



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS

MESTRADO ACADÊMICO EM PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇAS  
INFECCIOSAS

NICOLE LARDINI FREITAS

**ESTUDO DE FATORES NEUROINFLAMATÓRIOS ASSOCIADOS À LESÃO  
NEURONAL E INFLAMAÇÃO NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL NA  
INFECÇÃO POR HTLV-1**

Rio de Janeiro  
2021

NICOLE LARDINI FREITAS

**ESTUDO DE FATORES NEUROINFLAMATÓRIOS ASSOCIADOS À LESÃO  
NEURONAL E INFLAMAÇÃO NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL NA  
INFECÇÃO POR HTLV-1**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação *strictu sensu* do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas para obtenção do título de Mestre em Ciências na área de concentração: Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas.

Orientador: Otávio de Melo Espíndola, Ph.D.

Coorientador: Marcus Tullius Teixeira da Silva, MD, Ph.D.

Rio de Janeiro

2021

## FICHA CATALOGRÁFICA

Freitas, Nicole Lardini.

ESTUDO DE FATORES NEUROINFLAMATÓRIOS ASSOCIADOS À LESÃO NEURONAL E INFLAMAÇÃO NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL NA INFECÇÃO POR HTLV-1 / Nicole Lardini Freitas. - Rio de Janeiro, 2021.

94 f.; il.

Dissertação (Mestrado) - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, 2021.

Orientador: Otávio de Melo Espíndola.

Co-orientador: Marcus Tullius Teixeira da Silva.

Bibliografia: Inclui Bibliografias.

1. Fatores neuroinflamatórios. 2. Lesão neuronal. 3. Inflamação no sistema nervoso central. 4. HTLV-1. I. Título.

NICOLE LARDINI FREITAS

**ESTUDO DE FATORES NEUROINFLAMATÓRIOS ASSOCIADOS À LESÃO  
NEURONAL E INFLAMAÇÃO NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL NA  
INFECCÃO POR HTLV-1**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação *strictu sensu* do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas para obtenção do grau de Mestre em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas.

Orientador: Otávio de Melo Espíndola, Ph.D.

Coorientador: Marcus Tullius Teixeira da Silva, MD, Ph.D.

BANCA EXAMINADORA

---

Dr<sup>a</sup>. Flávia dos Santos Souza  
INI-Fiocruz

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Juliana Echevarria Neves de Lima  
UFRJ

---

Dr<sup>a</sup>. Ana Teresa Gomes Fernandes  
INI-Fiocruz

---

Dr<sup>a</sup>. Ana Claudia Celestino Bezerra Leite  
INI-Fiocruz

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me sustentar durante todo esse tempo.

Ao meu esposo Víctor por toda ajuda e compreensão.

A minha família e amigos por todo apoio.

Ao meu orientador Dr. Otávio Espíndola, por todos os ensinamentos, pela paciência e orientação científica durante todo esse trabalho.

Aos membros do Laboratório de Pesquisa Clínica em Neuroinfecções, em especial ao Yago Gomes pelo auxílio com as análises estatísticas, e aos médicos neurologistas do grupo de pesquisa, Dra. Ana Claudia Leite, Marco Lima, Marcus Tullius Silva e Abelardo Araújo, pela colaboração no recrutamento dos pacientes e coleta de amostras biológicas.

Ao Rafael Carvalho do Serviço de Citometria de Fluxo do Instituto de Puericultura e Pediatria (IPPMG) da UFRJ pelo auxílio na utilização do citômetro de fluxo.

À Dra. Juliana Echevarria, do Departamento de Imunologia do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da UFRJ, pelo acompanhamento durante os Seminários Científicos.

À Fundação Oswaldo Cruz pela bolsa de estudos, e pelo apoio financeiro proveniente do Edital INOVA – Novos Talentos concedido ao Dr. Otávio Espíndola.

À Pós-graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, aos coordenadores, docentes e secretárias.

Meu muito obrigada!!

## RESUMO

Na infecção por HTLV-1, a maioria dos indivíduos evolui de forma assintomática e somente 1% a 5% desenvolve um processo inflamatório no sistema nervoso central (SNC), de caráter progressivo, que promove a morte de neurônios e compromete a função motora, denominado mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP). No entanto, a patogênese da HAM/TSP ainda não é totalmente compreendida, e a definição de marcadores de neuroinflamação possibilitaria um melhor acompanhamento dos indivíduos. Por isso, este estudo teve como objetivo quantificar fatores associados aos processos neuroinflamatórios no soro e no líquido cefalorraquidiano (LCR) de portadores assintomáticos (ACs) (n=13), de pacientes com HAM/TSP (n=20), e de indivíduos não infectados (n=9), dentre eles: VILIP-1, BDNF, TGF- $\beta$ 1, VEGF, IL-6, sTREM-1, sTREM-2,  $\beta$ -NGF, IL-18, TNF- $\alpha$ , sRAGE, e fractalkina. Para tal, foi usado um ensaio multiplex com esferas magnéticas e leitura do ensaio por citometria de fluxo. Os resultados foram avaliados em função de dados prévios do LCR, tais como marcadores de neuroinflamação, incluindo pleocitose, neopterin, quimiocinas e concentração de proteínas totais; marcadores de morte neuronal, incluindo a proteína Tau e as cadeias do neurofilamento leve (NfL) e pesada; além da carga proviral e da velocidade de progressão da HAM/TSP. Foi observado que BDNF estava aumentado no soro de ACs em relação a indivíduos não infectados. Foi observado um aumento de fractalkina no soro de pacientes com HAM/TSP, o que pode estar associado com a maior expressão de IFN- $\gamma$  nestes indivíduos. Por outro lado, TGF- $\beta$ 1 foi reduzido no LCR de indivíduos infectados por HTLV-1, independentemente do estado neurológico, possivelmente como resultado de processos neurodegenerativos ativos ou insidiosos. A concentração de  $\beta$ -NGF no soro de pacientes com HAM/TSP foi mais elevada em indivíduos com níveis normais de NfL, independentemente da carga proviral, indicando que este aumento não está diretamente associado ao controle da infecção na periferia. Pacientes com HAM/TSP e neuroinflamação ativa, indicada por índices de razão LCR/soro de neopterin  $\geq 1$  e de CXCL10  $\geq 2$ , apresentaram níveis reduzidos de fractalkina no soro. Contudo, os níveis de fatores neuroinflamatórios avaliados no LCR e soro não se mostraram associados à velocidade de progressão da HAM/TSP. Pacientes com HAM/TSP com sinais de inflamação ativa do SNC apresentaram níveis mais altos de IL-18 no LCR, que correlacionaram com marcadores de inflamação, morte neuronal, e de permeabilidade da barreira hematoencefálica, sugerindo o envolvimento de mecanismos mediados por inflamassomas no desenvolvimento da HAM/TSP.

**Palavras-chave:** HTLV-1; HAM/TSP; Fatores neuroinflamatórios.

## ABSTRACT

In HTLV-1 infection, most individuals remain as asymptomatic carriers (ACs) and only 1% to 5% develop a progressive inflammatory process in the central nervous system (CNS), resulting in the death of neurons and the compromise of the motor function, named HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). However, HAM/TSP pathogenesis is still not completely understood, and the definition of neuroinflammation biomarkers would enable better monitoring of individuals. Therefore, this study aimed to quantify factors associated with neuroinflammation. Serum and cerebrospinal fluid (CSF) samples from ACs (n=13), HAM/TSP patients (n=20), and uninfected individuals (n=9) were used in the quantification of VILIP-1, BDNF, TGF- $\beta$ 1, VEGF, IL-6, sTREM-1, sTREM-2,  $\beta$ -NGF, IL-18, TNF- $\alpha$ , sRAGE, and fractalkine. Thus, a multiplex assay using magnetic beads and data acquisition by flow cytometry was used. The results were evaluated according to previous CSF data, such as neuroinflammation markers, including pleocytosis, neopterin, chemokines and total protein concentration; biomarkers of neuronal death, including Tau protein and neurofilament light (NfL) and heavy chains; in addition to HTLV-1 proviral load and the speed of HAM/TSP progression. It was observed that BDNF was increased in the serum of ACs compared to uninfected individuals. Fractalkine was increased in the serum of HAM/TSP patients, which was likely associated with increased IFN- $\gamma$  expression in these individuals. On the other hand, TGF- $\beta$ 1 was reduced in the CSF of HTLV-1 infected individuals, regardless of the neurological status, as a possible result of active or insidious neurodegeneration. Serum concentration of  $\beta$ -NGF in HAM/TSP patients was higher in patients with normal NfL levels, regardless of their proviral load, indicating that this increase was not directly associated with infection control in the periphery. HAM/TSP patients with active neuroinflammation, as shown by CSF/serum ratios of neopterin  $\geq 1$  and of CXCL10  $\geq 2$ , had reduced serum fractalkine levels. However, the levels of neuroinflammatory factors assessed in CSF and serum samples were not associated with the speed of HAM/TSP progression. HAM/TSP patients with signs of active CNS inflammation had higher CSF levels of IL-18, which correlated with markers of inflammation, neuronal death, and blood-brain barrier permeability, suggesting the involvement of inflammasome-mediated mechanisms in HAM/TSP development.

**Keywords:** HTLV-1; HAM/TSP; Neuroinflammatory factors.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura das partículas imaturas e maduras de HTLV-1. ....	11
Figura 2 – Estrutura do genoma proviral de HTLV-1 e seus transcritos.....	12
Figura 3 – Prevalência da infecção por HTLV-1 no mundo. ....	15
Figura 4 – Lesão medular na HAM/TSP.....	15
Figura 5 – TREM-1 e sTREM-1 na inflamação.....	20
Figura 6 – Encéfalo e medula espinhal.....	24
Figura 7 – BDNF e a ligação do receptor TrkB. ....	25
Figura 8 – Sinalização de TGF- $\beta$ 1. ....	27
Figura 9 – Transdução de sinal por meio da família VEGF.....	30
Figura 11 – Receptor NGF ou Pró-NGF. ....	36
Figura 13 – Atividade biológica do TNF- $\alpha$ transmembrana e solúvel.....	42
Figura 14 – Representação esquemática da estrutura RAGE e modelo de sRAGE.....	44
Figura 15 – Fractalkina ligada à membrana/CX3CL1. ....	46
Figura 16 – Níveis séricos de fatores associados a processos neuroinflamatórios.....	55
Figura 17 – Análise de correlação dos níveis séricos de fatores ligados à neuroinflamação. ...	56
Figura 18 – Correlação entre níveis séricos de fatores associados a processos neuroinflamatórios, neopterin e CPV de HTLV-1.....	57
Figura 19 – Correlação entre níveis séricos de fatores ligados à neuroinflamação e de quimiocinas.....	58
Figura 20 – Níveis de fatores associados a processos neuroinflamatórios no LCR.....	59
Figura 21 – Análise de correlação dos níveis de fatores ligados à neuroinflamação no LCR. ....	60
Figura 22 – Correlação de fatores ligados à neuroinflamação e dados de bioquímica, celularidade, níveis de neopterin e de marcadores de morte neuronal no LCR... ..	60
Figura 23 – Correlação entre níveis de fatores ligados à neuroinflamação e de quimiocinas no LCR.....	61
Figura 24 – Níveis séricos de $\beta$ -NGF em função de alterações nos níveis de NfL no LCR. ....	62
Figura 25 – Níveis séricos de fractalkina em função da atividade de neuroinflamação. ....	62
Figura 26 – Níveis de IL-18 no LCR em função da pleocitose e atividade de inflamação. ....	63
Figura 27 – Expressão relativa no soro de fatores ligados a processos neuroinflamatórios. ....	64
Figura 28 – Expressão relativa no LCR de fatores ligados a processos neuroinflamatórios....	64



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A $\beta$  –  $\beta$  amiloide

$\beta$ -NGF – Fator de Crescimento Neuronal Beta

ACs – Portadores Assintomáticos

ADAM – Domínio de Desintegrina e Metaloproteinase

AGE – Produtos Finais de Glicosiação Avançada

APP – Proteína Precursora Amiloide

ATLL – Leucemia/Linfoma de Células T do Adulto

BDNF – Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro

b-FCF – Fator básico de Crescimento de Fibroblastos

CTLs – Linfócitos T Citotóxicos

DAMPs – Padrões Moleculares Associados a Perigos

DCJ – Doença de Creutzfeldt Jakob

DNNI – Doenças Neurológicas Não Inflamatórias

DMRI – Degeneração Macular Relacionada à Idade

EAE – Encefalite autoimune experimental (EAE)

ERK – Quinase Relacionada ao Sinal Extracelular

FCDP – Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas

FCP – Fator de Crescimento da Placenta

HAM/TSP – Mielopatia Associada ao HTLV-1/Paraparesia espástica tropical

HBZ – HTLV-1 *Basic leucine Zipper*

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

HMGB1 – Proteína do Grupo 1 de Alta Mobilidade

HTLV-1 – Vírus Linfótropico para Células T Humanas

IFN- $\gamma$  – Interferon Gama

IL – Interleucina

IS – Indivíduos Saudáveis

ITAM – Receptor Baseado em Tirosina

LCR – Líquido Cefalorraquidiano

LPS – Lipopolissacarídeo Bacteriano

MAPK – Proteína Quinase Ativada Por Mitogênio

MCP-1 – Proteína Quimiotática de Monócitos 1  
NF-IL-6 – Fator Nuclear IL-6  
NO – Óxido Nítrico  
NOD – Receptores de Oligomerização do Domínio de Nucleotídeo  
NT – Neurotrofina  
ODNI – Outras Doenças Neurológicas Inflamatórias  
PAMPs – Padrões Moleculares Associados a Patógenos  
PBMC – Células Mononucleares de Sangue Periférico  
pRb – Proteína de Retinoblastoma  
PRRs – Receptores de Reconhecimento de Padrões  
ROS – Espécies Reativas de Oxigênio  
SNC – Sistema Nervoso Central  
SNP – Sistema Nervoso Periférico  
sTREM-1 – Receptor Solúvel de Disparo Expresso em Células Mielóides do Tipo 1  
sTREM-2 – Receptor Solúvel de Disparo Expresso em Células Mielóides do Tipo 2  
Teff – Células T Efetoras  
TGF- $\beta$ 1 – Fator de Crescimento Transformador Beta 1  
TLRs – Receptores Toll-like  
TNF- $\alpha$  – Fator de Necrose Tumoral Alfa  
Treg – Células T Reguladoras  
VEGF – Fator de Crescimento Endotelial Vascular  
VILIP-1 – Proteína do Tipo Visina 1

