam os dois alelos A (AA).

Além disso, quando os indivíduos de genótipo AA foram comparados com os de genótipo AG e GG, individualmente, os resultados também foram significantes, com $p=0,0487$ e $p=0,0327$, respectivamente.

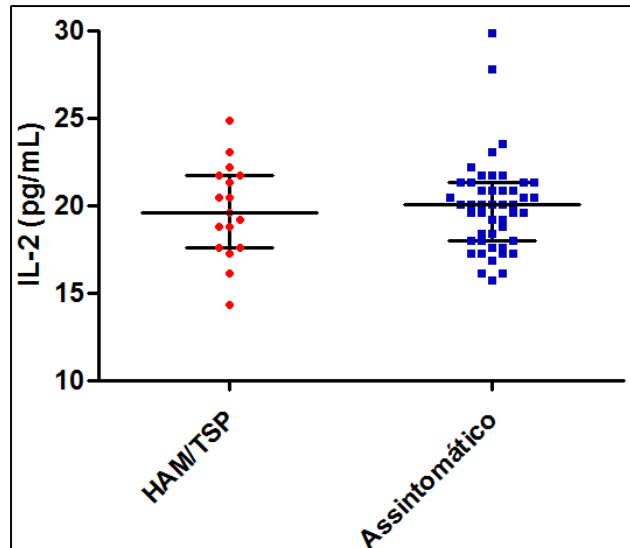
7.3 Avaliação da produção de citocinas nos grupos estudados

As citocinas dos perfis Th1/Th2/Th17 foram avaliadas em 64 dos 116 indivíduos da nossa amostra.

7.3.1 Citocinas do perfil Th1 (IL-2, IFN- γ e TNF- α)

Ao analisar os níveis de IL-2 (Figura 7) no soro dos grupos estudados, as maiores quantidades foram encontradas nos indivíduos assintomáticos. No entanto, não foram encontradas diferenças significantes ($p=0,9757$).

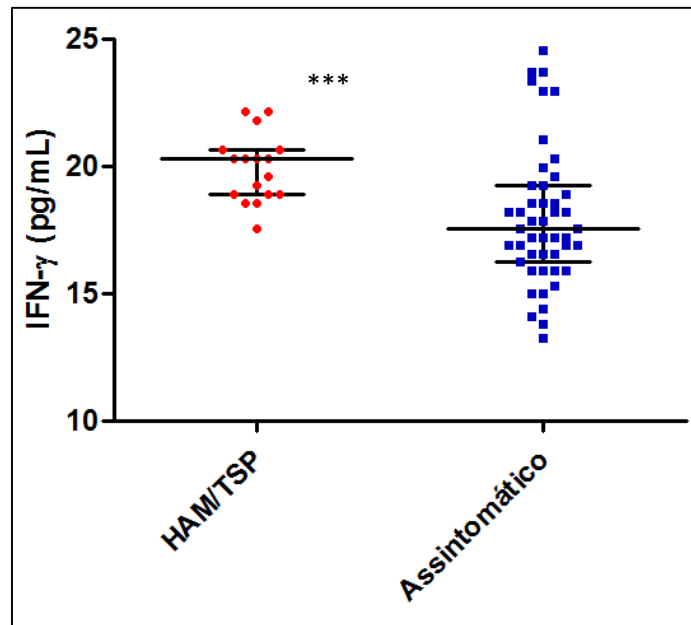
Figura 7 – Níveis de IL-2 nos grupos estudados



Fonte: Elaborada pelo autor.

Legenda: O grupo assintomático apresentou os maiores níveis de IL-2. No entanto, o resultado não foi estatisticamente significativo.

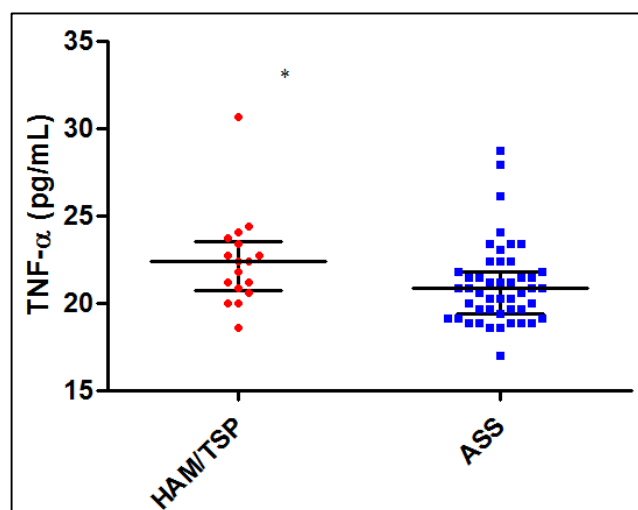
Porém, quando foram analisados os níveis de IFN- γ (Figura 8), observamos que esta citocina apresentou-se significativamente aumentada no grupo dos sintomáticos ($p=0,006$) em comparação com o grupo dos assintomáticos, demonstrando a presença de uma resposta antiviral nos pacientes com doença.

Figura 8 – Níveis de IFN- γ nos grupos estudados

Fonte: Elaborada pelo autor.

Legenda: Os níveis de IFN- γ apresentaram-se significativamente mais elevados no grupo HAM/TSP (***) $P=0,006$), sugerindo resposta antiviral.

Para o TNF- α também identificamos diferenças estatisticamente significantes entre os níveis observados nos pacientes HAM/TSP em relação aos assintomáticos ($p=0,0253$), como pode ser visto na figura abaixo.

Figura 9 – Níveis de TNF- α nos grupos estudados

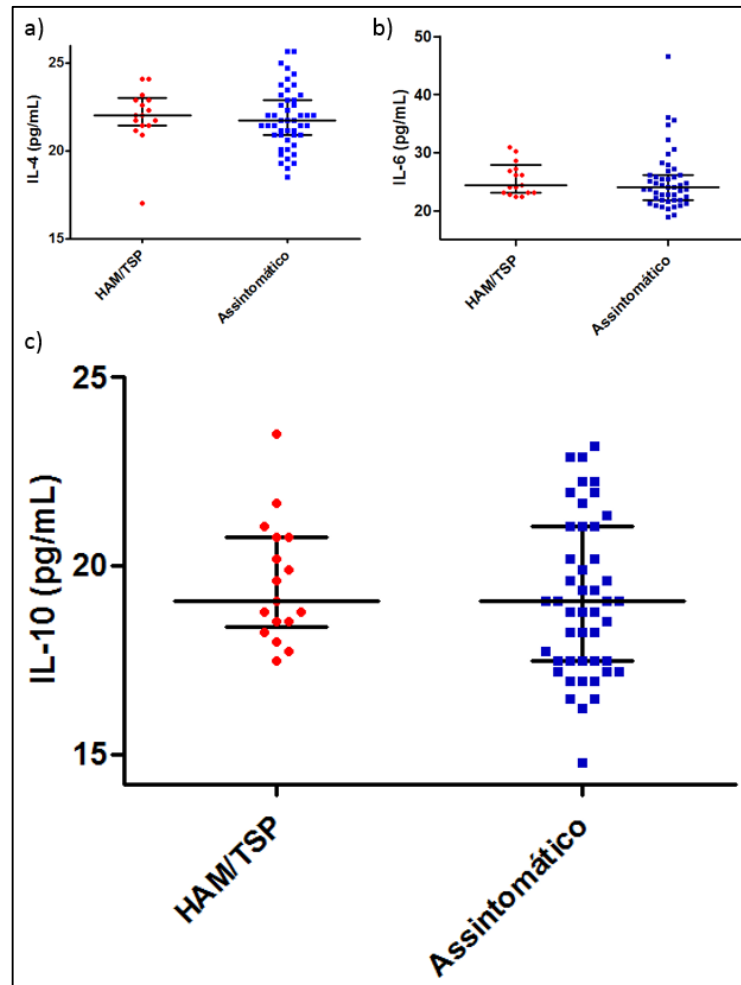
Fonte: Elaborada pelo autor.

Legenda: O grupo sintomático apresentou também níveis mais elevados de TNF- α ($*P=0,0253$).

7.3.2 Citocinas do perfil Th2 (IL-4, IL-6 e IL-10)

Quanto aos níveis das citocinas Th2, não encontramos diferenças estatisticamente significantes entre os grupos estudados (Figura 10). Os valores de p foram 0,2348, 0,1759 e 0,4376 para IL-4 (a), IL-6 (b) e IL-10 (c), respectivamente.

Figura 10 – Níveis de IL-4, IL-6 e IL-10 nos grupos estudados



Fonte: Elaborada pelo autor.

Legenda: Os resultados de IL-4 (a), IL-6 (b) e IL-10 (c) foram semelhantes entre os grupos estudados.

7.3.1 Citocina do perfil Th17 (IL-17)

Curiosamente, em nenhuma das amostras foram detectadas quantidades mínimas de IL-17, apesar desta citocina ter sido detectada durante a realização da curva padrão necessária ao experimento.

8 DISCUSSÃO

A infecção pelo HTLV-1, apesar de não ocasionar sintomas na maior parte dos portadores, pode levar ao desenvolvimento da HAM/TSP, o que segundo Santos, Muniz e Carvalho (2009) está relacionado a determinantes de risco, como fatores virais e carga proviral, bem como a polimorfismos genéticos e a resposta imunológica do hospedeiro.