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	10
<b>1.1</b>	<b>HTLV-1</b>	10
1.1.1	Proteína Tax de HTLV-1	12
1.1.2	Regulação da expressão do provírus de HTLV-1	13
<b>1.2</b>	<b>DISTÚRBIOS NEUROLÓGICOS ASSOCIADOS AO HTLV-1</b>	14
<b>1.3</b>	<b>FATORES ASSOCIADOS A PROCESSOS NEUROINFLAMATÓRIOS</b>	17
1.3.1	Proteína 1 do tipo visina (VILIP-1)	17
1.3.2	sTREM-1	19
1.3.3	sTREM-2	21
1.3.4	Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF)	23
1.3.5	Fator de crescimento transformador $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1)	25
1.3.6	Fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)	28
1.3.7	Interleucina 6 (IL-6)	31
1.3.8	Fator de crescimento neuronal beta ( $\beta$ -NGF)	34
1.3.9	Interleucina 18 (IL-18)	37
1.3.10	Fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ )	40
1.3.11	Receptor solúvel para produtos finais de glicosilação avançada (sRAGE)	42
1.3.12	Fractalkina (CX3CL1)	45
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b>	48
<b>3</b>	<b>OBJETIVO GERAL</b>	49
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	49
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b>	49
4.1	TIPO DE ESTUDO E ASPECTOS ÉTICOS	49
4.2	CASUÍSTICA, COLETA DE DADOS E DE MATERIAL BIOLÓGICO	50
4.2.1	Critérios de inclusão	50
4.2.2	Critérios de exclusão	50
4.3	DOSAGEM DE FATORES ASSOCIADOS À NEUROINFLAMAÇÃO	51
4.4	PLANO DE ANÁLISE	52
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	52
5.1	ASPECTOS GERAIS E CLÍNICOS DA POPULAÇÃO DO ESTUDO	52
5.2	FATORES ASSOCIADOS A PROCESSOS NEUROINFLAMATÓRIOS	55
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	65
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	72
	REFERÊNCIAS	74

# 1 INTRODUÇÃO

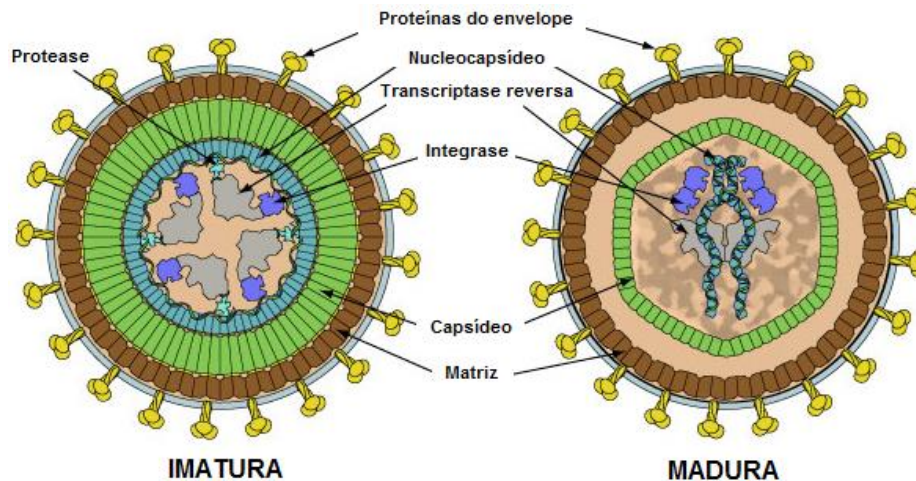
## 1.1 HTLV-1

O vírus linfotrópico para células T humanas do tipo 1 (HTLV-1) é um membro da família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae*, gênero *Deltaretrovirus*, que foi descrito em 1980 nos Estados Unidos (GALLO, 2005). A sua transmissão pode ocorrer por três principais vias: de modo vertical (da mãe para o filho), através do aleitamento materno, pelo sexo sem uso de preservativo, e através da transfusão de produtos sanguíneos contaminados (BANGHAM *et al.*, 2015; DONEGAN *et al.*, 1994). No Brasil, a triagem universal obrigatória de doadores de sangue para HTLV-1/2 foi implementada em 1993, através da Portaria n° 1.376 do Ministério da Saúde (BRASIL, 1993), com o objetivo de prevenir a infecção por meio de transfusão de sangue. Além disso, a doação de órgãos e tecidos segue as recomendações previstas na Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N° 220, de 27 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006).

As partículas de HTLV-1 possuem estrutura semelhante à de outros retrovírus, sendo envelopadas e contendo espículas compostas por trímeros de duas glicoproteínas, derivadas da proteína precursora codificada pelo gene viral *env*: a subunidade de superfície gp46 e a subunidade transmembranar gp21, que são geradas a partir da clivagem do precursor (gp61). As proteínas gp46 e gp21 atuam no processo de internalização viral (Figura 1), em que a gp46 está envolvida em interações diretas com receptores na superfície celular dos linfócitos, e se mantém ancorada ao envelope viral por ligação a gp21, que por sua vez desempenha a fusão entre as membranas viral e celular (GHEZ *et al.*, 2010). O envelope viral recobre um capsídeo composto por proteínas derivadas do precursor codificado por *gag* (GRIGSBY *et al.*, 2010) que, geralmente, após o brotamento, ou imediatamente após a liberação de partículas imaturas, sofre clivagem pela protease viral, originando as proteínas de matriz, do capsídeo e do nucleocapsídeo, resultando na maturação do *core* viral (LE BLANC; ROSENBERG; DOKHÉLAR, 1999) (Figura 1). Após processamento, as proteínas geradas se reorganizam, originando partículas maduras e estruturalmente distintas: a proteína de matriz permanece associada à gp21, enquanto as proteínas de capsídeo sofrem mudanças conformacionais, formando o capsídeo, que protege o ácido ribonucleico (RNA) genômico associado às nucleoproteínas, além de enzimas virais, tais como a transcriptase reversa e a integrase,

essenciais ao processo de integração do genoma viral ao ácido desoxirribonucleico (DNA) celular para a formação do provírus (WYCUFF; GOFF; MARRIOTT, 2001) (Figura 1).

**Figura 1 – Estrutura das partículas imaturas e maduras de HTLV-1.**



**Legenda:** As partículas de HTLV-1 são envelopadas e apresentam espículas compostas por trímeros das glicoproteínas gp46 e gp21. O envelope recobre um capsídeo composto por proteínas derivadas da proteína precursora Gag que, após o brotamento das partículas, é clivada pela protease viral. O processamento de Gag gera as proteínas da matriz, do capsídeo e do nucleocapsídeo, que, após reorganização, dão origem a partículas virais maduras. O capsídeo abriga um genoma constituído por duas cópias de RNA de fita simples de polaridade positiva, que está associado às nucleoproteínas, à transcriptase reversa e à integrase.

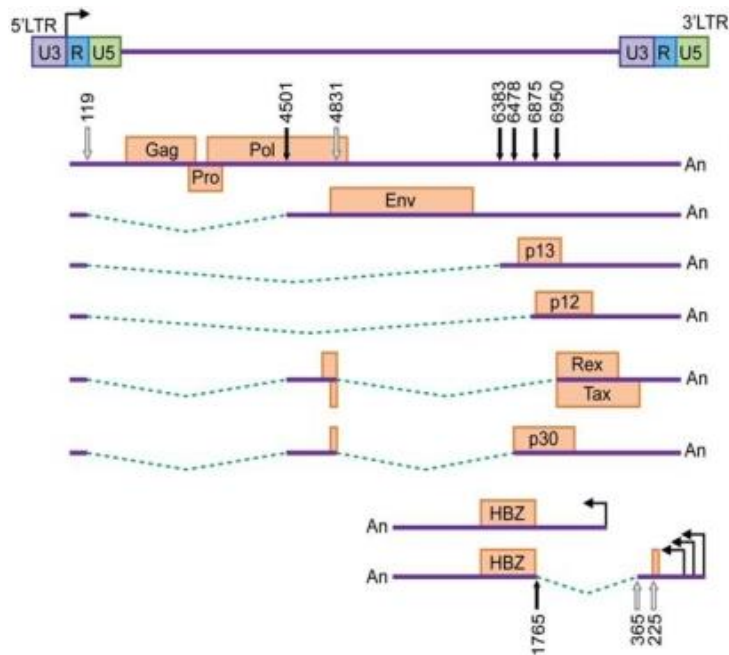
**Fonte:** Imagem retirada da página da Universidade de Zurique: SIB Swiss Institute of Bioinformatics, 2009.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Disponível em: [http://viralzone.expasy.org/all\\_by\\_species/60.html](http://viralzone.expasy.org/all_by_species/60.html).

Acesso em: 5 Ago. 2021.

Assim, como outros retrovírus, o provírus de HTLV-1 é composto por uma molécula de DNA de fita dupla integrada ao DNA celular e possui os genes estruturais *gag*, *pol* e *env*, e repetições terminais longas (LTR) nos terminais 5' e 3' (GAUDRAY *et al.*, 2002). As LTRs contêm três regiões: única 3' (U3), repetida (R) e única 5' (U5), que possuem sequências promotoras da transcrição viral. O gene *pol* codifica para proteínas com funções de transcriptase reversa, protease e integrase, enquanto *gag* codifica para proteínas do *core* viral, e *env* para proteínas de superfície do envelope. Entre *env* e a 3'-LTR, se localiza uma região denominada pX, que codifica para as proteínas reguladoras Tax, Rex, p12, p13, p30 e p21 (MATSUOKA; JEANG, 2007). Além disso, a fita complementar do provírus codifica para a proteína denominada fator básico de zíper de leucina de HTLV-1 (HBZ), que influencia a proliferação e a sobrevivência de células T infectadas e atua como um regulador da expressão de Tax (SATOU *et al.*, 2006; KANNIAN; GREEN, 2010) (Figura 2).

**Figura 2 – Estrutura do genoma proviral de HTLV-1 e seus transcritos.**



**Legenda:** O DNA proviral com as LTRs, e os transcritos que não são submetidos ao *splicing*, ou que sofrem a retirada de um ou dois íntrons, estão apresentados em escala. Os nomes dos genes estão destacados em caixas de texto, que representam a região codificante para as proteínas. Linhas sólidas representam exons, enquanto linhas pontilhadas indicam íntrons. Sítios de *splicing* estão indicados por setas e os números representam as posições dos nucleotídeos relativos aos RNAs virais.

**Fonte:** KANNIAN; GREEN (2010).

### 1.1.1 Proteína Tax de HTLV-1

Além de proteínas estruturais (Gag, Pol e Env), o genoma de HTLV-1 codifica proteínas reguladoras como Tax e Rex, que são cruciais à replicação viral e possuem papel na patogênese (JIN; JEANG, 1997). A proteína Tax de HTLV-1 é uma fosfoproteína de 40 kDa, descrita como uma proteína nuclear e, posteriormente, detectada também no citoplasma (ALEFANTIS *et al.*, 2005; TURCI *et al.*, 2006). No citoplasma, Tax está associada ao complexo de Golgi e regiões de contato entre células (NEJMEDDINE *et al.*, 2005), enquanto no núcleo, a localização de Tax se sobrepõe aos sítios de transcrição gênica (SEMMES; JEANG, 1996). Conforme resumido por CURRER *et al.* (2012), a proteína de ligação ao elemento responsivo ao cAMP (CREB) é capaz de interagir diretamente com sequências presentes na região U3 da LTR, denominadas elementos responsivos a Tax (TRE). Desse modo, CREB é recrutada por Tax e a participação de cofatores, como CBP/p300, estimula a transcrição do provírus (CURRER *et al.*,

2012). Tax também interage com outros fatores de transcrição, tais como o fator nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), o fator de resposta ao soro (SRF) e à proteína de ligação à TATA box (TBP) (JIN; JEANG, 1997), interferindo assim com diferentes processos celulares. De fato, tem sido demonstrado que a transfecção com Tax é suficiente para imortalizar células T *in vitro* (CURRER *et al.*, 2012). Dessa forma, Tax regula não somente a expressão proviral de HTLV-1, mas também a função de vários genes celulares, sendo capaz de modular diferentes fatores envolvidos no controle do ciclo celular, de vias de transdução de sinais, além de interferir com mecanismos de reparo do DNA (SAGGIORO, 2011).

### 1.1.2 Regulação da expressão do provírus de HTLV-1

Na infecção por HTLV-1, a replicação viral é pouco frequente e a manutenção da infecção se dá principalmente pela proliferação de células contendo o provírus de HTLV-1, e esta hipótese se baseia em três principais evidências: (1) níveis indetectáveis de mRNA para proteínas virais estruturais ou de expressão de proteínas na maioria das células infectadas; (2) níveis indetectáveis de partículas virais livres no plasma; (3) estabilidade genética da sequência genômica viral devido à participação limitada da atividade de transcrição reversa, altamente propensa a erros (ASQUITH *et al.*, 2000). No entanto, estudos longitudinais com portadores de HTLV-1 tem indicado que os padrões de integração proviral apresentam contínua evolução ao longo do tempo (UMEKI *et al.*, 2009), provavelmente como resultado da resposta de células T citotóxicas (CTL), especialmente contra as proteínas virais Tax e HBZ. Esse processo causa uma ativação crônica de respostas imunes em função da expressão persistente de antígenos virais. No entanto, como HTLV-1 estabelece mecanismos de latência e reativação ainda não é claro. A proteína Tax é um potente ativador da transcrição mediada por NF- $\kappa$ B (MATSUOKA; JEANG, 2007), e a hiperativação de NF- $\kappa$ B por Tax pode induzir processos de senescência celular (ZHI *et al.*, 2011). Notavelmente, HBZ, uma proteína reguladora codificada pela transcrição da fita anti-senso do provírus (GAUDRAY *et al.*, 2002) inibe a ativação de NF- $\kappa$ B (ZHAO *et al.*, 2009), atenuando, assim, a senescência induzida por Tax (ZHI *et al.*, 2011). Esses dados têm levantado a hipótese de que a infecção por HTLV-1 pode resultar em dois desfechos, que são ditados pelos níveis de Tax e HBZ. Quando expressa em níveis elevados, Tax estimula a replicação viral, ativando NF- $\kappa$ B e desencadeando uma resposta de *checkpoint* de senescência.

Por outro lado, baixos níveis de Tax e níveis mais elevados de HBZ resultam em ativação moderada de NF- $\kappa$ B, evitando a senescência e garantindo a sobrevivência de células infectadas.

A infecção por HTLV-1 pode resultar em infecção produtiva, com expressão de proteínas virais reguladoras e estruturais, e a ativação de NF- $\kappa$ B e a indução de senescência; ou em expressão viral limitada e restrita às proteínas reguladoras. Tem sido sugerido que a replicação de HTLV-1 também é regulada por HBZ, que reduz a ativação da 5'-LTR e de NF- $\kappa$ B por Tax. Curiosamente, HBZ é capaz de inibir a exportação de mRNA virais imaturos, ou seja, contendo íntrons, mediada pela proteína viral Rex, bloqueando assim a expressão de Gag, Pol e Env e consequentemente, a produção de vírus. Com isso, a expressão de Tax e de HBZ durante a fase inicial da infecção por HTLV-1 é responsável por modular a proliferação e sobrevivência de células infectadas (PHILIP *et al.*, 2014).

## 1.2 DISTÚRBIOS NEUROLÓGICOS ASSOCIADOS AO HTLV-1

A distribuição de casos de infecção por HTLV-1 ocorre de modo heterogêneo no mundo, sendo observadas regiões endêmicas no Japão, Caribe, África, América do Sul, e Oriente Médio (Figura 3) (HANAOKA; KUBO; SAITOH, 2012). Além disso, a notificação do número de portadores de HTLV-1 não é precisa, sendo estimado que 5 a 10 milhões de indivíduos estejam infectados no mundo (GESSAIN; CASSAR, 2012).

A infecção por HTLV-1 está associada a duas principais doenças: a mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP), e uma malignidade denominada leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL) (ARAÚJO; SILVA, 2006). A maioria dos indivíduos infectados cursa do modo assintomático. No entanto, cerca de 1 a 5% dos indivíduos infectados desenvolvem a HAM/TSP, que é um distúrbio inflamatório progressivo do sistema nervoso central (SNC), em que a morte de neurônios compromete a função motora (BANGHAM *et al.*, 2015). A HAM/TSP é uma doença desmielinizante e atinge principalmente o segmento torácico da medula espinhal (Figura 4), e a maioria dos pacientes cita a fraqueza de membros inferiores como sintoma inicial (KHAN *et al.*, 2017; OSAME, 2002). Outros sintomas são dor na região lombar, bexiga neurogênica, distúrbios esfínterianos, distúrbios de ereção, alterações sensoriais (parestesias), e neuropatia periférica (UMEHARA *et al.*, 1993).



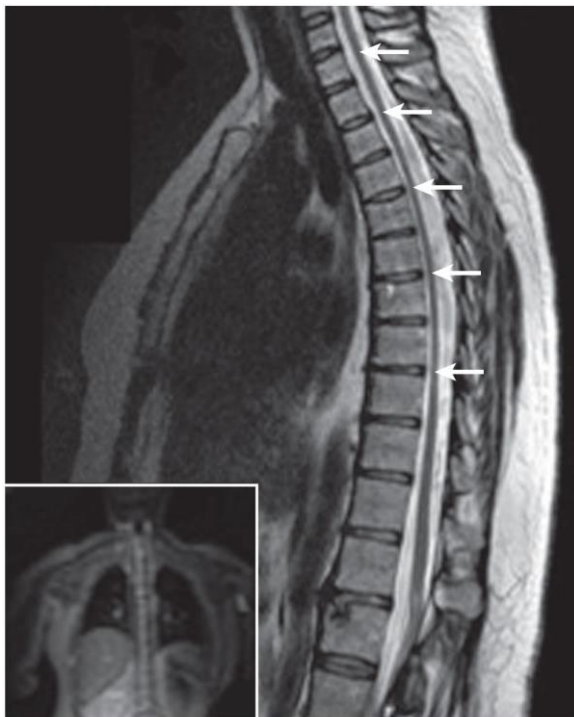
**Figura 3 – Prevalência da infecção por HTLV-1 no mundo.**



**Legenda:** Círculos em azul indicam o número estimado de indivíduos infectados por HTLV-1 em áreas endêmicas, tais como Japão, Caribe, África Ocidental, América do Sul, Oceania, e Oriente Médio.

**Fonte:** BANGHAM *et al.* (2015).

**Figura 4 – Lesão medular na HAM/TSP.**



Nature Reviews | Disease Primers

**Legenda:** Medula espinhal anormalmente afinada é indicada por setas (região escura). A inserção mostra a visão anteroposterior da coluna cervical e torácica. Imagem do Imperial College Healthcare, NHS Trust, Reino Unido.

**Fonte:** BANGHAM *et al.* (2015).

Os sintomas da HAM/TSP são reflexo de lesões decorrentes de inflamação do SNC, sendo as células T CD4<sup>+</sup> o principal alvo da infecção. Essas células secretam citocinas e fatores pró-inflamatórios, que podem ser detectados no soro, no líquido cefalorraquidiano (LCR) e em lesões da medula espinhal de pacientes com HAM/TSP. A função de células T CD4<sup>+</sup> é essencial na formação da resposta por anticorpos e no estabelecimento de respostas efetoras de células T CD8<sup>+</sup>. No entanto, células T CD4<sup>+</sup> infectadas e não infectadas, infiltram o SNC de pacientes com HAM/TSP e promovem uma forte resposta inflamatória na fase inicial da doença, com indução de altos níveis de interferon (IFN)- $\gamma$  e fator de necrose tumoral (TNF)- $\alpha$  (BANGHAM *et al.*, 2015).

Durante o desenvolvimento da HAM/TSP, além de níveis elevados de IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , também são detectados níveis aumentados de IL-1 $\beta$ , IL-6, e do fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF) no líquido cefalorraquidiano (LCR) destes indivíduos. O LCR de pacientes com HAM/TSP também apresenta níveis elevados das quimiocinas inflamatórias CXCL9 e CXCL10, que correlacionam fortemente com a velocidade de progressão da doença (SATO *et al.*, 2013). Estes marcadores também correlacionam com os níveis de carga proviral de HTLV-1 em PBMCs, reforçando a teoria de que a HAM/TSP resulta da produção excessiva de mediadores inflamatórios induzida por células T infectadas no SNC (SATO *et al.*, 2013). Além disso, CXCL10 tem se mostrado um mediador da patogênese da HAM/TSP, através do recrutamento de células inflamatórias para as lesões da medula espinhal (ARAYA *et al.*, 2014).

HTLV-1 ao infectar linfócitos T CD4<sup>+</sup> é capaz de modificar a função destas células, que possuem um papel central na regulação da resposta imune (QUARESMA *et al.*, 2015). A modulação destas células desencadeia respostas inflamatórias, como observado em pacientes com HAM/TSP. Nestes indivíduos, estão presentes alterações como a proliferação espontânea de linfócitos T CD4<sup>+</sup>, aumento da capacidade migratória de leucócitos, aumento da produção de citocinas inflamatórias, particularmente de citocinas neurotóxicas em regiões afetadas da medula espinhal, tais como o TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  (BANGHAM *et al.*, 2015). Esse processo culmina, após meses ou anos, em alterações macroscópicas da medula espinhal, que são evidentes em imagens de ressonância magnética. No entanto, o SNC não é o único sistema afetado pelas doenças inflamatórias associadas ao HTLV-1; diferentes condições inflamatórias têm sido descritas, principalmente quadros clínicos de uveíte, polimiosite, dermatite infecciosa, artrite, e bronquiectasias (EINSIEDEL *et al.*, 2014; LEE; SCHWARTZ, 2011; MOCHIZUKI *et al.*, 1992; MORGAN *et al.*, 1989; NISHIOKA *et al.*, 1989).

A análise histopatológica de infiltrados de lesões iniciais na HAM/TSP tem indicado o predomínio de células T CD4<sup>+</sup> e macrófagos, além da expressão do gene viral *tax*, enquanto lesões tardias, acima de quatro anos, são caracterizadas principalmente pela presença de células T CD8<sup>+</sup> e baixa expressão de genes virais. Dessa forma, em conjunto com a expressão viral e de mecanismos de sinalização celular, células T infectadas por HTLV-1 estimulam uma forte resposta de linfócitos T CD8<sup>+</sup> citotóxicos (CTLs) específicos para os antígenos virais, o que indiretamente promove inflamação do SNC e dano tecidual (BANGHAM *et al.*, 2015; QUARESMA *et al.*, 2015). Com isso, a constante atividade inflamatória induz o aumento da produção de IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e interleucina (IL)-2, contribuindo assim para a manutenção de inflamação crônica em pacientes com HAM/TSP (NOZUMA; JACOBSON, 2019). Além disso, outros fatores neuroinflamatórios podem estar também associados ao desenvolvimento da HAM/TSP.

### **1.3 FATORES ASSOCIADOS A PROCESSOS NEUROINFLAMATÓRIOS**

#### **1.3.1 Proteína 1 do tipo visina (VILIP-1)**

A VILIP-1 é uma proteína neuronal que se liga com alta afinidade ao cálcio, e atua como um sensor deste elemento, e está presente na membrana celular, citoplasma e citoesqueleto, sendo capaz de se translocar entre diferentes subcompartimentos celulares de modo dependente da ligação ao cálcio (ZOZULYA; STRYER, 1992). A VILIP-1 é considerada um biomarcador de processos de lesão neuronal mediados por Ca<sup>2+</sup>, que possui um papel fundamental na função de neurônios, pois atua como sinalizador ao ser transportado para o citoplasma, onde regulam a função de diferentes proteínas. O Ca<sup>2+</sup> atua como um fator ativador da liberação de neurotransmissores e está envolvido no processo de sinalização celular, de expressão gênica, e de vias de morte celular (SCHNURRA *et al.*, 2001). Alterações na concentração de Ca<sup>2+</sup> modulam funções sinápticas, em que a atividade neuronal gera gradientes de concentração de Ca<sup>2+</sup>, em uma dinâmica semelhante à de ondas. Assim, VILIP-1 influencia vias intracelulares de sinalização neuronal envolvidas na plasticidade sináptica, tais como cascatas de nucleotídeos cíclicos e sinalização nicotinérgica. Desse modo, VILIP-1 participa de mecanismos patológicos

de descontrole da homeostase do  $\text{Ca}^{2+}$ , levando à morte neuronal, além de desempenhar um papel crítico na ligação entre a neurotoxicidade mediada por cálcio e alterações patológicas na doença de Alzheimer, possuindo assim valor diagnóstico e de prognóstico nesta doença (GROBLEWSKA *et al.*, 2015). VILIP-1 é expressa em neurônios do septo e *claustrum*, núcleos basais laterais, na subpopulação de neurônios piramidais em CA1 e CA4 do hipocampo, células nervosas na amígdala, cerebelo e tronco encefálico (BERNSTEIN *et al.*, 1999).

A dosagem de VILIP-1 no líquido cefalorraquidiano (LCR) têm sido sugerida na definição do prognóstico do declínio cognitivo na doença de Alzheimer (BRAUNEWELL, 2012; KESTER *et al.*, 2015; TARAWNEH *et al.*, 2011). As duas principais marcas da patologia na doença de Alzheimer são a formação de agregados extracelulares de peptídeos  $\beta$  amiloide ( $\text{A}\beta$ ) (na forma de placas amiloides) e de agregados intracelulares de proteína Tau hiperfosforilada (como emaranhados neurofibrilares). Outros processos patológicos como inflamação, desregulação imunológica, lesão vascular, estresse oxidativo, disfunção mitocondrial, e excitotoxicidade mediada por cálcio também parecem desempenhar um papel na patogênese da doença de Alzheimer. Essas alterações podem culminar em lesão neuronal, disfunção sináptica, e neurodegeneração, levando ao declínio cognitivo, comportamental, e funcional nos pacientes com Alzheimer (TARAWNEH, 2020). A deposição de  $\text{A}\beta$  causa a mudança na homeostase de cálcio, levando à expressão e ativação de sensores de cálcio, tais como calsenilina e VILIP-1. Dessa forma, a interferência com a homeostase do  $\text{Ca}^{2+}$ , tal como observado no Alzheimer, pode induzir a morte de neurônios expressando VILIP-1 no cérebro, elevando os níveis de VILIP-1 no LCR (BERNSTEIN *et al.*, 1999; BRAUNEWELL, 2012).