Existem estudos na neuropatologia da HAM/TSP que evidenciam o envolvimento de mecanismos imune mediados na patogênese da doença (JACOBSON et al, 1997). Além disso, algumas pesquisas tem demonstrado alta expressão de citocinas pro-inflamatórias, como IL-17, em pacientes com HAM/TSP (SANTOS et al., 2011a, 2011b).

Apesar de diversos pesquisadores investigarem polimorfismos em genes de citocinas e sua relação com o desenvolvimento de um quadro sintomático nos indivíduos infectados, ainda não existem estudos envolvendo polimorfismos no gene *IL17* e sua possível associação com o desenvolvimento da HAM/TSP. Desta forma, esse foi o primeiro estudo a abordar um polimorfismo no gene *IL17* e sua relação com a patogenia presente na infecção pelo HTLV-1.

O polimorfismo que estudamos, conhecido como G-197A, está localizado no domínio de ligação para o Fator Nuclear de Células T Ativadas (NFAT), o regulador central do promotor do gene IL-17. Inclusive, esse SNP já foi associado ao risco de desenvolvimento de asma infantil, câncer cervical em mulheres, câncer gástrico, câncer de mama, artrite reumatoide, colite ulcerativa entre outras doenças (ARISAWA et al., 2008; CHEN et al., 2010; LIU et al., 2015; NORDANG et al. 2009; QUAN et al., 2012; WANG et al., 2012).

Porém, analisando os resultados das frequências alélicas do nosso trabalho, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos estudados, provavelmente pela limitação oriunda do tamanho de nossa amostra, uma vez que todos os trabalhos acima referidos tem populações de estudo superiores a 160 indivíduos e com controles também em grande número. Contudo, trabalhos envolvendo outras doenças classificam o alelo A como o alelo de risco responsável pelos quadros inflamatórios presentes nessas.

Espinoza et al. (2011), através de estímulos *in vitro*, observaram que células T saudáveis possuindo o alelo -197A produziram mais IL-17 em relação as células sem esse alelo. O trabalho de Arisawa et al. (2008), por exemplo, encontrou correlação entre o alelo -197A e o desenvolvimento de colite ulcerativa, assim como Shibata et al. (2009) identificaram a correlação entre o mesmo alelo e câncer gástrico. Em acréscimo, Han et al. (2014) encontraram recentemente diferenças significantes entre pacientes com osteoartrite e indivíduos saudáveis, na presença do alelo A.

Embora as diferenças encontradas entre as frequências alélicas dos grupos do nosso estudo não tenham sido significativas, observamos que, apesar do alelo G ser mais frequente nos grupos, o alelo A apareceu percentualmente mais elevado em pacientes HAM/TSP (26%) em relação aos assintomáticos (18%).

Além das pesquisas anteriormente citadas, o alelo A foi associado também a câncer de bexiga (ZHOU et al, 2013). Entretanto, diversos estudos não encontraram associação do alelo A ou dos genótipos com as doenças estudadas, como é o caso da ausência de correlação entre o polimorfismo e a cardiomiopatia dilatada, leucemia mieloide aguda ou gastrite atrófica crônica (PENG et al., 2013; WRÓBEL et al., 2014; YUAN et al., 2010).

Analisando as frequências genóticas, observamos que o genótipo homocigoto AA foi significativamente mais frequente em pacientes HAM/TSP em comparação aos indivíduos assintomáticos. Assim, observamos que o polimorfismo G197A (rs2275913) no gene *IL17* parece estar associado com a susceptibilidade de desenvolver HAM/TSP, uma observação até então não descrita na literatura.

A presença do genótipo AA do polimorfismo G197A tem sido considerada de risco em diversas doenças. Márquez et al. (2014), por exemplo, em seu trabalho envolvendo pacientes com arterite de células gigantes (GCA), encontraram maior frequência do genótipo AA em pacientes GCA do que em controles saudáveis.

A frequência elevada do genótipo AA em pacientes HAM/TSP condiz com pesquisas que mostram que o alelo A é capaz de aumentar a afinidade do motif de ligação por NFAT, aumentando a secreção de IL-17A. Além disso, altos níveis de IL-6 e IL-17 foram encontrados em murinos infectados pelo HTLV-1, sugerindo a presença de resposta Th17 na infecção pelo vírus (ESPINOZA et al., 2011; SWAIMS et al., 2010).

No entanto, diferentes polimorfismos podem influenciar os níveis de IL-17A, a afinidade de ligação a complexos fatores de transcrição e o status de metilação do promotor de *IL17A* (KIM et al., 2011). Desta forma, diversos sinais independentes podem estar atuando no desenvolvimento da HAM/TSP, mostrando que esta é uma doença complexa na qual vários fatores estarão envolvidos no surgimento do quadro clínico.

A proteína viral Tax, por exemplo, é capaz de regular a expressão do gene *IL17*, como visto por Dodon et al. (2004), quando observaram expressão 17 vezes maior de RNAs mensageiros de IL-17 em linfócitos T de pacientes HAM/TSP em relação a linfócitos T saudáveis, em cultura na presença de IL-2. Assim, não apenas o polimorfismo investigado em nosso estudo, mas outros SNPs no gene *IL17A* ou até mesmo em outros genes, como o *IL17F*, além dos já citados fatores virais e ambientais, podem estar relacionados à doença.

Embora não seja o escopo do nosso trabalho, obtivemos dados epidemiológicos condizentes com outros estudos. Por exemplo, sabe-se que idade acima de 50 ou 60 anos é um dos determinantes de risco para o desenvolvimento da HAM/TSP, que acomete principalmente, indivíduos nas 4ª e 5ª décadas de vida (CARNEIRO-PROIETTI et al., 2002; SHOIEBI et al, 2013). Corroborando com estas pesquisas, o nosso trabalho identificou maior média de idade nos sintomáticos em relação aos assintomáticos.

Além disso, não encontramos pacientes HAM/TSP com menos de 30 anos e apenas uma paciente com 70 anos, o que condiz com trabalhos que relatam o acometimento, menos frequente, em indivíduos antes dos 20 anos e após os 70 anos (CARNEIRO-PROIETTI et al., 2002; SANTOS; MUNIZ; CARVALHO, 2009).

Em acréscimo, a HAM/TSP foi mais prevalente em pessoas do sexo feminino, reafirmando outros trabalhos que evidenciam a frequência mais elevada da doença em mulheres em uma proporção de 2,5 a 3:1, em relação aos homens (DOURADO et al, 2003; ESHIMA et al, 2009; YAMANO et al, 2012).

A interação vírus-hospedeiro também é um dos fatores responsáveis por provocar mudanças na resposta imunológica que podem levar à patogênese da HAM/TSP, tais como aumento da produção de citocinas inflamatórias e proliferação espontânea de células T CD4+ (FUZZI et al., 2014).

Nos pacientes HAM/TSP, citocinas de perfil Th1, como IFN- γ e TNF- α , são predominantes, em contraste com a redução de citocinas Th2, como IL-4 e IL-10 (AHUJA et al., 2007; MORGAN, 2011; YAMANO et al., 2009). Semelhante a esses achados, analisando os dados do CBA, encontramos diferenças estatisticamente significantes entre os níveis de IFN- γ e TNF- α dos indivíduos sintomáticos e assintomáticos.

O TNF- α é produzido principalmente por macrófagos, porém células T, células B e fibroblastos também podem produzi-la. Essa citocina é capaz de estimular a secreção de outras citocinas e quimiocinas, produzir moléculas de adesão endotelial e suprimir a atividade de células T regulatórias (YU et al., 2012).

A produção de TNF- α pelas células T de pacientes HAM/TSP é bem descrita em vários estudos (GOON et al., 2004; NISHIURA et al., 1996). Pesquisas mais recentes, como a de Starling et al. (2013), com brasileiros de Minas Gerais infectados pelo HTLV, também encontraram maior concentração sérica de TNF- α em indivíduos com HAM/TSP quando comparados com portadores assintomáticos. Alguns trabalhos até já utilizam agentes anti-TNF- α como tratamento para sintomas e doenças relacionadas ao HTLV-1, a exemplo da Artropatia

Associada ao HTLV-1 e outras condições reumatológicas associadas ao vírus (BITTENCOURT et al., 2013; FRENZEL et al., 2014).

O processo inflamatório crônico nos pacientes HAM/TSP é mantido pela constante resposta inflamatória desencadeada a partir do aumento da produção de IFN- γ , TNF- α e IL-2, desencadeado pela resposta de células T CD4+ (HANON et al., 2001; MUNIZ et al., 2006).

O IFN- γ apresenta atividade antiviral, antiparasitária e imunomoduladora, sendo capaz de inibir a proliferação de células produtoras de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13 (VARELLA; FORTE, 2001). Em nosso estudo, essa citocina apresentou-se significativamente mais elevada no grupo HAM/TSP comparando-se com os portadores assintomáticos, corroborando com o que é amplamente conhecido e descrito na literatura. Apesar disso, não existe associação entre os níveis de citocina com a severidade da doença. (FUZZI et al., 2014; MONTANHEIRO et al., 2009; STARLING et al., 2013).

Embora alguns trabalhos relatem o aumento de IL-2 no sangue e no fluido cefalorraquidiano de pacientes HAM/TSP, em nossa pesquisa não encontramos diferenças estatísticas significantes nas quantidades dessa citocina entre os grupos estudados (GONÇALVES et al., 2008; HANON et al., 2001). Entretanto, o estudo de Starling et al (2013) também não encontrou diferenças nos níveis de IL-2 séricas entre os grupos de infectados pelo HTLV-1.