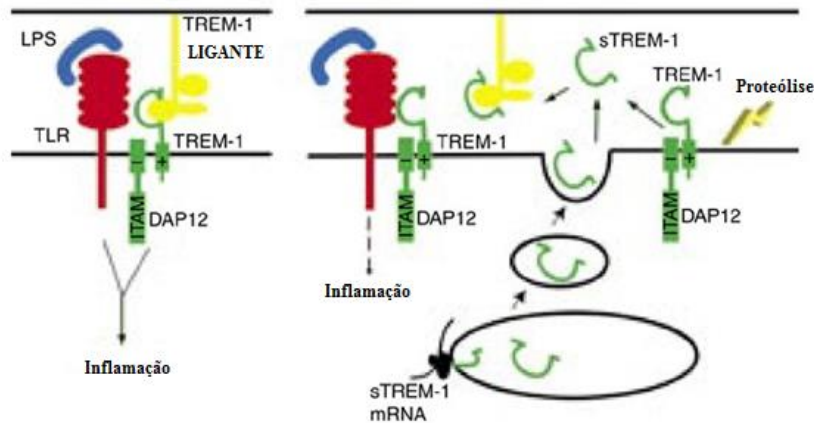
LUO *et al.* (2013) avaliaram os níveis de VILIP-1 no LCR de indivíduos com Alzheimer e em grupo controle, e observaram um aumento significativo nestes pacientes. No estudo de TARAWNEH *et al.* (2011), os níveis plasmáticos de VILIP-1 também se mostraram mais altos em pacientes com Alzheimer leve em comparação aos controles. Contudo, essa diferença se mostrou mais marcante no LCR do que no plasma. No entanto, não há estudos quantificando a concentração de VILIP-1 em amostras de soro ou LCR de indivíduos infectados por HTLV-1.

### 1.3.2 sTREM-1

O receptor de disparo expresso em células mieloides do tipo 1 (TREM-1) é uma glicoproteína pertencente à família das imunoglobulinas, sendo expresso na membrana de monócitos/macrófagos e neutrófilos. Sua forma solúvel (sTREM-1) pode ser dosada em fluidos biológicos, tais como soro, LCR, escarro, urina e líquido pleural (BOUCHON; DIETRICH; COLONNA, 2000). A expressão de sTREM-1 é aumentada em casos de infecções bacterianas, sendo regulado positivamente pelo lipopolissacarídeo bacteriano (LPS), mas é pouco expresso em doenças inflamatórias não infecciosas (COLONNA; FACCHETTI, 2003). A estimulação de TREM-1 ativa a secreção de IL-8 e também induz a degranulação em neutrófilos, enquanto ativa a secreção de TNF- $\alpha$ , da proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1), e de IL-8 em monócitos. No citoplasma, TREM-1 induz a mobilização de Ca<sup>2+</sup> e a fosforilação da quinase relacionada ao sinal extracelular 1 (ERK1), ERK2, e fosfolipase C $\gamma$ , e se associa à molécula adaptadora transmembranar DAP12. Assim, TREM-1 é capaz de modular a ativação e respostas inflamatórias de neutrófilos e monócitos (BOUCHON; DIETRICH; COLONNA, 2000; GINGRAS; LAPILLONNE; MARGOLIN, 2002).

sTREM-1 é fundamental em respostas inflamatórias mediadas por células mieloides, e a via TREM-1/DAP12 afeta tanto as respostas imune inata e adaptativa, além de ser um possível marcador de doenças infecciosas como a sepse, a meningite bacteriana, e infecções pulmonares (CAO; GU; ZHANG, 2017). Duas hipóteses têm sido elaboradas quanto a origem de secreção de sTREM-1: pela tradução de uma variante alternativa de *splicing* de mRNA, ou pela clivagem proteolítica TREM-1 expresso na superfície celular (Figura 5). Contudo, tem sido evidenciado que sTREM-1 não apresenta os domínios intracelular e transmembranar, o que fortalece a teoria de que TREM-1 seria clivado a partir da superfície celular (KLESNEY-TAIT; TURNBULL; COLONNA, 2006; ZHANG *et al.*, 2011).

**Figura 5 – TREM-1 e sTREM-1 na inflamação.**



**Legenda:** TREM-1 amplifica a sinalização de receptores Toll-like (TLR), mediando as respostas inflamatórias (esquerda). A forma solúvel de TREM-1 (sTREM-1) pode ser gerada a partir da clivagem proteolítica ou através da tradução de mRNAs de TREM-1 gerados por *splicing* alternativo. Quando sTREM-1 é liberado no soro, este se liga ao(s) ligante(s) de TREM-1 disponíveis, evitando assim a amplificação do sinal inflamatório e, portanto, contendo a inflamação (direita).

**Fonte:** KLESNEY-TAIT (2006).

O sTREM-1 tem sido apontado como um regulador negativo da inflamação, pois a sua associação aos ligantes de TREM-1 impede o engajamento deste na membrana de células e, conseqüentemente, a ativação celular, apresentando assim um papel anti-inflamatório (GIBOT; MASSIN, 2006). sTREM-1 tem sido avaliado como uma provável biomarcador de gravidade na sepse associada aos quadros de infecções pulmonares, abdominais e de septicemia (ZHANG *et al.*, 2011). Esses autores mostraram que os níveis séricos de sTREM-1 foram maiores em pacientes com sepse grave, que foi caracterizada por choque séptico, em relação aos indivíduos com sepse somente. Com isso os níveis de sTREM-1 poderiam servir para prognóstico e diagnóstico precoce de algumas doenças infecciosas, tais como derrame pleural infeccioso, meningite bacteriana, infecções pulmonares, e micoses sistêmicas. Além disso, sTREM-1 se mostrou um biomarcador mais sensível e específico que as já conhecidas proteína C reativa e procalcitonina (CAO; GU; ZHANG, 2017).

A quantificação de sTREM-1 no LCR pode apresentar valor prognóstico e diagnóstico na meningite bacteriana em adultos, além de se somar aos marcadores tradicionais de meningite bacteriana no LCR. No estudo de DETERMANN *et al.* (2006), foram avaliados os níveis de sTREM-1 em pacientes com meningite viral (vírus herpes simples, vírus varicela-zoster, e vírus Epstein-Barr), meningite bacteriana (meningite pneumocócica, meningocócica, além de outros patógenos como *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus*), e em controles saudáveis submetidos a punção lombar. Níveis mais altos de sTREM-1 foram observados em pacientes com meningite

bacteriana em relação aos quadros virais, e tais níveis elevados de sTREM-1 se mostraram associados ao óbito destes indivíduos.

### 1.3.3 sTREM-2

O receptor de disparo expresso em células mieloides do tipo 2 (TREM-2) é um receptor expresso na superfície de algumas células mieloides do sistema imune inato, incluindo micróglia, macrófagos, células dendríticas derivadas de monócitos e osteoclastos. No SNC, TREM-2 é expresso especialmente na micróglia e regula a produção de citocinas inflamatórias, a fagocitose de neurônios em apoptose e a sobrevivência celular (BOUCHON; DIETRICH; COLONNA, 2000).

TREM-2 é um receptor de membrana e está associado à proteína adaptadora DAP12, que fornece um sinal intracelular por meio de um motivo de ativação baseado em imunoreceptor de tirosina (ITAM). O gene TREM-2 possui três transcritos alternativos distintos. O transcrito TREM-2 canônico, que é o mais longo, possui cinco exons, sendo que o exon 4 codifica para um domínio transmembrana. A geração da forma solúvel de TREM-2 (sTREM-2) ocorre por clivagem proteolítica da isoforma ancorada à membrana celular, sendo esta clivagem realizada por enzimas do tipo desintegrina A e metaloproteinase (ADAM), incluindo ADAM10 e ADAM17, o que libera o ectodomínio de TREM-2 e de um fragmento C-terminal, que é clivado pela  $\gamma$ -secretase para gerar um domínio intracelular de TREM-2 (ZHONG; CHEN, 2019).

Mutações nos genes TREM-2 ou DAP-12 estão associadas à doença de Nasu-Hakola, um distúrbio genético caracterizado por demência pré-senil fatal e cistos ósseos. Os achados neuropatológicos dessa doença incluem perda de mielina e de axônios no cérebro, astrocitose reativa, e ativação microglial (PICCIO *et al.*, 2008). Embora TREM-1 e TREM-2 sinalizem via DAP12, a estimulação destes receptores apresenta efeitos distintos na sinalização em resposta ao LPS. Enquanto a ativação de TREM-1 promove a sinalização pró-inflamatória e a produção de citocinas em resposta ao LPS, a ativação de TREM-2 suprime esses efeitos induzidos por LPS (WALTER, 2016). Além disso, foi visto que TREM-2 suprime respostas inflamatórias e participa na regulação das vias fagocíticas, que são responsáveis pela remoção de detritos neuronais (JIANG *et al.*, 2013).

sTREM-2 pode ser detectada no LCR e no soro, e níveis elevados têm sido descritos no LCR de pacientes com esclerose múltipla e outras doenças neuroinflamatórias em comparação com doenças neurológicas não inflamatórias. Tem sido sugerido que a liberação de sTREM-2 representa um mecanismo de regulação negativa dos receptores TREM-2 (KLESNEY-TAIT; TURNBULL; COLONNA, 2006). Além disso, o receptor TREM-2 também foi detectado em monócitos do LCR, e em macrófagos "espumosos" (*foam cells*) carregados de mielina em biópsias de lesões ativas da medula espinhal de pacientes com esclerose múltipla. Acredita-se que estes macrófagos sejam importantes na resolução da inflamação do SNC. Dessa forma, evidências apontam um possível papel de TREM-2 e de sTREM-2 em doenças inflamatórias do SNC, principalmente na esclerose múltipla (PICCIO *et al.*, 2008). Uma vez que TREM-2 desempenha um papel anti-inflamatório, a regulação negativa mediada por sTREM-2 poderia inibir a função de TREM-2, levando à inflamação e neurodegeneração.

A esclerose múltipla é uma doença crônica, inflamatória e desmielinizante do SNC, e no seu decorrer se observam lesões do tecido nervoso por células imunes autorreativas, que promovem danos aos axônios e desmielinização. As alterações do SNC observadas na esclerose múltipla ao longo do tempo tornam-se dominadas pela ativação microglial ligada uma extensa e crônica neurodegeneração. PICCIO *et al.* (2008) quantificaram e compararam os níveis de sTREM-2 no LCR de indivíduos com as formas recorrente-remitente (RR) e progressiva primária (PP) da esclerose múltipla, outras doenças neurológicas inflamatórias (ODNI), como meningite viral, encefalite, neurite óptica, neuromielite óptica e encefalomielite disseminada aguda, e doenças neurológicas não inflamatórias (DNNI), como dor de cabeça, doença degenerativa do disco, hidrocefalia de pressão normal, distúrbio convulsivo e acidente vascular cerebral. Os níveis de sTREM-2 no LCR de indivíduos com esclerose múltipla RR e PP, e de indivíduos com ODNI foram mais elevados em comparação aos de indivíduos com DNNI. No entanto, os níveis de sTREM-2 no soro não apresentaram diferença entre os grupos. Em outro estudo, sTREM-2 no LCR de pacientes com esclerose múltipla RR e PP foram maiores em comparação com grupo controle (ÖHRFELT *et al.*, 2016). No entanto, não há estudos demonstrando os níveis de sTREM-2 em indivíduos infectados por HTLV-1.

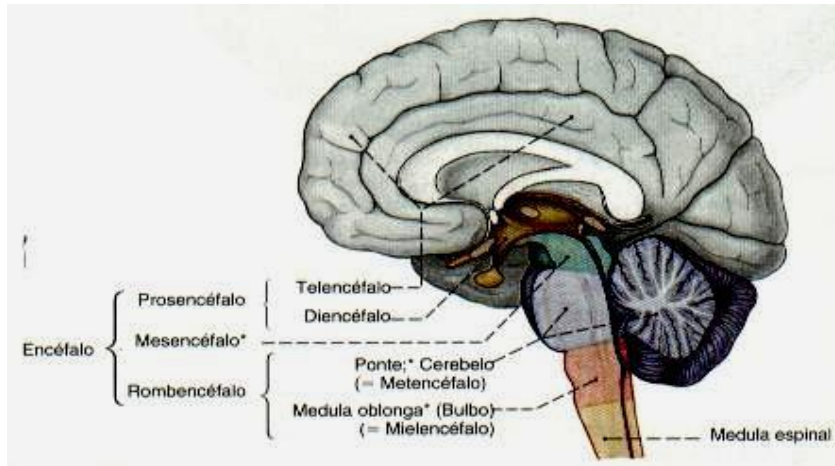


### 1.3.4 Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF)

O BDNF é membro da família das neurotrofinas, que são fatores de crescimento e que incluem o fator de crescimento neuronal (NGF), a neurotrofina (NT)-3 e a NT-4/5, que influenciam a proliferação neuronal, diferenciação, plasticidade, sobrevivência e morte de células neuronais nos sistemas nervoso central e periférico. BDNF tem vários papéis no sistema nervoso, e controla conexões sinápticas, a liberação de neurotransmissores, o potencial de longo prazo de neurônios no SNC de adultos, a plasticidade sináptica, e a estrutura de sinapses. Esses efeitos ocorrem por meio de eventos de sinalização, iniciados por interações entre BDNF e seu receptor de tirosina quinase B (TrkB) (LEE *et al.*, 2001; MIZUNO *et al.*, 2003; SONG; MARTINOWICH; LEE, 2017; YAMADA; MIZUNO; NABESHIMA, 2002).

O BDNF é expresso no SNC, sendo encontrado em altas concentrações no hipocampo, córtex cerebral, mesencéfalo, amígdala, hipotálamo, corpo estriado, ponte e medula oblonga (bulbo) (Figura 6), e está envolvido na plasticidade sináptica e na sinaptogênese do hipocampo, que é uma região do cérebro responsável pela aquisição e consolidação da memória. A redução na produção e secreção de BDNF foram demonstradas em doenças neurodegenerativas como a doença de Alzheimer e a síndrome de Parkinson. O BDNF é produzido pré-sinápticamente nos corpos celulares dos neurônios sensoriais projetados no corno dorsal, enquanto que no hipocampo é produzido predominantemente pelos dendritos pós-sinápticos (CHAO, 2003; TROMBETTA *et al.*, 2020). No sangue, BDNF está presente em plaquetas, e é produzido por células do endotélio vascular e por células mononucleares. Além disso, células do tecido coronário e pulmonar também expressam BDNF e o receptor TrkB (KAESS *et al.*, 2015; NAKAHASHI *et al.*, 2000; TROMBETTA *et al.*, 2020). BDNF também é secretado pela micróglia, e está envolvido na modulação da dor, e contribui diretamente na remodelação sináptica associada a aprendizagem e memória. A remoção do BDNF na micróglia de camundongos adultos jovens, por exemplo, reduz o desempenho em tarefas de aprendizado motor e em outros paradigmas do aprendizado (PARKHURST *et al.*, 2013).

**Figura 6 – Encéfalo e medula espinhal.**

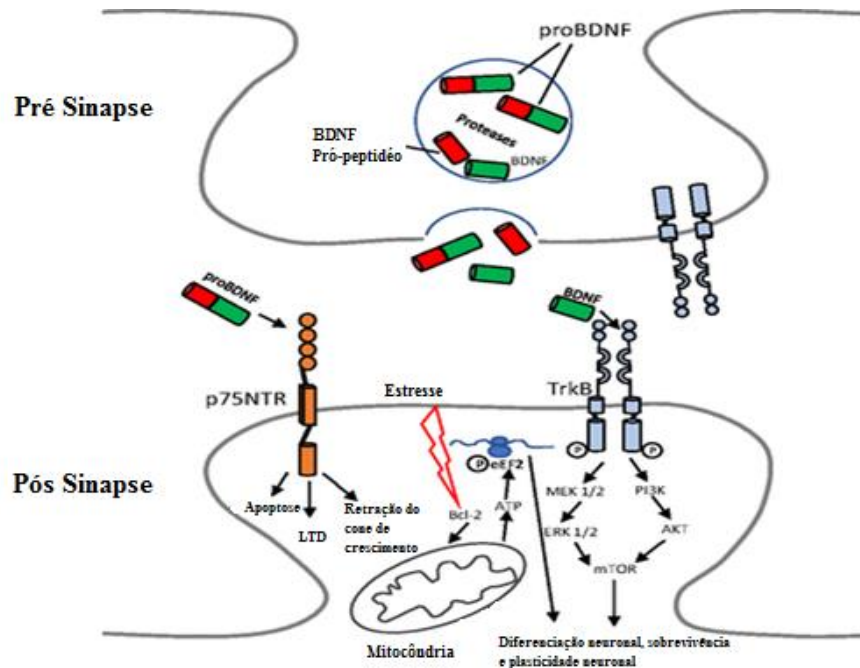


**Fonte:** SOBOTTA, R. Putz e R. Pabst. Atlas de Anatomia Humana. 20.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

O BDNF é a neurotrofina predominante no cérebro, sendo sintetizado como precursor pró-BDNF, que é posteriormente clivado para a liberação da forma ativa. Assim, o BDNF ativo liga-se preferencialmente ao receptor TrkB, ativando as vias de sinalização como a da proteína quinase ativada por mitogênio (MAPK), fosfolipase C $\gamma$  e a via da fosfatidilinositol-3 quinase. Tais vias de sinalização regulam a transcrição e tradução de proteínas essenciais à sobrevivência e diferenciação neuronal, aprendizagem e formação de memória no hipocampo (Figura 7) (LICZNERSKI; JONAS, 2018).

O BDNF promove a sobrevivência celular e plasticidade sináptica pela ativação do seu receptor TrkB. No entanto, pró-BDNF ao ligar o receptor p75 atua de maneira antagônica, resultando em apoptose. Ambos estão envolvidos em diferentes funções fisiológicas. A sinalização via BDNF e TrkB tem sido associada a diversas doenças psiquiátricas e, portanto, é amplamente estudada no contexto de esquizofrenia, autismo, depressão ou transtornos de ansiedade (AUTRY; MONTEGGIA, 2012). Recentemente, a existência de um polimorfismo (Val<sub>66</sub>Met) no pró-domínio de BDNF tem implicado na complexa fisiopatologia das doenças psiquiátricas, bem como de doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer, na qual foi observado que atua na excitação sináptica e integridade neuronal, e também modera o declínio da memória relacionado ao  $\beta$ -amiloide e atrofia do hipocampo (LIM *et al.*, 2016).

Figura 7 – BDNF e a ligação do receptor TrkB.



**Legenda:** A ligação do BDNF ao receptor TrkB ativa as cascatas de sinalização responsáveis pela sobrevivência neuronal e plasticidade sináptica. Pró-BDNF liga ao receptor p75 e desencadeia depressão de longo prazo e apoptose. Sob estresse, incluindo estimulação sináptica de alta frequência, Bcl-2 é recrutado para mitocôndrias para diminuir a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e aumentar a produção eficaz de ATP; esse processo induz a transcrição de genes relevantes e tradução de proteínas. O estresse agudo leve ou a atividade sináptica de alta frequência recrutam e podem exigir a sinalização de BDNF durante o aprendizado e a formação da memória e para estratégias de enfrentamento com antidepressivos.

**Fonte:** LICZNERSKI (2018).

### 1.3.5 Fator de crescimento transformador $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$ )

O TGF- $\beta 1$  é uma citocina com diferentes funções, podendo promover a sobrevivência celular ou induzir a apoptose, estimular a proliferação e diferenciação celular, e ainda estimular ou inibir a inflamação. Os efeitos de TGF- $\beta 1$  dependem do tipo celular envolvido, do ambiente celular, da duração e da concentração desta citocina. O TGF- $\beta 1$  é a isoforma mais abundante e é secretado por células T ativadas, células B, monócitos, fibroblastos, células T reguladoras (Treg), plaquetas, dentre outras (ROLLNIK *et al.*, 1997), sendo considerada um potente fator anti-inflamatório, suprimindo a proliferação e modulando a diferenciação de células T (CHIN *et al.*, 2004; GORELIK; FLAVELL, 2002; LIÉNART *et al.*, 2018; MARTELOSSI CEBINELLI *et al.*, 2016).

Além disso, TGF- $\beta$  regula a angiogênese por diferentes mecanismos, estando envolvido, por exemplo, na formação e maturação de vasos sanguíneos, pela alteração de duas cascatas de

sinalização com efeitos opostos (ALK1 e ALK5). Da mesma forma, TGF- $\beta$  pode autorregular a expressão do seu gene, e regula positivamente a expressão de outros fatores angiogênicos, tais como o fator de crescimento derivado de plaquetas (FCDP), IL-1, o fator de crescimento de fibroblastos básicos (FCFb) e TNF- $\alpha$ . Mutações genéticas em componentes de sinalização de TGF- $\beta$  estão associadas a doenças vasculares em humanos, como, por exemplo, a síndrome de Osler-Rendu-Weber (GUERRERO; MCCARTY, 2017).

O TGF- $\beta$  exerce efeitos pleiotrópicos em processos de cicatrização, regulando a proliferação e migração celular, diferenciação, produção de matriz extracelular e a modulação imunológica. A superexpressão de TGF- $\beta$ 1, por exemplo, induz fibrose renal, enquanto a sua inibição, ou de suas vias de sinalização, limita substancialmente a fibrose renal, indicando que TGF- $\beta$ 1 é o principal fator promovendo a fibrose na maioria das formas de doença renal crônica (LICHTMAN; OTERO-VINAS; FALANGA, 2016; LOBODA *et al.*, 2016).

A infecção por HTLV-1 induz a proliferação de células T. Por outro lado, também se observa um aumento da expressão de TGF- $\beta$ 1 por Tregs, que tem como papel suprimir a proliferação de células T. Contudo, a infecção por HTLV-1 induz a ativação de células T por uma via não sensível a TGF- $\beta$ 1 (HÖLLSBERG; AUSUBEL; HAFLER, 1994). A proliferação de células T pode ser fortemente suprimida por TGF- $\beta$ 1 durante a fase G1 do ciclo celular, e este mecanismo parece envolver a inibição de quinases do ciclo celular que fosforilam a proteína do retinoblastoma (pRb), um regulador da progressão do ciclo de G1 para a fase S.

A proteína Tax de HTLV-1 é capaz de inibir a sinalização por TGF- $\beta$ 1. No entanto, o potencial ativador da sinalização de TGF- $\beta$  pela proteína viral HBZ predomina sobre o efeito supressor de Tax, o que explica porque mais da metade de linhagens celulares derivadas de casos de ATLL expressam FoxP3, e o fato da proporção de Tregs FoxP3<sup>+</sup> ser maior em células T CD4 Tax<sup>+</sup> derivadas de portadores de HTLV-1, especialmente na HAM/TSP (ARNULF *et al.*, 2002; ZHAO *et al.*, 2011). Na infecção por HTLV-1, TGF- $\beta$  tem um papel fundamental na tolerância imunológica, mantendo a expressão de FoxP3 em Tregs, mas também promovendo a suscetibilidade de células T efectoras à supressão mediada por Tregs (MARIE *et al.*, 2005).

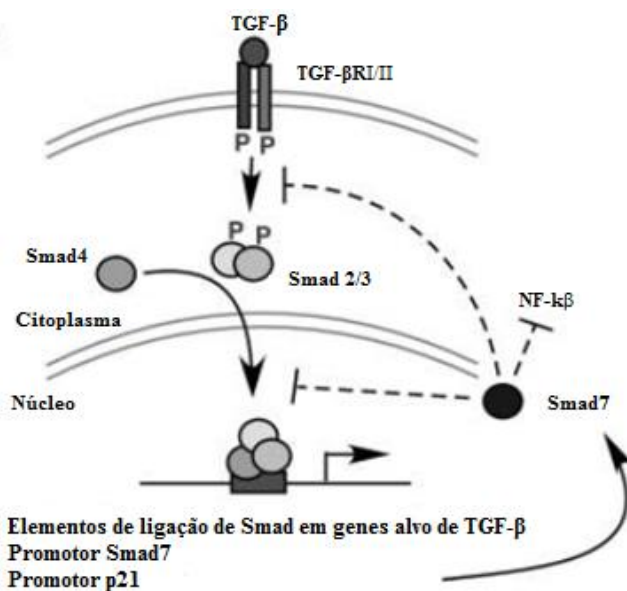
As proteínas Smads são mediadoras da sinalização TGF- $\beta$ 1, e traduzem o sinal de TGF- $\beta$  na superfície celular para a regulação gênica no núcleo. TGF- $\beta$ 1 se liga ao receptor do tipo 1 TGF- $\beta$ RI. Este receptor propaga a sinalização através da ativação e fosforilação de proteínas citoplasmáticas da família SMAD, conhecidas como RSMADs, SMAD2 e SMAD3. A fosforilação de RSMADs permite a sua interação com co-SMAD (SMAD4) formando um complexo, e juntos se acumulam no núcleo para regular a transcrição de genes alvo com o recrutamento de coativadores, como CBP/p300, ou negativamente por recrutamento direto de

histona deacetilases ou cossupressores, tais como c-Ski e SnoN (JANKNECHT; WELLS; HUNTER, 1998; KIMURA; MATSUO; RICARTE-FILHO, 2007; ZHAO *et al.*, 2009).

Tax de HTLV-1 é uma proteína multifuncional conhecida por sua capacidade de ativar ou silenciar a transcrição de genes celulares. Tax por exemplo inibe a expressão de FoxP3 e a ativação transcricional dos promotores Smad7 e do receptor de TGF- $\beta$ 1 tipo II (TGF- $\beta$ RII). A expressão desses genes foi drasticamente reduzida em células T de pacientes com HAM/TSP, e a expressão de TGF- $\beta$ RII, bem como a indução de FoxP3, correlacionaram negativamente com a carga proviral de HTLV-1. Dessa forma, é possível que a desregulação da sinalização de TGF- $\beta$  induzida pela infecção viral impeça a expressão de genes alvo de TGF- $\beta$  (Figura 8), como, por exemplo, de FoxP3 (GRANT *et al.*, 2008).

Pacientes com HAM/TSP apresentam um distúrbio inflamatório crônico caracterizado pelo acúmulo de células T CD4<sup>+</sup> e T CD8<sup>+</sup> ativadas. As células T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> de pacientes com HAM/TSP apresentam um fenótipo ativado marcado pela expressão diminuída de CD45RA em conjunto com a expressão aumentada de IL-2 e IFN- $\gamma$  em comparação com células T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> de indivíduos saudáveis (YAMANO *et al.*, 2005).

**Figura 8 – Sinalização de TGF- $\beta$ 1.**



**Legenda:** Diagrama esquemático da via de sinalização de TGF- $\beta$ . Tax de HTLV-1 é capaz de inibir a expressão de genes dependentes de TGF- $\beta$  ao induzir a ativação do promotor Smad7, composto por Smad3/4, que se ligam a elementos responsivos a TGF- $\beta$ . O gene *smad7* é um alvo de TGF- $\beta$  que funciona de maneira negativa dominante para bloquear a sinalização subsequente por TGF- $\beta$ , suprimindo a ativação de NF- $\kappa$ B e a produção de citocinas inflamatórias.

**Fonte:** GRANT (2008).

Como abordado, a esclerose múltipla é uma doença inflamatória crônica do SNC resultante da ação de células T autorreativas. O TGF- $\beta$ 1 tem como função a supressão destas respostas autorreativas, seja como mediador solúvel ou como uma molécula efetora ligada à membrana de células Treg CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>. MEOLI *et al.* (2011) demonstraram que a via de sinalização de TGF- $\beta$ 1 se apresenta alterada em células mononucleares do sangue periférico (PBMC) de pacientes com esclerose múltipla em comparação com indivíduos saudáveis. Nestes pacientes, Smad7 e p21 apresentaram baixos níveis de expressão, refletindo assim a redução do controle transcricional de TGF- $\beta$ 1. Por sua vez, ROLLNIK *et al.* (1997) quantificaram os níveis de TGF- $\beta$ 1 ativo e total no soro e LCR de pacientes com esclerose múltipla, em indivíduos saudáveis e em pacientes com outras doenças neurológicas não inflamatórias (cefaleia, dor lombar, convulsões não epilépticas, distúrbios de função motora, e distúrbios psiquiátricos). Foi observado que TGF- $\beta$ 1 ativo estava reduzido no soro de pacientes com esclerose múltipla. Por outro lado, TGF- $\beta$ 1 total se encontrava elevado no LCR destes indivíduos em comparação com outras doenças neurológicas não inflamatórias. Além disso, os níveis aumentados de TGF- $\beta$ 1 ativo no LCR correlacionaram positivamente com a duração da exacerbação aguda da esclerose múltipla, indicando que TGF- $\beta$ 1 desempenha um papel importante na limitação da resposta imune patológica na esclerose múltipla.