Segundo algumas pesquisas, as citocinas de perfil Th2, como IL-4 e IL-10 estão reduzidas em pacientes HAM/TSP, o que condiz com nossos achados, nos quais não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes nos níveis dessas citocinas entre os grupos estudados. Inclusive, pelo fato de a resposta Th2 estar reduzida em indivíduos infectados pelo HTLV-1, pacientes coinfetados por *Strongyloides stercoralis*, são susceptíveis a formas mais graves de estrogiloidíase, devido à redução da produção de IL-4 e outros componentes, por exemplo (AHUJA et al., 2007; MORGAN et al., 2011; PORTO et al., 2002; YAMANO et al., 2009).

A infecção pelo HTLV-1 pode reduzir a expressão de Foxp3, IL-10 e TGF- β , causando desequilíbrio no processo inflamatório encontrado na doença (ARAYA et al., 2011; SANTOS et al., 2006). Outros trabalhos demonstram que a IL-10 pode atuar na infecção pelo vírus através de suas funções imunomodulatórias, bem como por ser um fator de diferenciação para células T citotóxicas específicas do vírus (SHIRDEL et al., 2013).

Por exemplo, sabe-se que a IL-10 inibe a expressão de CD80/CD86 por células apresentadoras de antígeno (APCs), levando a redução da capacidade destas em fornecer sinais necessários à ativação de células T e produção de citocinas. Em outras palavras, níveis

reduzidos de IL-10 em indivíduos infectados pelo HTLV-1 podem levar aos mecanismos inflamatórios vistos na HAM/TSP, como observado em recente estudo que evidenciou maior frequência de haplótipo produtor de pouca IL-10 em pacientes HAM/TSP em relação a controles saudáveis (BAILER et al., 1994; SHIRDEL et al., 2013).

Os níveis de IL-6 na população que estudamos também não apresentaram diferenças estatísticas significantes entre os grupos, apesar de várias pesquisas demonstrarem a produção de citocinas como IFN- γ , TNF- α e IL-6 no sangue periférico de pacientes HAM/TSP, sendo considerados importantes mediadores da patologia da doença. Além disso, uma recente pesquisa utilizou vacina anti-HTLV-1 baseada em células dendríticas para tratar camundongos infectados, levando ao aumento dos níveis de IL-6 séricos nos indivíduos da amostra (GADELHA et al., 2008; LAIRMORE; HAINES; ANUPAN, 2012; MORGAN, 2011; SAGAR et al., 2014).

Alguns trabalhos relatam que níveis aumentados de IL-6 podem estar relacionados à regulação positiva de IL-17 (CAMPOREALE; POLI, 2012). Apesar de não detectarmos nenhuma quantidade de IL-17 nas amostras, este resultado não invalida o que foi observado para o polimorfismo no gene *IL17A*, uma vez que este é apontado como responsável pelo aumento na produção da citocina em questão.

Embora alguns trabalhos utilizando kits de CBA semelhantes ao nosso também não tenham encontrado quantidades de IL-17A em suas amostras, o que poderia estar relacionado a *bead* para essa citocina, o fato de não termos detectado IL-17A pode estar relacionado a determinantes na patogênese da HAM/TSP (ARNONE, 2013; CÂNDIDO, 2011). Além disso, essa citocina poderia estar sendo liberada apenas localmente e em pequenas quantidades, o que dificultaria sua detecção em determinados sítios. Questionamos também se o vírus estaria circulante ao momento da coleta, ou seja, se a doença estaria ou não ativa. Por isso, seria importante acompanhar a carga proviral dos indivíduos da amostra.

A HAM/TSP compartilha algumas semelhanças clínicas com doenças inflamatórias crônicas como esclerose múltipla e artrite reumatoide, patologias que apresentam níveis elevados de IL-17. Ademais, pacientes HAM/TSP apresentam altos níveis de ROR, IL-17 e IL-22 em comparação com indivíduos assintomáticos. Portanto, a presença de resposta Th17 na infecção pelo HTLV-1 vem sendo evidenciada aos poucos (FUZZI et al., 2014; SARKIS et al., 2013).

Como perspectiva, novas subpopulações de células T, a exemplo das células Th9 e Th22, podem ser investigadas quanto à produção de citocinas por esses tipos celulares. Porém, as células Th17 também devem continuar sendo estudadas, quanto à sua presença e possível

NECO, H.V.P.C.

envolvimento na patogenia de doenças associadas ao HTLV-1, como a HAM/TSP e até mesmo a ATL, uma vez que diversos tipos de câncer já estão comprovadamente associados à resposta de perfil Th17.

9 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, pôde-se concluir que o polimorfismo G-197A no gene *IL17* está associado à HAM/TSP. Esse achado, até então não descrito na literatura, sugere a presença de uma resposta de perfil Th17 na infecção pelo HTLV-1, como vários autores já relataram. Além disso, nosso estudo reafirmou outras pesquisas, que confirmaram o predomínio da resposta Th1 sobre a Th2, e classificaram idade e sexo como fatores de risco.

Entretanto, devemos considerar a limitação do nosso estudo na interpretação dos resultados encontrados. O pequeno tamanho da amostra, por exemplo, limita o poder estatístico para encontrar diferenças significantes, o que pode ser evidenciado pelo intervalo de confiança.

Ainda assim, os resultados obtidos contribuem para o melhor entendimento da resposta imune presente na HAM/TSP, uma doença descrita há 37 anos, mas cuja imunopatogênese não está completamente esclarecida, impossibilitando o desenvolvimento de terapias eficazes contra os sintomas e lesão medular ocasionadas pelo vírus.

REFERÊNCIAS

- 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**, Paris, v. 61, n. 4, p. 201-208, 2007.
- AKBARIN, M. M. et al. Comparison of HTLV-I Proviral Load in Adult T Cell Leukemia/Lymphoma (ATL), HTLV-I-Associated Myelopathy (HAM-TSP) and Healthy Carriers. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, Mashhad, v. 16, p. 208-212, 2013.
- ANDERSON, R.; MARTIN, F. HAM/TSP introduction: systematic review of HAM/TSP clinical trials. **Retrovirology**, Londres, v. 11, n. 1, 2014.
- ARAYA, N. et al. Human T-Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1) and Regulatory T Cells in HTLV-1-Associated Neuroinflammatory Disease. **Viruses**, Basileia, v. 3, p. 1532-1548, 2011.
- ARISAWA, T. et al. The influence of polymorphisms of interleukin-17A and interleukin-17F genes on the susceptibility to ulcerative colitis. **Journal of Clinical Immunology**, Amsterdã, v. 1, p. 44-49, 2008.
- ARNONE, B. **Perfil de Citocinas Plasmáticas e no Líquido Peritoneal em Bezerros Portadores de Hérnia Umbilical Antes e Após Herniorrafia**. 2013. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2013.
- BAILER, R.T. et al. Lack of evidence for human T cell lymphotropic virus type I or II infection in patients with systemic lupus erythematosus or rheumatoid arthritis. **The Journal of Rheumatology**, Toronto, v. 21, n. 12, p. 2217-2224, 1994.
- BARMAK, H. E. et al. Human T cell leukemia virus type I-induced disease: pathways to cancer and neurodegeneration. **Virology**, Nova York, v. 308. n. 1. p. 01-12, 2003.
- BARTMAN, M. T. et al. Long-term increases in lymphocytes and platelets in human T-lymphotropic virus type II infection. **Blood**, Nova York, v. 112, n. 10, p. 3995-4002, 2008.
- BASTIAN, I.; HINUMA, Y.; DOHERTY, R. R. HTLV-I among Northern Territory aborigines. **Medical Journal of Australia**, Sydney, v. 159, n. 1, p. 12-16, 1993.
- BAZARBACHI, A. et al. Outcome Of Patients With HTLV-1 Associated Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma (ATL) Who Have Undergone Stem Cell Transplantation: A Retrospective Study of The EBMT Lymphoma Working Party. **Blood**, Nova York, v. 122, n. 21, 2013.
- BERTOTTO, A. et al. Human breast milk T lymphocytes display the phenotype and functional characteristics of memory cells. **European Journal of Immunology**, Weinheim, v. 20, n. 8, p. 1877-1880, 1990.

BIDDISON, W. E. et al. Human T cell leukemia virus type I (HTLV-I)-specific CD8+ CTL clones from patients with HTLV-I-associated neurologic disease secrete proinflammatory cytokines, chemokines, and matrix metalloproteinase. **The Journal of Immunology**, Baltimore, v. 159, n. 4, p. 2018-2025, 1997.

BISWAS, H. H. et al. Increased All-Cause and Cancer Moratlity in HTLV-II Infection. **JAIDS - Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, Hagerstown, v. 54, n. 3, p.290-296, 2010.

BITTENCOURT, A.L. et al. Adult T-cell leukemia/lymphoma triggered by adalimumab. **Journal of Clinical Virology**, Amsterdã, v. 58, n. 2, p. 494-496, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n.1376, de 19 de novembro de 1993. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2 dez. 1993. Disponível em: < sna.saude.gov.br/legisla/legisla/hemo/GM_P1376_93hemo.doc >. Acesso em: 27 fev. 2014

CABRERA, M. E. et al. HTLV-I positive adult T-cell leukaemia/lymphoma (ATLL) in Chile. **Leukemia**, Baltimore, v. 8, n. 10, p. 1763-1767, 1994.