### **1.3.6 Fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)**

O VEGF é um fator crucial na angiogênese e na vasculogênese. VEGF pertence a uma família de fatores de crescimento que incluem VEGF-A, B, C, D, e o fator de crescimento da placenta (FCP). Este fator foi inicialmente descrito pela função reguladora da permeabilidade das células endoteliais vasculares. Além disso, VEGF é um fator angiogênico fundamental no desenvolvimento e manutenção vascular de todos os órgãos. VEGF também é importante no recrutamento de monócitos/macrófagos, manutenção das funções de barreira renal e pulmonar, e na neuroproteção. Além de seu papel na regulação da proliferação de células endoteliais, migração, e sobrevivência celular, os receptores de VEGF também estão localizados em muitas células não endoteliais e atuam por meio de vias autócrinas para regular a sobrevivência e função celular (BREEN, 2007; FERRARA; ADAMIS, 2016).

Apesar da importância do VEGF na homeostase vascular, atuando em diversas células e tecidos, foi demonstrado que este fator também desempenha um papel no crescimento e

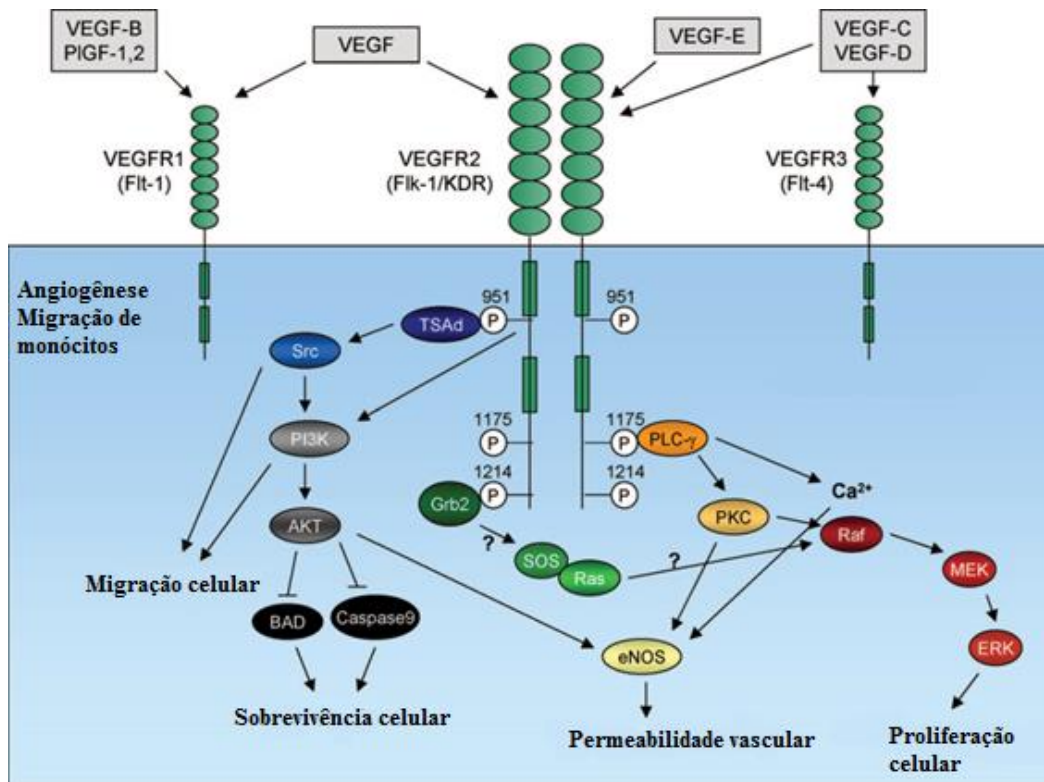
metástase de tumores, e na retinopatia em doenças oculares ofuscantes, incluindo degeneração macular relacionada à idade (DMRI), retinopatia diabética e hipertensiva (ADAMIS; SHIMA, 2005; MELINCOVICI *et al.*, 2018).

Membros da família VEGF ligam-se a receptores do tipo tirosina quinases da superfície celular, denominados VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3. Diferentes membros se ligam aos receptores não tirosina quinase, como as neuropilinas 1 e 2, que atuam como correceptores para VEGFRs. VEGFR-1 é expresso em progenitores endoteliais e monócitos, e liga VEGF-A, VEGF-B e FCP-1 e 2, promovendo o recrutamento dessas células. O receptor VEGFR-2 por sua vez é expresso em quase todas as células endoteliais, ligando VEGF, VEGF-C, VEGF-D e VEGF-E. A transdução de sinais por VEGFR-2 indica o seu papel na regulação da proliferação, migração e sobrevivência das células endoteliais. Por outro lado, a expressão de VEGFR-3 se limita ao endotélio linfático. No entanto, VEGFR-3 também pode ser expresso em vasos sanguíneos associados a tumores, sendo capaz de ligar VEGF-C e VEGF-D, e acredita-se que este facilite a formação de vasos linfáticos (Figura 9) (LANGE *et al.*, 2016; NILSSON; HEYMACH, 2006).

O VEGF é um dos fatores mais importantes envolvidos na angiogênese tumoral, pois aumenta a permeabilidade vascular, facilitando a disseminação do tumor pela circulação, e proporcionando uma maior entrega de oxigênio e nutrientes; VEGF recruta células precursoras endoteliais circulantes e atua como um fator de sobrevivência para vasos sanguíneos tumorais imaturos. Dessa forma, o bloqueio da sinalização por VEGF tem sido sugerido como estratégia terapêutica promissora na inibição da angiogênese e do crescimento tumoral, e inclui o uso de anticorpos monoclonais neutralizantes anti-VEGF, antagonistas de VEGFR, formas solúveis de receptores, mutantes antagonistas de VEGF e inibidores de VEGFR (GOEL; MERCURIO, 2013; MOREIRA; FERNANDES; RAMOS, 2007).

VEGF possui dois papéis importantes no desenvolvimento do SNC: a formação de vasos sanguíneos, e a orientação da migração neuronal e de localização do trajeto axonal. VEGF é secretado por células do tubo neural, e primeiramente induz a formação de um plexo vascular perineural e em seguida, no desenvolvimento, coordena o crescimento interno dos brotos de vasos no tubo neural para a formação da vasculatura do parênquima cerebral (MACKENZIE; RUHRBERG, 2012; QUAEGEBEUR; LANGE; CARMELIET, 2011; RUIZ DE ALMODOVAR *et al.*, 2009).

**Figura 9 – Transdução de sinal por meio da família VEGF.**



**Legenda:** Os membros da família VEGF (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, e FCP) se ligam a três receptores do tipo tirosina-quinases (VEGFR), ocorrendo a dimerização, autofosforilação do receptor e subsequente ativação de vias de transdução de sinais. A transdução do sinal de VEGFR2 é mostrada. A ligação do ligante ao VEGFR2 ativa moléculas de transdução de sinal como fosfolipase C $\gamma$  (PLC $\gamma$ ), PI3K, Akt, Ras, Src e MAPK, regulando a proliferação celular, migração, sobrevivência, e permeabilidade vascular.

**Fonte:** NILSSON (2006).

Além de estar associado a doenças como o câncer, VEGF também tem papel em doenças neurológicas como a esclerose lateral amiotrófica, uma doença caracterizada pela degeneração progressiva dos neurônios motores na medula espinhal, do tronco encefálico e do córtex motor, levando à paralisia. Em humanos um único polimorfismo nucleotídico (-2578AA) no gene VEGF está associado a baixos níveis deste fator, aumentando a suscetibilidade à esclerose lateral amiotrófica (LAMBRECHTS *et al.*, 2009). Baixos níveis de VEGF são um fator de risco para o desenvolvimento desta doença, pois prejudicam a perfusão da medula espinhal e causam isquemia crônica dos neurônios motores, e priva células dependentes de VEGF de sinais neuroprotetores para a sobrevivência. Ambos os mecanismos podem contribuir para a degeneração progressiva dos neurônios motores, causando a fraqueza e paralisia muscular (LANGE *et al.*, 2016; ROBBERECHT; PHILIPS, 2013).

O VEGF desempenha funções em várias doenças neurológicas como, acidente vascular cerebral, trauma, epilepsia e esclerose múltipla. Níveis elevados de VEGF contribuem para o desenvolvimento de doenças neurológicas ao induzir a quebra da barreira hematoencefálica e extravasamento vascular, expondo o cérebro a substâncias nocivas do sangue e aumentando o



influxo de células inflamatórias, e potencialmente exacerbando a hipóxia, o que pode aumentar mais ainda a secreção de VEGF (LANGE *et al.*, 2016).

BAZARBACHI *et al.* (2004) mostrou que o soro de pacientes com ATLL ou HAM/TSP apresentam níveis elevados de VEGF e do fator básico de crescimento de fibroblastos (b-FGF) em comparação com indivíduos não infectados, e suficientes para induzir angiogênese. Células transformadas por HTLV-1 secretam VEGF e b-FGF, e induzem angiogênese *in vitro*, através da ativação transcricional induzida pela proteína viral Tax. Logo, é possível que a permeabilidade alterada dos vasos e a ativação de células endoteliais estejam envolvidas na patogênese da HAM/TSP, em um mecanismo semelhante à angiogênese, que desencadeado por células infectadas por HTLV-1, pode ser regular a passagem de células infectadas através da barreira hematoencefálica para o SNC (SAITO *et al.*, 2004).

### 1.3.7 Interleucina 6 (IL-6)

A IL-6 é um mediador solúvel com efeito pleiotrópico na regulação imunológica, na hematopoese, inflamação e oncogênese. Em eventos de estresse, tais como lesões teciduais ou infecções, a IL-6 é gerada imediatamente por células imunes inatas, incluindo monócitos, macrófagos, e células dendríticas, pela estimulação de receptores de reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). A IL-6 também sinaliza alerta em caso de dano aos tecidos. Os padrões moleculares associados a danos (DAMPs), que são liberados de células danificadas ou em processo de morte em processos inflamatórios não infecciosos, tais como queimaduras ou traumas, promovem a inflamação direta ou indiretamente. Durante operações cirúrgicas estéreis, o aumento nos níveis séricos de IL-6 precede a elevação da temperatura corporal e da concentração sérica de proteína de fase aguda (AKIRA; TAGA; KISHIMOTO, 1993; NISHIMOTO *et al.*, 1990; TANAKA *et al.*, 2016; TANAKA; NARAZAKI; KISHIMOTO, 2018).

Além de células imunes, células mesenquimais, endoteliais, fibroblastos, dentre outras estão envolvidas na produção de IL-6 em resposta a diferentes estímulos (AKIRA; TAGA; KISHIMOTO, 1993). Foi demonstrado que uma grande variedade de fatores de transcrição regula a transcrição gênica de IL-6, e elementos *cis*-reguladores são encontrados na região 5' que flanqueia o gene da IL-6 humana, tais como sítios de ligação para o NF- $\kappa$ B, a proteína de especificidade 1 (PS1), fator nuclear IL-6 (NF-IL6) (também conhecido como CAAT/proteína

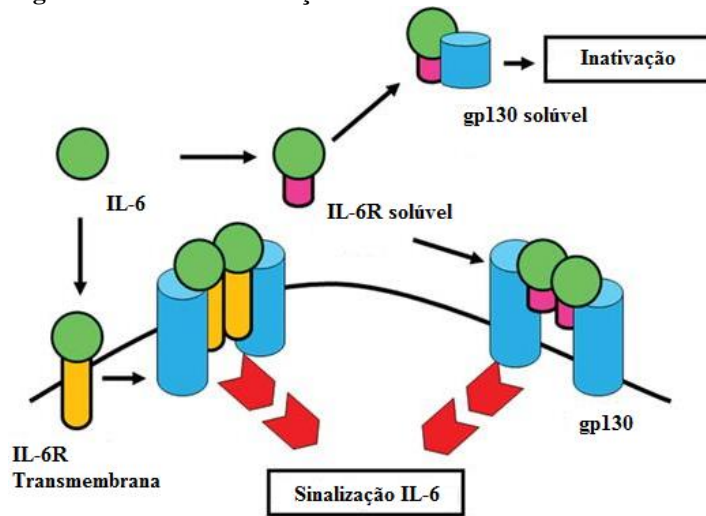
de ligação de intensificador  $\beta$ ), a proteína ativadora 1 (AP-1) e o fator regulador de interferon 1 (IRF1). A ativação de elementos reguladores em *cis* por estimulação com IL-1, TNF, e ligação de receptores Toll-like (TLR) leva à ativação do promotor de IL-6 (AKIRA; KISHIMOTO, 1992; LIBERMANN; BALTIMORE, 1990; MATSUSAKA *et al.*, 1993)

Um achado interessante é que alguns produtos virais aumentam a atividade de ligação de NF- $\kappa$ B e NF-IL6 ao DNA, resultando em um aumento na transcrição de mRNA de IL-6. Um exemplo deste fenômeno é a interação entre NF- $\kappa$ B e a proteína Tax de HTLV-1, que aumenta a produção de IL-6 (BALLARD *et al.*, 1988; LEUNG; NABEL, 1988). Outro exemplo é o aumento da atividade de ligação de NF- $\kappa$ B e NF-IL-6 ao DNA proporcionada pela proteína transativadora (Tat) de HIV-1 (AMBROSINO *et al.*, 1997; SCALA *et al.*, 1994).

O receptor de IL-6 (IL-6R) apresenta duas cadeias e está associado a uma cascata de sinalização subsequente. IL-6R apresenta uma forma transmembrana e outra solúvel (sIL-6R), e interage com a gp130, constituindo a cadeia de transdução de sinal (Figura 8). Ambas as proteínas pertencem à família de receptores de citocinas com motivo Trp-Ser-X-Trp-Ser (HIBI *et al.*, 1990; YAMASAKI *et al.*, 1988). O sIL-6R, que não possui a região intracitoplasmática, está presente no soro humano e, após ligação de IL-6, o complexo resultante induz a via de sinalização em células expressando gp130 (Figura 10) (NARAZAKI *et al.*, 1993). O efeito pleiotrópico de IL-6 deriva da ampla expressão de gp130, presente em diferentes tipos celulares (TAGA; KISHIMOTO, 1997). Após a ligação entre IL-6 e IL-6R, este complexo induz a homodimerização de gp130, disparando a cascata de sinalização (MURAKAMI *et al.*, 1993).

Dessa forma, a IL-6 contribui com a resposta imune do hospedeiro na fase aguda da infecção, e níveis elevados de IL-6 no soro retornam a níveis normais após encerrado o evento inflamatório. No entanto, em doenças inflamatórias crônicas, como por exemplo a artrite reumatoide, níveis séricos de IL-6 estão persistentemente aumentados (WAAGE *et al.*, 1989). A IL-6 também é importante nas respostas imunes adaptativas, promovendo a diferenciação das células T e B, além de regular a diferenciação de células T CD4<sup>+</sup> imaturas em populações efectoras (TANAKA; NARAZAKI; KISHIMOTO, 2018).

**Figura 10 – Transsinalização de IL-6.**



**Legenda:** A IL-6 se liga ao receptor IL-6R que possui duas formas: IL-6R transmembrana e IL-6R solúvel. IL-6/IL-6R induz a homodimerização de gp130 e dispara a sinalização de IL-6. IL-6/sIL-6R pode também formar um complexo com gp130 transmembrana. Por outro lado, a gp130 solúvel se liga ao complexo IL-6/sIL-6 e inibe sua ligação ao gp130 transmembrana.

**Fonte:** MIHARA *et al.* (2012).

As células da glia e neurônios também expressam IL-6 e IL-6R em vários níveis no cérebro. A IL-6 no SNC é regulada positivamente sempre que a inflamação é esperada, como após processos infecciosos e de lesão no SNC. A IL-6 tem sido relacionada a diferentes doenças neurológicas. Na esclerose múltipla, IL-6 influencia a função de células T, induzindo a sua proliferação e infiltração no SNC pela regulação positiva de VCAM-1 em células endoteliais vasculares. Na presença de TGF- $\beta$ , também induz a diferenciação de células T em células Th17, que secretam IL-17 que por sua vez estimula a produção de IL-6 em astrócitos, em um ciclo de regulação positiva. Além disso, o contato entre células T e astrócitos induz a produção de IL-6, espécies reativas de oxigênio (ROS) e de óxido nítrico (NO) nestes últimos, que contribuem para danificar a bainha de mielina e os neurônios, levando à paralisia ascendente e, na presença de IL-23, ao pleno desenvolvimento de esclerose múltipla (FREI *et al.*, 1991; LINKER *et al.*, 2008; MAIMONE; GUAZZI; ANNUNZIATA, 1997; MALMESTRÖM *et al.*, 2006; SERADA *et al.*, 2008).

Na doença de Alzheimer, o peptídeo  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ) produzido pela clivagem da proteína precursora de amiloide (APP), induz a microgliose e a astrogliose, desencadeando a produção de IL-6 em ambos os tipos celulares, que regula positivamente a APP e hiperfosforila a proteína Tau nos neurônios. Com isso,  $A\beta$  se acumula no espaço extracelular formando placas senis e induzindo a morte neuronal. No entanto, a IL-6 pode desempenhar um papel protetor,

diferenciando a microglia em macrófagos fagocíticos capazes de degradar A $\beta$  (ALTSTIEL; SPERBER, 1991; BAUER *et al.*, 1991; HAMPEL *et al.*, 2005). Além disso, a IL-6 também é produzida e expressa no SNC em doenças infecciosas, como a meningite viral, e também em pacientes com estágio avançado da infecção pelo HIV (FREI *et al.*, 1988; LAURENZI *et al.*, 1990).

No estudo de NISHIMOTO *et al.* (1990), foram observados níveis aumentados de IL-6 no soro de pacientes com ATLL e HAM/TSP na comparação com portadores assintomáticos (AC) de HTLV-1 e indivíduos saudáveis. Além disso, a expressão da proteína viral Tax em células infectadas induz a expressão IL-6R (HORIUCHI *et al.*, 2006). Linhagens de células T infectadas por HTLV-1, quando estimuladas por IL-6/sIL-6R, apresentaram ativação de STAT3 mediada por gp130, aumentando sua taxa de proliferação. Conseqüentemente, esta regulação favorece o crescimento de tumores e a transformação de células T por HTLV-1.

### **1.3.8 Fator de crescimento neuronal beta ( $\beta$ -NGF)**

O  $\beta$ -NGF é uma neurotrofina com múltiplas funções que atua no crescimento e na sobrevivência neuronal, e tem um papel importante no desenvolvimento e nas funções dos sistemas nervoso central (SNC) e periférico (SNP). NGF afeta o desenvolvimento de neurônios sensoriais provenientes da crista neural no SNP, células neuronais colinérgicas do SNC, e neurônios simpáticos. Além de células neuronais, a expressão de NGF foi detectada em células da glia, na micróglia, oligodendrócitos e astrócitos. NGF promove a viabilidade neuronal, porém induz a apoptose no envelhecimento e na neurodegeneração, e está ligado à patogênese, etiologia e manifestações clínicas da doença de Alzheimer (CIRULLI *et al.*, 2000; HEESE *et al.*, 1997; XU; WANG; JIN, 2016).

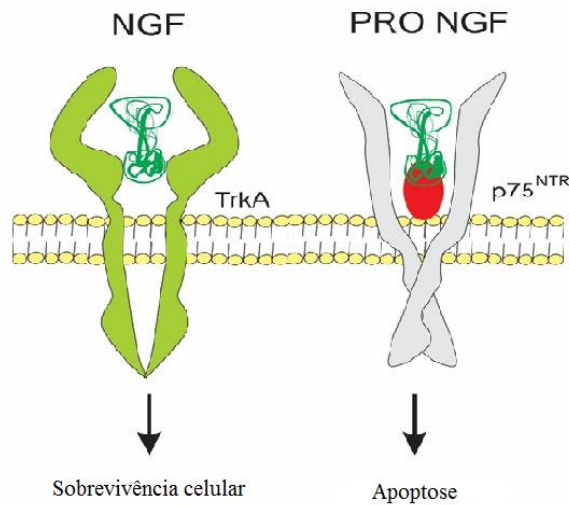
Além disso, exerce efeitos pleiotrópicos em várias populações de células não neuronais, pois também está envolvido no crescimento e inflamação tumoral. Mastócitos, linfócitos e eosinófilos produzem, armazenam e liberam NGF, e receptores de alta e baixa afinidade são amplamente expressos no sistema imunológico, indicando o potencial de resposta a essa neurotrofina por via autócrina. O NGF influencia a diferenciação, a quimiotaxia e a liberação de mediadores de células inflamatórias, bem como a ativação de fibroblastos por meio de uma rede complexa influenciada por outras citocinas próinflamatórias, e se encontra aumentado nos fluidos biológicos em várias doenças alérgicas, imunológicas e inflamatórias (CRISPOLTONI

*et al.*, 2017; FREUND-MICHEL; FROSSARD, 2008; LAMBIASE *et al.*, 2004; OTTEN *et al.*, 1994).

O NGF consiste em três subunidades,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , sendo a subunidade  $\beta$  responsável pela sua atividade biológica, e seus receptores TrKA e p75<sup>NTR</sup> (Figura 11) produzem diferentes respostas biológicas, incluindo apoptose, sobrevivência celular e inflamação (WIESMANN; DE VOS, 2001). O NGF é o produto de um único gene encontrado no cromossomo 1 (EDWARDS *et al.*, 1988), que dá origem a uma proteína precursora pró-NGF, clivada em uma forma peptídica biologicamente ativa. O Pró-NGF é a forma primária encontrada no cérebro humano. O NGF liga-se ao seu receptor cognato da quinase A relacionada à tropomiosina (TrkA) e ao receptor p75 pan-neurotrofina (p75<sup>NTR</sup>). A ligação de NGF a TrkA ativa as vias de sobrevivência, ativando Akt, enquanto pró-NGF e p75<sup>NTR</sup>, juntamente com seus correceptores sortilina e receptor homólogo de neurotrofina 2 (NRH2) ativam a proteína quinase N-terminal c-Jun (JNK) relacionada à apoptose celular. Por isso, tem sido sugerido que NGF apresenta um potencial terapêutico para aumentar a sobrevivência e a neuroplasticidade na doença de Alzheimer (FAHNESTOCK *et al.*, 2001; MURRAY, 2004; NYKJAER; WILLNOW; PETERSEN, 2005; TUSZYNSKI *et al.*, 1990, 2015; ULRICH *et al.*, 1998).

A desregulação da sinalização de NGF também foi associada a doença de Alzheimer, em que se observa um distúrbio no transporte retrógrado de NGF para determinadas regiões do cérebro. Um novo tratamento para a doença de Alzheimer inclui a estimulação dos receptores de NGF por meio de infusão de NGF, o que aumenta o fluxo sanguíneo e a memória episódica verbal. Essas melhorias foram mais duradouras do que outros tratamentos para Alzheimer. Por outro lado, a depleção de NGF em murinos adultos via expressão de anticorpos transgênicos anti-NGF levou ao declínio das células neuronais colinérgicas no hipocampo e no prosencéfalo basal (RUBERTI *et al.*, 2000). E também a eliminação de NGF em modelos murinos mostrou levar a uma patogênese semelhante à da doença de Alzheimer, como, por exemplo, a agregação de A $\beta$ , hiperfosforilação de Tau e mau funcionamento de sinapses. A suplementação com NGF promoveu alterações na patologia de A $\beta$  e suprimiu danos de memória em modelos murinos da doença de Alzheimer (IULITA; CUELLO, 2014; ZHANG *et al.*, 2011). Dessa forma, NGF foi capaz de servir como um supressor confiável da toxicidade celular desencadeada por A $\beta$ .

**Figura 11 – Receptor NGF ou Pró-NGF.**



**Legenda:** NGF se liga ao receptor TrkA e essa interação induz a ativação da via de sinalização, que culmina na sobrevivência celular. Quando pró-NGF se liga a p75<sup>NTR</sup> pode levar à apoptose.

**Fonte:** BUDNI *et al.* (2015).

Doenças inflamatórias e autoimunes, que se caracterizam por uma ativação anormal das células do sistema imunológico e elevação dos níveis de citocinas, apresentaram um aumento localizado do NGF em sítios de inflamação. Níveis aumentados de NGF foram inicialmente encontrados no LCR de pacientes com esclerose múltipla aguda, e foi demonstrado que o aumento de NGF acompanha o curso da doença (LAUDIERO *et al.*, 1992). Os fluidos sinoviais de pacientes com artrite reumatoide (ALOE *et al.*, 1992; FALCINI *et al.*, 1996) também são caracterizados por uma concentração aumentada de NGF, e sua regulação positiva na sinóvia inflamada foi confirmada em estudos em diferentes modelos animais de artrite induzida (ALOE *et al.*, 1993). Pacientes com lúpus eritematoso sistêmico exibem um aumento significativo na concentração de NGF no soro (AALTO *et al.*, 2002; BRACCI-LAUDIERO *et al.*, 1993), que se correlaciona com a atividade da doença (BRACCI-LAUDIERO *et al.*, 1996).

ALBRECHT *et al.* (2006) quantificaram os níveis de NGF no LCR de pacientes com HAM/TSP e de grupo controle. Os níveis de NGF também foram determinados no LCR de pacientes com síndrome motora cognitiva associada ao HIV e de indivíduos com diagnóstico de doença de Creutzfeldt Jakob (DCJ), que apresentaram níveis mais altos do que pacientes com HAM/TSP. No entanto, nenhuma diferença foi detectada na concentração de NGF no LCR de pacientes com HAM/TSP em relação aos controles.

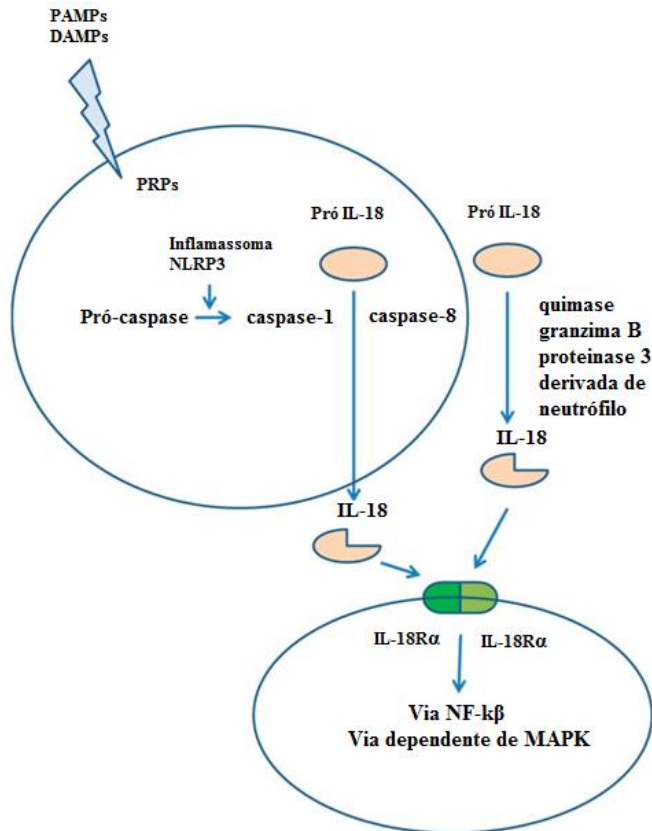
### 1.3.9 Interleucina 18 (IL-18)

A IL-18 foi originalmente descrita como um fator indutor de IFN- $\gamma$  a partir das células Th1 (NAKAMURA *et al.*, 1989). Atualmente, sabe-se que a IL-18 atua em células T não polarizadas, células NK, células NKT, células B, células dendríticas e macrófagos para produzir IFN- $\gamma$  na presença de IL-12. Além disso, a IL-18 na ausência de IL-12, mas em conjunto com IL-2, induz a produção de IL-3, IL-9 e IL-13 por células NK e NKT. Por outro lado, a IL-18 junto de IL-3 induz mastócitos e basófilos a produzirem IL-4 e IL-13. Portanto, a IL-18 é capaz de estimular tanto a imunidade inata quanto a imunidade adquirida (NAKANISHI, 2018; NAKANISHI *et al.*, 2001), e é classificada como um membro da família IL-1, pois é estruturalmente semelhante à IL-1 $\beta$  e à IL-33, e semelhante também em termos de utilização de receptor e de processamento de citocinas (ARENDE; PALMER; GABAY, 2008; NOLAN; GREAVES; WALDMANN, 1998).