CALATTINI, S. et al. Discovery of a new human T-cell lymphotropic virus (HTLV-3) in Central Africa. **Retrovirology**, Londres, v. 2, n. 30, 2005.

CAMPOREALE, A.; POLI, V. IL-6, IL-17 and STAT3: a holy trinity in auto-immunity?. **Frontiers in Bioscience**, Searington, v. 17, p. 2306-2326, 2012.

CÂNDIDO, E.B. **Avaliação do Perfil da Resposta Imune Th1, Th2 e Th17 em Mulheres com Câncer Epitelial dos Ovários**. 2011. Tese (Doutorado em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2011.

CARNEIRO NETO, J.A. et al. The use of botulinum toxin type A in the treatment of HTLV-1-associated overactive bladder refractory to conventional therapy. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 47, n. 4, p. 528-532, 2014.

CARNEIRO-PROIETTI, A. B. F. et al Infecção e doença pelos vírus linfotrópicos humanos de células T (HTLV-I/II) no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 5, p. 499-508, 2002.

CARNEIRO-PROIETTI, A. B.; CATALAN-SOARES, B.; PROIETTI, F. A. Human T cell lymphotropic viruses (HTLV-I/II) in South America: should it be a public health concern?. **Journal of Biomedical Sciences**, Londres, v. 9, n. 6, p. 587-595, 2002.

CARVALHO, E. M. et al. Cytokine Profile and Immunomodulation in Asyntomatic Human T-Lymphotropic Virus Type 1-Infected Blood Donors. **JAIDS - Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, Hagerstown, v. 27, n. 1, p. 01-06, 2001.

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

- CESSAY, M. M. et al. Phase II study on combination therapy with CHOP-Zenapax for HTLV-I associated adult T-cell leukaemia/lymphoma (ATLL). **Leukemia Research**, Nova York, v. 36, n. 7, p. 857-861, 2012.
- CHAMPS, A. P. S.; et al. Mielopatia associada ao HTLV-1: análise clínico-epidemiológica em uma série de casos de 10 anos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 43, p. 668-672, 2010.
- CHANG, S. H.; DONG, C. A novel heterodimeric cytokine consisting of IL-17 and IL-17F regulates inflammatory responses. **Cell Research**, Basingstoke, v. 17, p. 435-440, 2007.
- CHEN, J. et al. The polymorphism of IL-17 G-152A was associated with childhood asthma and bacterial colonization of the hypopharynx in bronchiolitis. **Journal of Clinical Immunology**, Amsterdã, v. 30, p. 539-545, 2010.
- CHEVALIER, S.A. et al. The Transcription Profile of Tax-3 Is More Similar to Tax-1 than Tax-2: Insights into HTLV-3 Potential Leukemogenic Properties. **PLOS One**, San Francisco, v. 7, n. 7, p. 7997-7999, 2005.
- CLAUDIO, E. et al. The Adaptor Protein CIKS/Act1 Is Essential for IL-25-Mediated Allergic Airway Inflammation. **The Journal of Immunology**, Baltimore, v. 182, p. 1617-1630, 2009.
- CLERC, I. et al. An Interaction between the Human T Cell Leukemia Virus Type 1 Basic Leucine Zipper Factor (HBZ) and the KIX Domain of p300/CBP Contributes to the Down-regulation of Tax-dependent Viral Transcription by HBZ. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 283, n. 35, 2008.
- COOK, L. B. et al. HTLV-1: Persistence and pathogenesis. **Virology**, Nova York, v. 435, p. 131-140, 2013.
- COOPER, S. A.; VAN DER LOEFF, M. S.; TAYLOR, G. P. The neurology of HTLV-1 infection. **Practical Neurology**, Londres, v. 9, n. 1, p. 16-26, 2009.
- COSTA, C. M. C. et al. Neuropathology of Human and Experimental TSP/HAM: a critical review. **Acta Neurologica Belgica**, Bruxelas, v. 102, p. 21-29, 2002.
- COUROUCÉ, A. M. et al. HTLV Testing in Blood Transfusion. **Vox Sanguinis**, Basileia, v. 74, n. 2, p. 165-169, 1998.
- CRODA, M.G. et al. Corticosteroid therapy in TSP/HAM patients: the results from a 10 years open cohort. **Journal of the Neurological Sciences**, Amsterdã, v. 1, p. 133-137, 2008.
- DE CASTRO-COSTA, C. M.; et al. Neuropathology of two brazilian autopsied cases of tropical paraparesis/HTLV-I associated myelopathy (TSP/HAM) of long evolution. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, São Paulo, v. 60, p. 531-536, 2002.
- DE THÉ, G.; BOMFORD, R. An HTLV-1 vaccine: why, how, for whom?. **AIDS Research and Human Retroviruses**, Nova York, v. 9, n. 5, p. 381-386, 1993.

- DODON, M. D. et al. Tax protein of human T-cell leukaemia virus type 1 induces interleukin 17 gene expression in T cells. **The Journal of General Virology**, Londres, v. 85, p. 1921-1932, 2004.
- DONG, C. Regulation and pro-inflammatory function of interleukin-17 family cytokine. **Immunological reviews**, Copenhagen, v. 226, n. 1, p. 80-86, 2008.
- DOURADO, I. et al. HTLV-1 in the General Population of Salvador, Brazil: A City With African Ethnic and Sociodemographic Characteristics. **JAIDS - Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, Hagerstown, v. 34, n. 5, p. 527-531, 2003.
- DOUVILLE, R.N. et al. HTLV-1 HBZ protein inhibits IRF3-mediated innate immune responses. **Retrovirology**, Londres, v. 8, n. 1, 2011.
- DUMAS, M. et al. Seroepidemiology of human T-cell lymphotropic virus type I/II in Benin (West Africa). **AIDS Research and Human Retroviruses**, Nova York, v. 7, n. 5, p. 447-451, 1991.
- ESHIMA et al. Age and gender specific prevalence of HTLV-1. **Journal of Clinical Virology**, Amsterdã, v. 45, p. 135-138, 2009.
- ESPINOZA, J. L. et al. A Genetic Variant in the IL-17 Promoter Is Functionally Associated with Acute Graft-Versus-Host Disease after Unrelated Bone Marrow Transplantation. **PLOS One**, San Francisco, v. 6, n. 10, 2011.
- FAN, J. et al. APOBEC3G Generates Nonsense Mutations in Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 Proviral Genomes *In Vivo*. **Journal of Virology**, Baltimore, v. 84, n. 14, p. 7278-7287, 2010.
- FERREIRA JÚNIOR, O. C.; PLANELLES, V.; ROSENBLATT, J. D. Human T-cell leukemia viruses: epidemiology, biology, and pathogenesis. **Blood Reviews**, Londres, v. 11, n. 2, p. 91-104, 1997.
- FLORÊNCIO, M. M. et al., 1990 apud LOUREIRO, P. Alterações hematológicas em pacientes com infecção pelo HTLV-1. **Revista Ciências Médicas de Pernambuco**, Recife, v. 7, n. 2, 2011.
- FOSSIEZ, F. et al. T Cell Interleukin-17 Induces Stromal Cells to Produce Proinflammatory and Hematopoietic Cytokines. **The Journal of Experimental Medicine**, Nova York, v. 183, p. 2593-2603, 1996.
- FRACHINI, G. Molecular Mechanisms of Human T-Cell Leukemia/Lymphotropic Virus Type 1 Infection. **Blood**, Nova York, v. 86, n. 10, p. 3619-3639, 1995.
- FRENZEL, L. HTLV-1-associated arthropathy treated with anti-TNF-alpha agent. **Joint Bone Spine**, Paris, v. 81, n. 4, p. 360-361, 2014.

FURAKAWA, 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. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 187, p. 1116-1125, 2003.

FUZZI, H. T. et al. Immunopathogenesis of HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). **Life Sciences**, Oxford, v. 104, p. 9-14, 2014.

GADELHA, S.R. et al. Correlation between polymorphisms at interleukin-6 but not at interleukin-10 promoter and the risk of human T lymphotropic virus type I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis in Brazilian individuals. **Journal of Medical Virology**, Nova York, v. 80, n. 12, p. 2141-2146, 2008.

GAFFEN, S. L. Structure and signalling in the IL-17 receptor family. **Nature Reviews Immunology**, Londres, v. 9, p. 556-567, 2009.

GALLO, R. C. History of the discoveries of the first human retroviruses: HTLV-1 and HTLV-2. **Oncogene**, Basingstoke, v. 24, p. 5926-5930, 2005.

GALLO, R. C. Human retroviruses after 20 years: a perspective from the past and prospects for their future control. **Immunological Reviews**, Copenhagen, v. 185, n. 1, p. 236-265, 2002.

GALLO, R. C.; POIESZ, B. J.; RUSCETTI, F. W. Regulation of human T-cell proliferation: T-cell growth factor and isolation of a new class of type-C retroviruses from human T-cells. **Haematology and Blood Transfusion**, Berlin, n. 26, p. 502-514, 1981.

GALVÃO-CASTRO, B. et al. Distribution of human T-lymphotropic virus type I among blood donors: a nationwide Brazilian study. **Transfusion**, Arlington, v. 37, n. 2, p. 242-243, 1997.

GESSAIN, A. et al. Antibodies to Human T-Lymphotropic Virus Type-I in Patients With Tropical Spastic Paraparesis. **Lancet**, Londres, v. 326, n. 8452, p. 407-410, 1985.

GESSAIN, A. et al. HTLV-3/4 and simian foamy retroviruses in humans: discovery, epidemiology, cross-species transmission and molecular virology. **Virology**, Nova York, v. 435, n. 1, p. 187-199, 2013.

GESSAIN, A.; CASSAR, O. Epidemiological Aspects and World Distribution of HTLV-1 Infection. **Frontiers in Microbiology**, Lausana, v. 3, p. 1-23, 2012.

GESSAIN, A.; GOUT, O. Chronic Myelopathy Associated with Human T-Lymphotropic Virus Type I (HTLV-I). **Annals of Internal Medicine**, Filadélfia, v. 117, n. 11, p. 933-946, 1992.

GHEZ, D. et al. Neuropilin-1 is Involved in Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 Entry. **Journal of Virology**, Baltimore, v. 80, n. 14, p. 6844-6854, 2006.

GONÇALVES, D. U. et al. Epidemiology, Treatment and Prevention of Human T-Cell Leukemia Virus Type 1-Associated Diseases. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 23, n. 3, p. 577-589, 2010.

GONÇALVES, D.U. et al. HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis (HAM/TSP) Inflammatory Network. **Inflammation & Allergy Drug Targets**, San Francisco, v. 7, n. 2, p. 98-107, 2008.

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

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

HAN, L. et al. Association of IL-17A and IL-17F single nucleotide polymorphisms with susceptibility to osteoarthritis in a Korean population. **Gene**, Amsterdã, v. 533, n. 1, p. 119-122, 2014.

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

HAYASHI, R. et al. Influence of IL17A polymorphisms (rs2275913 and rs3748067) on the susceptibility to ulcerative colitis. **Clinical and Experimental Medicine**, Milão, v. 13, n. 4, p. 239-244, 2013.

HYMOWITZ, S. G. et al. IL-17s adopt a cystine knot fold: structure and activity of a novel cytokine, IL-17F, and implications for receptor binding. **The EMBO Journal**, Oxford, v. 20, n. 19, p. 5332-5341, 2001.

IGAKURA, T. et al. Spread of HTLV-I Between Lymphocytes by Virus-Induced Polarization of the Cytoskeleton. **Science**, Nova York, v. 299, n. 5613, p. 1713-1716, 2003.

IJICH, S.; OSAME, M. Human T Lymphotropic Virus Type I (HTLV-I)-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis (HAM/TSP): Recent Perspectives. **Internal Medicine**, Tóquio, v. 34, p. 713-721, 1995.

IVANOV, I. I. et al. The orphan nuclear receptor ROR γ directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells. **Cell**, Cambridge, v. 126, n. 6, p. 1121-1133, 2006.

IZUMO, S. et al. Neuropathology of HTLV-I-Associated Myelopathy: A Report of Two Autopsy Cases. **Pediatrics International**, Carlton South, v. 34, n. 3, p.358-364, 1992.

JACOBSON, S. et al. Immunopathogenesis of HTLV-1 associated neurologic disease: massive latent HTLV-1 infection in bone marrow of HAM/TSP patients. **Leukemia**, Baltimore, v. 3, n. 11, p. 73-75, 1997.

JONES, K. S. et al. Cell-free HTLV-1 infects dendritic cells leading to transmission and transformation of CD4+ T cells. **Nature Medicine**, Nova York, n. 14, p. 429-436, 2008.

- 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**, Baltimore, v. 79, n. 20, p. 12692-12702, 2005.
- JONES, K. S. et al. Molecular Aspects of HTLV-1 Entry: Functional Domains of the HTLV-1 Surface Subunit (SU) and Their Relationships to the Entry Receptors. **Viruses**, Basileia, n. 3, p. 794-810, 2011.
- JOURNO, C.; MAHIEUX, R. HTLV-1 and innate immunity. **Viruses**, Basileia, n. 8, p. 1374-1394, 2011.
- KASHANCHI, F.; BRADY, J. N. Transcriptional and post-transcriptional gene regulation of HTLV-1. **Oncogene**, Basingstoke, n. 24, 2005.
- KAZANJI, M.; GESSAIN, A. Human T-cell Lymphotropic Virus types I and II (HTLV-I/II) in French Guiana: clinical and molecular epidemiology. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 5, p. 1227-1240, 2003.
- KIM, S.W. et al. Genetic polymorphisms of IL-23R and IL-17A and novel insights into their associations with inflammatory bowel disease. **Gut**, Londres, v. 60, n. 11, p. 1527-1536, 2011.
- KINOSHITA, K. et al. Milk-borne transmission of HTLV-1 from carrier mothers to their children. **Japanese Journal of Cancer Research**, Tóquio, v. 78, n. 7, p. 674-680, 1987.
- KITAGAWA, T. et al. Antibodies to HTLV-I in Japanese Immigrants in Brazil. **JAMA - The Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 256, n. 17, 1986.
- KOKORIS, S. I. et al. Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma (ATLL): Report of Two Fully Documented Hellenic Patients. **Leukemia & Lymphoma**, Londres, v. 45, n. 4, p. 715-721, 2004.
- KOLLS, J. K.; LINDÉN, A. Interleukin-17 Family Members and Inflammation. **Immunity**, Cambridge, v. 21, p. 467-476, 2004
- KOSTENSE, S. et al. High viral burden in the presence of major HIV-specific CD8+ T cell expansions: evidence for impaired CTL effector function. **European Journal of Immunology**, Weinheim, n. 31, p. 677-686, 2001.
- KOYANAGI, Y. et al. In vivo infection of human T-cell leukemia virus type I in non-T cells. **Virology**, Nova York, v. 196, n. 1, p. 25-33. 1993.
- KROOM, E. G. et al. HTLV1- e HTLV-2 – O vírus, sua multiplicação e estrutura genômica. In: CARNEIRO-PROIETTI, A. B. F (Org.). **Cadernos Hemominas HTLV**. 5. ed. Belo Horizonte: Fundação Hemominas, 2010, v. 15, p.11-20.
- KRUGLYAK, L.; NICKERSON, D. A. Variation is the spice of life. **Nature Genetics**, Nova York, v. 27, p. 234-236, 2001.

- KUBOTA, R. et al. Degenerate specificity of HTLV-I-specific CD8+ T cells during viral replication in patients with HTLV-I-associated myelopathy (HAM/TSP). **Blood**, Nova York, v. 8, 2002.
- KUESTNER, R. E. et al. Identification of the IL-17 Receptor Related Molecule IL-17RC as the Receptor for IL-17F. **The Journal of Immunology**, Baltimore, v. 179, p. 5462-5473, 2007.
- LAIRMORE, M.D; HAINES, R.; ANUPAN, R. Mechanisms of human T-lymphotropic virus type 1 transmission and disease. **Current Opinion in Virology**, Amsterdã, v. 2, n. 4, p. 474-481, 2012.
- LAL, R. B. et al. Costimulatory effects of T cell proliferation during infection with human T lymphotropic virus types I and II are mediated through CD80 and CD86 ligands. **The Journal of Immunology**, Baltimore, v. 157, n. 3, p. 1288-1296, 1996.
- LE BLANC, I. et al. HTLV-1 structural proteins. **Virus Research**, Amsterdã, v. 78, n. 1, p. 5-16, 2001.
- LEAL, F. E. et al. Expansion in CD39+ CD4+ Immunoregulator T Cells and Rarity of Th17 Cells in HTLV-1 Infected Patients Is Associated with Neurological Complications. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 7, n. 2, 2013.
- LEE, J. et al. IL-17E, a Novel Proinflammatory Ligand for the IL-17 Receptor Homolog IL-17Rh1. **The Journal of Biological Biochemistry**, Baltimore, v. 276, p. 1660-1664, 2001.
- LEVIN, M. C. et al. Autoimmunity due to molecular mimicry as a cause of neurological disease. **Nature Medicine**, Nova York, n. 8, p. 509-513, 2002.
- LI, H. et al. Cloning and characterization of IL-17B and IL-17C, two new members of the IL-17 cytokine family. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, v. 97, n. 2, p. 773-778, 2000.
- LIBERSKI, P. P. et al. Ultrastructural Pathology of a Chilean Case of Tropical Spastic Paraparesis/Human T-cell Lymphotropic Type-I-associated myelopathy (TSP/HAM). **Ultrastructural Pathology**, Nova York, v.23, n.3, p.153-162, 1999.
- LIU, J. et al. Association of IL-17A and IL-17F polymorphisms with gastric cancer risk in Asians: A meta-analysis. **Human Immunology**, Nova York, v. 76, n. 1, p. 6-12, 2015.
- LOUREIRO, P. et al., 1994 apud LOUREIRO, P. **Infecção pelo HTLV-1: diagnóstico e determinação da carga proviral em indivíduos assintomáticos e com enfermidades associadas em serviço de referência no Nordeste**. 2008. Tese. (Doutorado em Saúde Pública) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Recife, 2008.
- MAHIEUX, R.; GESSAIN, A. HTLV-1 and associated adult T-cell leukemia/lymphoma. **Reviews in Clinical & Experimental Hematology**, Genova, v. 7, n. 4, p. 336-361, 2003.

- MAHIEUX, R.; GESSAIN, A. HTLV-3/STLV-3 and HTLV-4 Viruses: Discovery, Epidemiology, Serology and Molecular Aspects. **Viruses**, Basileia, v. 3, n. 7, p. 1074-1090, 2011.
- MALONEY, E. M. et al. A survey of the human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) in South-Western Colombia. **International Journal of Cancer**, Nova York, v. 44, n. 3, p. 419-423, 1989.
- MANEL, N. et al. The Ubiquitous Glucose Transporter GLUT-1 Is a Receptor for HTLV. **Cell**, Cambridge, v. 115, p. 449-459, 2003.
- MANNS, A.; HISADA, M.; LA GRENADE, L. Human T-Lymphotropic virus type I infection. **Lancet**, Londres, v. 353 n. 9168, p. 1951-1958, 1999.
- MÁRQUEZ, A. et al. Influence of the IL17A locus in giant cell arteritis susceptibility. **Annals of the Rheumatic Diseases**, Londres, v. 73, n. 9, 2014.
- MARRIOTT, S. J.; SEMMES, O. J. Impact of HTLV-I Tax on cell cycle progression and the cellular DNA damage repair response. **Oncogene**, Basingstoke, v. 24, p. 5986-5995, 2005.
- MARTIN, F.; TAYLOR, G.P.; JACOBSON, S. Inflammatory manifestations of HTLV-1 and their therapeutic options. **Expert Review of Clinical Immunology**, Londres, v. 10, n. 11, p. 1531-1546, 2014.
- MARTIN-LATIL, S. et al. Transcytosis of HTLV-1 across a tight human epithelial barrier and infection of subepithelial dendritic cells. **Blood**, Nova York, v. 120, n. 3, p. 572-580, 2012.
- MARTINS, M. L. et al. Patogênese da infecção pelo HTLV. In: CARNEIRO-PROIETTI, A. B. F (Org.). **Cadernos Hemominas HTLV**. 5. ed. Belo Horizonte: Fundação Hemominas, 2010, v. 15, p. 30-59.
- MATSUOKA, M.; GREEN, P. L. The HBZ gene, a key player in HTLV-I pathogenesis. **Retrovirology**, Londres, v. 6, n. 71, 2009.
- MATSUOKA, M.; JEANG, K. Human T-cell leukaemia virus type 1 (HTLV-1) infectivity and cellular transformation. **Nature Reviews Cancer**, Londres, n. 7, p. 270-280, 2007.
- MATSUOKA, M.; YASUNAGA, J. Human T-cell leukemia virus type 1: replication, proliferation and propagation by Tax and HTLV-1 bZIP factor. **Current Opinion in Virology**, Amsterdã, n. 3, p. 684-691, 2013.
- MELAMED, A. et al. Clonality of HTLV-2 in Natural Infection. **PLOS Pathogens**, San Francisco, v. 10, n. 3, p. 1-9, 2014.
- MIYAZAKI, Y. et al. Development of a novel redirected T-cell-based adoptive immunotherapy targeting human telomerase reverse transcriptase for adult T-cell leukemia. **Blood**, Nova York, v. 121, n. 24, p. 4894-4901, 2013.

- MONTANHEIRO, P.A. et al. The Elevated Interferon Gamma Production is an Important Immunological Marker in HAM/TSP Pathogenesis. **Scandinavian Journal of Immunology**, Oslo, v. 70, n. 4, p. 403-407, 2009.
- MORGAN, O. HTLV-1 Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis How Far have We Come?. **The West Indian Medical Journal**, Mona, v. 60, n. 6, p. 505-512, 2011.
- MORI, S. et al. Bronchoalveolar lymphocytosis correlates with human T lymphotropic virus type I (HTLV-I) proviral DNA load in HTLV-I carriers. **Thorax**, Londres, v. 60, p. 138-143, 2005.
- MOSELEY, T. A.; HAUDENSCHILD, D. R.; REDDI, A. H. Interleukin-17 family and IL-17 receptors. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, Oxford, n. 14, p. 155-174, 2003.
- MOSMANN, T. R.; MOORE, K. W. The role of IL-10 in crossregulation of Th1 and Th2 responses. **Immunology Today**, Amsterdã, v. 12, n. 3, p. A49-A53, 1991.
- MUNIZ, A.L. et al. Association of cytokines, neurological disability, and disease duration in HAM/TSP patients. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, São Paulo, v. 64, n. 2, 2006.
- MURPHY, E. et al. Human T-Lymphotropic Virus Type I (HTLV-I) Seroprevalence in Jamaica. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, v. 133, n. 11, p. 1114-1124, 1991.
- NAGAI, M. et al. CD8+ cells are an in vivo reservoir for human T-cell lymphotropic virus type I. **Blood**, Nova York, v. 98, n. 6, p. 1858-1861, 2001.
- NAGAI, M.; OSAME, M. Human T-cell lymphotropic virus type I and neurological diseases. **The Journal of Neurovirology**, Basingstoke, v. 9, n. 2, p. 228-235, 2003.
- NAKAE, S. et al. Suppression of Immune Induction of Collagen-Induced Arthritis in IL-17-Deficient Mice. **Journal of Immunology**, Baltimore, n. 171, p. 6173-6177, 2003.
- NAKAGAWA, M. et al. Therapeutic trials in 200 patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **Journal of Neurovirology**, Basingstoke, v. 2, p. 345-355, 1996.
- NAKAMURA, S. et al. Detection of tumor necrosis factor-alpha-positive cells in cerebrospinal fluid of patients with HTLV-I-associated myelopathy. **Journal of Neuroimmunology**, Amsterdã, v. 42, n. 2, p. 127-130, 1993.
- NAKAMURA, T. HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP): the role of HTLV-I-infected Th1 cells in the pathogenesis, and therapeutic strategy. **Folia Neuropathologica**, Varsóvia, v. 47, n. 2, p. 182-194, 2009.
- NEUSIEDLER, J. et al. INT6 interacts with MIF4GD/SLIP1 and is necessary for efficient histone mRNA translation. **RNA**, Nova York, v. 18, p. 1163-1177, 2012.
- NISHIURA, Y. et al. Increased Production of Inflammatory Cytokines in Cultured CD4+ Cells from Patients with HTLV-I-Associated Myelopathy. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**, Sendai, v. 179, n. 4, p. 227-233, 1996.

NORDANG, G.B. et al. Association analysis of the interleukin 17A gene in Caucasian rheumatoid arthritis patients from Norway and New Zealand. **Rheumatology (Oxford)**, Oxford, v. 48, n. 4, 2009.

OCEJO-VINYALS, J. G. et al. The IL-17 G-152A single nucleotide polymorphism is associated with pulmonary tuberculosis in northern Spain. **Cytokine**, Filadélfia, v. 64, p. 58-61, 2013.

OLIVEIRA, S.R.; AVELINO, M.M. Importância Da Infecção Pelo Vírus Linfotrópico–T Humano Tipo 1 (HTLV-1), Síndromes Clínicas Associadas e Transmissão Vertical. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 36, n. 1, p. 18-34, 2007.

ORLAND, J.R. et al. Prevalence and clinical features of HTLV neurologic disease in the HTLV Outcomes Study. **Neurology**, Hagerstown, n. 61, v. 11, p. 1588–1594, 2003.

OSAME, M. et al. HTLV-I Associated Myelopathy, a New Clinical Entity. **Lancet**, Londres, p. 1031-1032, 1986.

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

PENG, Y. et al. Analysis of IL-17 gene polymorphisms in chinese patients with dilated cardiomyopathy. **Human Immunology**, Nova York, v. 74, n. 5, p. 635-639, 2013.

PHILIP, S. et al. Regulation of Human T-Lymphotropic Virus Type I Latency and Reactivation by HBZ and Rex. **PLOS Pathogens**, San Francisco, v. 10, n. 4, 2014.

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

PORTO, M.A.F. et al. Implicações clínicas e imunológicas da associação entre o HTLV-1 e a estrogiloidíase. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 6, p. 641-649, 2002.

PROIETTI, F. A. et al. Global epidemiology of HTLV-1 infection and associated diseases. **Oncogene**, Basingstoke, n. 24, p. 6058-6068, 2005.

QIAGEN. **HTLV-I Replication Cycle**. Disponível em: <<http://www.qiagen.com/products/genes%20and%20pathways/pathway%20details.aspx?pid=229>>. Acesso em 25 fev. 2014.

QUAN, Y. et al. Association between IL17 Polymorphisms and Risk of Cervical Cancer in Chinese Women. **Clinical and Developmental Immunology**, Cairo, v. 2012, 2012.

RODRIGUES, E. S. et al. HTLV-1 infects human mesenchymal stromal cell in vitro and modifies their phenotypic characteristics. **Virology**, Nova York, n. 449, p. 190-199, 2014.

- ROMÁN, C. G.; OSAME, M. Identity of HTLV-I-associated tropical spastic paraparesis and HTLV-I-associated myelopathy. **Lancet**, Londres, v. 1, 1988.
- ROMANELLI, L. C. F.; CARAMELLI, P.; PROIETTI, A. B. F. C. O vírus linfotrópico da célula t humanos tipo 1 (HTLV-1): quando suspeitar da infecção. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 56. p. 340-347, 2010.
- ROMANOS, M. T. V. et al. Viroses Oncogênicas. In: SANTOS, N. S. O.; ROMANOS, M. T. V.; WIGG, M. D. (Org.). **Introdução à Virologia Humana**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008, v. 1, p. 448-478.
- SAGAR, D. et al. In vivo immunogenicity of Tax (11–19) epitope in HLA-A2/DTR transgenic mice: Implication for dendritic cell-based anti-HTLV-1 vaccine. **Vaccine**, Amsterdã, v. 32, n. 26, p. 3274-3284, 2014.
- SÁNCHEZ-MONTALVÁ, A. et al. Cyclosporine for the Treatment of HTLV-1-Induced HAM/TSP: An Experience from a Case Report. **Medicine (Baltimore)**, Baltimore, v. 94, n. 1, 2015.
- SANTOS, S. B.; MUNIZ, A. L.; CARVALHO, E. M. Imunopatogênese da Mielopatia Associada ao HTLV-I. **Gazeta Médica da Bahia**, Salvador, v. 79, n. 1, p. 11-17, 2009.
- SANTOS, S. et al. Immunological features and proviral load in patients with overactive bladder associated with HTLV-1 are indicators of early stage of HTLV-1 Associated Myelopathy. **Revista Ciências Médicas de Pernambuco**, Recife, v. 7, n. 2, 2011a.
- SANTOS, S. et al. Immunological and viral features in patients with overactive bladder indicate an early stage of myelopathy. **Retrovirology**, Londres, v. 8, n. 1, 2011b.
- SANTOS, S.B. Modulation of T Cell Responses in HTLV-1 Carriers and in Patients with Myelopathy Associated with HTLV-1. **Neuroimmunomodulation**, Basileia, v. 13, n. 3, p. 145-151, 2006.
- 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**, Amsterdã, v. 58, n. 1, p. 295-298, 2013.
- SATOU, Y. et al. HTLV-I basic leucine zipper factor gene mRNA supports proliferation of adult T cell leukemia cells. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences USA**, Washington, v. 103, n. 3, p. 720-725, 2006.
- SEGUCHI, T. et al. Human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) associated myelopathy and Sjögren's syndrome representing pulmonary nodular amyloidosis and multiple bullae: report of an autopsy case. **Virchows Archiv**, Berlim, v. 449, n. 6, p. 8740876, 2006.
- SHI, Y. et al. A Novel Cytokine Receptor-Ligand Pair: Identification, molecular characterization, and in vivo immunomodulatory activity. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 275, n. 25 p. 19167-19176, 2000.

SHIBATA, T. et al. Genetic Polymorphism of Interleukin-17A and -17F genes in gastric carcinogenesis. **Human Immunology**, Nova York, v. 70, n. 7, p. 547-551, 2009.

SHIRDEL, A. et al. Association of IL-10 Gene Polymorphisms and Human T Lymphotropic Virus Type I-Associated Myelopathy/tropical Spastic Paraparesis in North-East of Iran (Mashhad). **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, Mashhad, v. 16, n. 3, p. 258-263, 2013.

SHOIEBI, A. et al. Clinical features of HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) in northeast Iran. **Acta Neurologica Belgica**, Milão, v. 113, n. 4, p. 427-433, 2013.

SOUZA-MACHADO, A. et al. Imunopatogênese da infecção pelo HTLV-1: influência sobre a resposta imune Th2. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, São Paulo, v. 26, n. 4, p. 159-167, 2003.

STARLING, A.L.B. et al. Cytokines, chemokines and leukotrienes profile and signature analysis in HTLV-1 infection as an evidence of disease progression. **Retrovirology**, Londres, v. 11, n. 1, 2014.

STARNES, T. Cutting Edge: IL-17F, a Novel Cytokine Selectively Expressed in Activated T Cells and Monocytes, Regulates Angiogenesis and Endothelial Cell Cytokine Production. **The Journal of Immunology**, Baltimore, v. 167, p. 4137-4140, 2001.

STARNES, T. et al. Cutting Edge: IL-17D, a Novel Member of the IL-17 Family, Stimulates Cytokine Production and Inhibits Hemopoiesis. **The Journal of Immunology**, Baltimore, n. 169, p. 642-646, 2002.

SWAIMS, A. Y. et al. Immune activation induces immortalization of HTLV-1 LTR-Tax transgenic CD4+ T cells. **Blood**, Nova York, v. 116, p. 2994-3003, 2010.

TAKAMOTO, T. et al. HTLV-I-infected T cells activate autologous CD4+ T cells susceptible to HTLV-I infection in a costimulatory molecule-dependent fashion. **European Journal of Immunology**, Weinheim, v. 27, n. 6, p. 1427-1432, 1997.

TAKATSUKI, K. Discovery of adult T-cell leukemia. **Retrovirology**, Londres, v. 2, n. 16, p. 02-16, 2005.

TANAKA-NAKANISHI, A. et al. HTLV-1 bZIP factor suppresses apoptosis by attenuating the function of FoxO3a and altering its localization. **Cancer Research**, Chicago, v. 74, n. 1, p. 188-200, 2014.

TAYLOR, G. P. et al. Effect of Lamivudine on Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 (HTLV-1) DNA Copy Number, T-Cell Phenotype, and Anti-Tax Cytotoxic T-Cell Frequency in Patients with HTLV-1-Associated Myelopathy. **Journal of Virology**, Baltimore, v. 73, n. 12, p. 10289-10295, 1999.

UTSUNOMIYA, A. et al. Recent advances in the treatment of adult t-cell leukemia-lymphomas. **Cancer Science**, Oxford, 2015.

- VAN DOREEN, S. J. A. **Molecular investigation of the evolutionary history and diversity of primate T-lymphotropic vírus types 1 and 3.** 2005. Tese – Universiteit Utrecht, Utrecht, 2005.
- VARELLA, P.P.V.; FORTE, W.C.N. Citocinas: revisão. **Brazilian Journal of Allergy and Immunology**, São Paulo, v. 24, n. 4, 2001.
- VARMUS, H. Regulation of HIV and HTLV gene expression. **Genes & Development**, Nova York, n. 2, p. 1055-1062, 1988.
- VASQUEZ, P. et al. Human T-lymphotropic virus type I: new risk for Chilean population. **Blood**, Nova York, n. 78, p. 850-851, 1991.
- VERDONCK, K. et al. Human T-lymphotropic virus 1: recent knowledge about an ancient infection. **The Lancet Infectious Diseases**, Nova York, n. 7, p. 266-281, 2007.
- VERDONCK, K.; GOTUZZO, E. HTLV: revisitando um velho amigo. In: CARNEIRO-PROIETTI, A. B. F (Org.). **Cadernos Hemominas HTLV**. 5. ed. Belo Horizonte: Fundação Hemominas, 2010, v. 15, p. 21-29.
- VERONESI, R. Doenças associadas ao HTLV. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. São Paulo: Atheneu, 2002, p. 422-445.
- WAITE, J. C.; SKOKOS, D. Th17 Response and Inflammatory Autoimmune Diseases. **International Journal of Inflammation**, Londres, p. 01-10, 2011.
- WANG, L. et al. Association Analysis of IL-17A and IL-17F Polymorphisms in Chinese Han Women with Breast Cancer. **PLOS One**, San Francisco, v. 7, n. 3, 2012.
- WILSON, N.J. et al. Development, cytokine profile and function of human interleukin 17–producing helper T cells. **Nature Immunology**, Nova York, v. 8, p. 950-957, 2007.
- WOLFE, D.W. et al. Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, v. 102, n. 22, p. 7994-7999, 2005.
- WRIGHT, J. F. et al. Identification of an Interleukin 17F/17A Heterodimer in Activated Human CD4+ T Cells. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 282, p. 13447-13455, 2007.
- WRIGHT, J. F. et al. The Human IL-17F/IL-17A Heterodimeric Cytokine Signals through the IL-17RA/IL-17RC Receptor Complex. **The Journal of Immunology**, Baltimore, v. 181, p. 2799-2805, 2008.
- WRÓBEL, T. et al. IL-17F gene polymorphism is associated with susceptibility to acute myeloid leukemia. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, Berlim, v. 140, n. 9, p. 1551-1555, 2014.
- YAMADA, R. Primer: SNP-associated studies ant what they can teach us. **Nature Reviews Rheumatology**, Nova York, v. 4, p. 210-217, 2008.

YAMAGUCHI, Y. et al. IL-17B and IL-17C Are Associated with TNF- α Production and Contribute to the Exacerbation of Inflammatory Arthritis. **The Journal of Immunology**, Baltimore, v. 179, p. 7128-7136, 2007.

YAMANO Y. et al. Clinical pathophysiology of human T-lymphotropic virus type 1 – associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis. **Frontiers in Microbiology**, Lausana, v. 389, n. 3, 2012.

YAMAUCHI, J. et al. Mogamulizumab, an Anti-CCR4 Antibody, Targets Human T-Lymphotropic Virus Type 1-infected CD8⁺ and CD4⁺ T Cells to Treat Associated Myelopathy. **The Journal of Infectious Diseases**, Oxford, v. 211, n. 2, p. 238-248, 2015.

YAO, Z. et al. Herpesvirus Saimiri Encodes a New Cytokine, IL-17, Which Binds to a Novel Cytokine Receptor. **Immunity**, Cambridge, v. 3, p. 811-821, 1995b.

YAO, Z. et al. Human IL-17: A Novel Cytokine Derived from T Cells. **The Journal of Immunology**, Baltimore, n. 155, p. 5483-5486, 1995a.

YASUNAGA, J. et al. Impaired production of naive T lymphocytes in human T-cell leukemia virus type I-infected individuals: its implications in the immunodeficient state. **Blood**, Nova York, v. 97, n. 10, 2001.

YOSHIDA, M. Multiple Viral Strategies of HTLV-1 for Dysregulation of Cell Growth Control. **Annual Review of Immunology**, Palo Alto, v. 19, p. 475-496, 2001.

YOSHIDA, M.; MIYOSHI, I.; HINUMA, Y. Isolation and characterization of retrovirus from cell lines of human adult T-cell leukemia and its implication in the disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, v. 79, p. 2031-2035, 1982.

YU, S.L. et al. Immunopathological roles of cytokines, chemokines, signaling molecules, and pattern-recognition receptors in systemic lupus erythematosus. **Clinical and Developmental Immunology**, Cairo, v. 2012, p. 1-14, 2012.

YUAN, L. et al. IL-17 polymorphism is associated with chronic atrophic gastritis. **Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae**, Chung-Ching, 2010.

ZHANG, X. et al. Analysis of the association of interleukin-17 gene polymorphisms with gastric cancer risk and interaction with *Helicobacter pylori* infection in a Chinese population. **Tumor Biology**, Tóquio, v. 35, n. 2, p. 1575-1580, 2014.

ZHOU, B. et al. Interleukin-17 gene polymorphisms are associated with bladder cancer in a Chinese Han population. **Molecular Carcinogenesis**, Nova York, v. 52, n. 11, p. 871-878, 2013.

APÊNDICE A – Questionário clínico

Questionário Clínico do Paciente	
Número Amostra _____	Data da coleta _____
Coletador _____	Recoleta () _____
I - Contato e Identificação	
1- Nome: _____	
2- Sexo: () M () F	3- Cor da Pele (auto classificação) _____
4- Data de nascimento ____/____/____	5- Idade: _____
6- Endereço: _____ n° _____	
Bairro: _____	Cidade: _____ UF: _____
5- Registro HUOC Prontuário n°: _____	Escolaridade - _____
6- Telefone fixo e/ou celular: _____	Email: _____
Primeira consulta: _____	Ano diagnóstico: _____ Idade ao diagnóstico: _____
8- Tempo de diagnóstico da infecção pelo HTLV em anos: _____	
II – Dados do paciente	
9 - Exames sorológicos:	
ELISA: SIM () NAO () NI ()	POS () NEG ()
WB: SIM () NÃO () NI ()	POS () NEG ()
LCR: SIM () NÃO () NI ()	POS () NEG ()
PCR: SIM () NÃO () NI ()	POS () NEG ()
OBS: _____	Tipo viral: 1 () 2 () Ind () NP ()
Obs: 1- por * no exame confirmatório do tipo viral/ 2- local que realizou (Ex. <u>Hemope</u>)/ 3- fazer observação caso esteja no aguardo do exame	
10 – Parasitológico de Fezes: ()+ () - (colocar as datas)	
Parasitoses: _____	
Sumário de Urina: _____	
11 - Outros exames importantes (principalmente alterações)	

Obs: colocar a data de realização dos exames ou da consulta na qual foi apresentado	
12- Presença de Manifestação Clínicas: () SIM () NÃO	
HAM/TSP: () SIM () NÃO	DERMATITE: () SIM () NÃO
UVEITE: () SIM () NÃO	URO: () SIM () NÃO
Obs: colocar a especialidade que deu o diagnóstico. Critério diagnóstico/escala: _____	
Oligossintomático? () SIM () NÃO	() Impotência () Constipação
Manifestações Neurológicas: _____	

Manifestações Urológicas: _____	

Outras manifestações clínicas: _____	

Doador: () SIM () NÃO/ Onde? _____ Encaminhado de: _____	
Co-infecção/Outras doenças: _____	
Via de infecção: () Vertical () Parenteral () Sexual () NI Obs: _____	
Infecção na família: () SIM () NÃO Quem? _____	
11- Outras observações/ Tratamento _____	

APÊNDICE B – Características clínicas e epidemiológicas dos grupos estudados

	HAM/TSP	Assintomáticos	<i>P</i>
Indivíduos, n	29	87	
Idade (média)	55	47.8	0.0042 [†]
Sexo			
Feminino, n (%)	23 (79,3)	52 (59.8)	0.0283*
Masculino	6 (20,7)	35 (40.2)	

Fonte: Elaborada pelo autor.

Nota: *Chi-quadrado / [†] Teste t

APÊNDICE C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título da Pesquisa: Avaliação da influência de fatores biológicos relacionados à resposta imune no desfecho clínico da infecção pelo vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV-1/2).

Eu, _____, após ter recebido os esclarecimentos e ciente dos meus direitos, concordo em participar como voluntário do projeto de pesquisa supracitado, sobre a responsabilidade dos pesquisadores Patrícia Muniz Mendes Freire de Moura, Paula Machado Ribeiro Magalhães, ou ainda da aluna do Mestrado de Biologia Celular e Molecular Aplicada do Instituto de Ciências Biológicas / Universidade de Pernambuco. Também autorizo a divulgação e a publicação de toda informação por mim transmitida em publicações e eventos de caráter científico.

Assinando este Termo de Consentimento estou ciente de que:

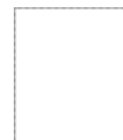
O objetivo dessa pesquisa é fazer um levantamento das características clínicas e epidemiológicas dos indivíduos com HTLV atendidos neste local, bem como investigar os fatores celulares, genéticos e moleculares no sangue dos pacientes com infecção por HTLV e sua influência na progressão para um quadro sintomático e desenvolvimento de doenças de caráter inflamatório. Assim espera-se entender melhor o rumo da infecção pelo HTLV, para que no futuro seja possível um melhor acompanhamento clínico dos pacientes. Durante o estudo será realizada uma coleta de amostras de sangue, as quais serão processadas e armazenadas, para que possam ser submetidas às diversas técnicas, entre elas PCR em tempo real, citometria de fluxo e ELISA, que permitirão atingir o objetivo pretendido. As informações sócio-demográficas e clínicas serão compiladas através da aplicação de um questionário e por meio da coleta de dados do seu prontuário. Os pacientes que preencherem os critérios de doença poderão ser contatados e convidados a participar de uma segunda etapa, onde haverá uma nova coleta de sangue; os mesmos estarão livres para rejeitar nova participação, sem nenhum constrangimento.

1. Obtive todas as informações necessárias para poder conscientemente decidir sobre a minha participação na referida pesquisa;
2. Estou livre para interromper a qualquer momento minha participação na pesquisa, sem nenhuma forma de prejuízo a esta instituição.
3. Os autores da pesquisa se comprometem a preservar a minha privacidade e me assegurar a confidencialidade dos dados e informações coletadas, garantindo que os resultados obtidos serão utilizados apenas para alcançar os objetivos do trabalho, expostos acima, incluídos sua publicação na literatura científica especializada.
4. Dúvidas ou outras informações posteriores poderão ser obtidas com a equipe da pesquisa nos telefones (81) 31833510, (81) 95254069, ou ainda no (81) 31841344 (ambulatorio DIP- HUOC), no endereço R. Arnóbio Marques, 310, Santo Amaro, Recife/PE.
5. Poderei contatar o Comitê de Ética do HUOC para apresentar recursos ou reclamações em relação à pesquisa ou ensaio clínico, o qual tomará as medidas cabíveis. O mesmo está localizado no campus na Rua Arnóbio Marques, 310, Santo Amaro, Recife-PE, CEP: 50100-300 - Telefone 81-3184.1271 / e-mail: cep_huoc.procaprocape@yahoo.com.br

Recife, ___ de _____ de 20__.

Voluntário R.G.: _____

Pesquisador



ANEXOS

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa HUOC/PROCAPE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação dos fatores biológicos envolvidos na resposta imune em pacientes com infecção pelo vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV-1/2)

Pesquisador: Patrícia Muniz Mendes Freire de Moura

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 2

CAAE: 16973113.5.1001.5192

Instituição Proponente: FUNDACAO UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 416.875

Data da Relatoria: 07/10/2013

Apresentação do Projeto:

A imunopatologia do HTLV não tem sido completamente elucidada, sabe-se que diversos mecanismos contribuem na patogênese, entre eles a carga pró-viral, alterações nas populações de células T e ação das mesmas, o desenvolvimento de autoimunidade, os níveis de citocinas, entre outros. Neste contexto este estudo visa analisar as populações celulares, investigar a frequência de polimorfismos em genes relacionados às moléculas do sistema imune, bem como dosar tais moléculas, relacionando estes fatores biológicos no sangue periférico com o desfecho clínico dos pacientes portadores de HTLV.

Objetivo da Pesquisa:

Análise das populações celulares envolvidas na resposta imune, predominantemente linfócitos, no sangue periférico de portadores de HTLV, estabelecendo as diferenças de perfil celular e molecular entre os indivíduos controle sem infecção, pacientes com manifestações inflamatórias e os pacientes assintomáticos

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Adequados

COMPLEXO HOSPITALAR
HUOC/PROCAPE



Continuação do Parecer: 416.875

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante no intuito de compreender mecanismos envolvidos nas manifestações clínicas da infecção pelo HTLV.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos de apresentação obrigatórios adequados

Recomendações:

sem recomendação

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

projeto aprovado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

projeto aprovado

RECIFE, 07 de Outubro de 2013

Assinador por:
RAQUEL ROFFÉ
(Coordenador)

Endereço: Rua Arnóbio Marques, 310
Bairro: Santo Amaro CEP: 50.100-130
UF: PE Município: RECIFE
Telefone: (81)3184-1271 Fax: (81)3184-1271 E-mail: cep_huoc.procaprocape@yahoo.com.br