A pró-IL-18, um precursor inativo de IL-18, é armazenada no citoplasma, sendo clivada e processada pela caspase-1 em IL-18 biologicamente ativa. Depois de processada, a IL-18 é secretada ou expressa de forma ligada à membrana. A produção de pró-IL-18 foi observada em diferentes tipos celulares, incluindo queratinócitos, células dendríticas, macrófagos, células de Kupffer, astrócitos, micróglia, células epiteliais intestinais e osteoblastos. O receptor de IL-18 (IL-18R) é encontrado nas células T, células NK, células B, macrófagos, neutrófilos, basófilos, células endoteliais, células musculares lisas, condrócitos, queratinócitos, fibroblastos, melanócitos e em diferentes células epiteliais (AIROLDI *et al.*, 2004; GERDES *et al.*, 2002; GUTZMER *et al.*, 2003; MÖLLER *et al.*, 2002; SIMS, 2002).

O inflamassoma é um complexo proteico que participa da resposta imune inata por meio da ativação da caspase-1 (GUO; CALLAWAY; TING, 2015). A ativação do inflamassoma é iniciada pelo reconhecimento de estímulos, tais como PAMPs e DAMPs, através de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), tais como TLRs e receptores de oligomerização do domínio de nucleotídeo (NOD) (KAWAMURA *et al.*, 2014). A oligomerização do domínio de ligação de nucleotídeos e do inflamassoma pela proteína 3 contendo domínio pirina da família de receptores do tipo NOD (NLRP3) induz a ativação da caspase-1 a partir da conversão de pró-caspase-1 (Figura 12).

**Figura 12 – Estímulos de processamento de IL-18.**



**Legenda:** Receptores de reconhecimento de padrões (PRR), reconhecem padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs) e padrões moleculares associados a danos (DAMPs), e induzem a oligomerização do domínio de nucleotídeos e leucina-inflamassoma pela proteína 3 contendo domínio pirina da família de receptores NOD (NLRP3). A IL-18 é processada e ativada por quinase, granzima B, proteinase-3 derivada de neutrófilos, bem como caspase-1 intracelular. Além disso, um heterodímero IL-18R está ligado à via NF-κB.

**Fonte:** LEE *et al.* (2015).

A IL-18 também é ativada por quinase de mastócitos, granzima B, proteinase-3 derivada de neutrófilos, bem como caspases (OMOTO *et al.*, 2006). A caspase-8 ativa a IL-18 via proteína associada a Fas com domínio de morte (FADD). O receptor de IL-18 (IL-18R) é um heterodímero composto por cadeias  $\alpha$  e  $\beta$ . A IL-18 ativada se liga à cadeia  $\alpha$  do IL-18R, e a cadeia  $\beta$  é então recrutada para formar um complexo de sinalização composto por IL-18, IL-18R $\alpha$  e IL-18R $\beta$ . Depois de formar o heterodímero, o domínio do receptor Toll-IL-1 intracelular (TIR) se liga ao fator de diferenciação mieloide 88 (MyD88) e à quinase associada ao receptor IL-1 (IRAK). Na via de sinalização do NF- $\kappa$ B, o IRAK fosforilado se liga ao fator associado ao receptor TNF 6 (TRAF6), que degrada o inibidor de  $\kappa$ B (I $\kappa$ B). Posteriormente, o NF- $\kappa$ B é ativado (BORASCHI; DINARELLO, 2006). Embora a sinalização de MyD88-IRAK-TRAF6-NF- $\kappa$ B seja a principal via de sinalização para IL-18, a IL-18 também atua por meio da fosforilação do transdutor de sinal e do ativador da transcrição 3 (STAT3) e da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) (LEE; CHO; PARK, 2015). Recentemente, a proteína de ligação



à IL-18 (IL-18BP), um inibidor natural da IL-18, IL-18R solúvel e anticorpos monoclonais anti-IL-18R foram desenvolvidos para o tratamento de doenças inflamatórias (BARKSBY *et al.*, 2007; DINARELLO *et al.*, 2013). A IL-18BP por exemplo inibe a sinalização por IL-18 por ligação competitiva às cadeias de IL-18R (NOVICK *et al.*, 1999). Assim, inibe a capacidade de indução de IFN- $\gamma$  por IL-18, protegendo contra doenças como a hipersensibilidade de contato.

A IL-18 é geralmente expressa em uma variedade de doenças. Sua função depende do ambiente em que ocorre a sua liberação. A IL-18 em conjunto com IL-12 ou IL-15 aumenta a resposta Th1, enquanto IL-18 sem IL-12 pode estimular respostas Th2, incluindo respostas alérgicas. Na resposta Th1, a IL-18 induz a expressão do ligante Fas nas células NK e de IFN- $\gamma$  via células T e células NK (NAKANISHI, 2018). Por outro lado, a combinação de IL-18 com IL-2 ou IL-4 aumenta a produção de IL-4, IL-13 e de imunoglobulina E (IgE) (MÜHL; PFEILSCHIFTER, 2004). Contudo, o desequilíbrio nos níveis de IL-18 pode causar inflamação e doenças. A IL-18 tem sido implicada em doenças inflamatórias cutâneas, incluindo psoríase, dermatite atópica, urticária, dermatite de contato, alopecia areata, alergia a medicamentos, doença do enxerto contra hospedeiro, lúpus eritematoso cutâneo, dentre outras (LEBRE *et al.*, 2003; NAKANISHI, 2018; PARK *et al.*, 2004; WANG *et al.*, 2008; WITTMANN; MACDONALD; RENNE, 2009). As células residentes do SNC expressam IL-18 e caspase-1 constitutivamente, proporcionando assim uma resposta imune local dependente de IL-18 local. Estudos recentes destacaram um papel crucial para IL-18 na mediação de neuroinflamação e neurodegeneração no SNC sob condições patológicas, como infecção bacteriana e viral, doença desmielinizante autoimune e lesões cerebrais hipóxicas-isquêmicas, hiperóxicas e traumáticas (FELDERHOFF-MUESER *et al.*, 2005). BIDKHORI *et al.* (2020) avaliaram a expressão gênica e os níveis plasmáticos das citocinas IL-18, IL-12 e IFN- $\gamma$  em PBMCs de pacientes com HAM/TSP, de portadores assintomáticos (ACs) de HTLV-1 e de indivíduos saudáveis. A expressão gênica e os níveis plasmáticos de IL-18 foram menores no grupo infectado em relação ao grupo controle. No entanto, não houve diferença significativa entre ACs e pacientes com HAM/TSP. ROCHA-JÚNIOR *et al.* (2012) avaliaram os polimorfismos no promotor da IL-18. A baixa atividade do promotor tem sido associada aos alelos A e C nas posições -607 e -137, respectivamente. Em contraste, uma maior atividade do promotor tem sido descrita para os alelos C e G nessas posições. Nos indivíduos infectados por HTLV-1, foi observada uma maior frequência do haplótipo -607A/-137G no promotor de IL-18 em relação ao grupo de indivíduos não infectados. Contudo, não foi observada associação com o desenvolvimento da HAM/TSP.

### 1.3.10 Fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ )

O TNF- $\alpha$  é uma citocina pró-inflamatória secretada principalmente por células imunes mas também por células endoteliais, miócitos cardíacos, neurônios, adipócitos e fibroblastos (GAHRING *et al.*, 1996), sendo o membro prototípico de uma grande família de citocinas que regulam o sistema imune inato e adaptativo (AGGARWAL, 2003). O TNF- $\alpha$  tem um papel importante no desenvolvimento de vários distúrbios inflamatórios. Ao se ligar a seus receptores, TNF- $\alpha$  estimula a transcrição e a produção da enzima I $\kappa$ B quinase, que ativa NF- $\kappa$ B. Quando ativado, NF- $\kappa$ B é translocado para o núcleo celular, induzindo a expressão de diversas proteínas envolvidas nas respostas imunes (VITALE; RIBEIRO, 2007).

Além da forma solúvel de TNF- $\alpha$ , a sua forma precursora transmembrana, que é expressa como uma proteína de superfície celular do tipo II em macrófagos, linfócitos ativados, dentre outros tipos de células, também está associada à resposta inflamatória. O TNF- $\alpha$  transmembrana atua como um ligante de receptores de TNF- $\alpha$  (TNF-R), ou ainda como receptor, transmitindo sinais exógenos para a célula. Portanto, considera-se que o TNF- $\alpha$  transmembrana desempenha um papel crítico na inflamação local (EISSNER; KOLCH; SCHEURICH, 2004; MITOMA; HORIUCHI; TSUKAMOTO, 2004).

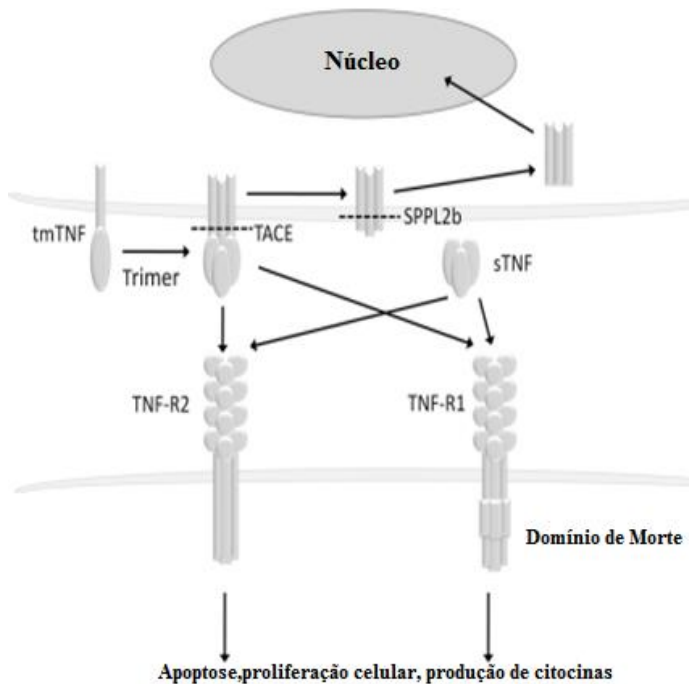
Após ser processado por metaloproteinases, como a enzima conversora de TNF- $\alpha$  (TACE) entre os resíduos alanina e valina, a forma solúvel de TNF- $\alpha$  é liberada e promove suas funções biológicas através TNF-R1 e R2, também conhecido como TNFRSF1A ou CD120a, e TNF-R2 conhecido também como TNFRSF1B ou CD120b, respectivamente. O TNF- $\alpha$  transmembrana é capaz de ligar o TNF-R1 e R2, porém suas atividades biológicas são mediadas principalmente por TNF-R2 (Figura 13) (BAZZONI; BEUTLER, 1996; PENNICA *et al.*, 1984).

TNF-R1 e R2 são expressos em quase todas as células nucleadas (VANDENABEELE *et al.*, 1995) na forma de trímeros pré-constituídos (CHAN *et al.*, 2000). Ambos os receptores de TNF são capazes de se ligar às proteínas adaptadoras intracelulares, que levam à ativação de processos complexos de sinalização intracelular e promovem os diferentes efeitos desta citocina (BRADLEY, 2008). As vias de sinalização ativadas por TNF-R2, que é o receptor preferencial para a forma transmembrana de TNF- $\alpha$ , são menos caracterizadas em comparação com as de TNF-R1. No entanto, o TNF-R2 parece ter efeitos compartilhados e antagônicos à TNF-R1, e está envolvido na patogênese de doenças inflamatórias (CARPENTIER; COORNAERT; BEYAERT, 2004).

Monócitos e macrófagos são as principais fontes de síntese de TNF *in vivo*, embora muitos outros tipos celulares também sejam capazes de produzir TNF em certas circunstâncias. O TNF atua como um coestimulador para células NK, linfócitos B e T ativados, e aumenta a citotoxicidade de monócitos, neutrófilos e eosinófilos na resposta contra patógenos (WAJANT; PFIZENMAIER; SCHEURICH, 2003). São de grande importância os efeitos estimuladores nas células endoteliais, resultando no aumento da expressão de moléculas de adesão, uma etapa central para o recrutamento de células imunes, por exemplo, neutrófilos, linfócitos e monócitos, que, no caso do SNC, pode ser seguido pela migração transendotelial de células para o tecido nervoso (DOBBIE *et al.*, 1999; WOSIK *et al.*, 2007). Níveis persistentemente elevados de TNF foram implicados na inflamação crônica e associados a uma variedade de doenças, incluindo doenças autoimunes e neurodegenerativas. O bloqueio da sinalização do TNF- $\alpha$ , que pode ser alcançado por inibição da transcrição, redução da meia-vida do mRNA, e inibição da tradução, foi avaliado em diferentes doenças inflamatórias e tem sido usado com sucesso no tratamento de doenças autoimunes, como artrite reumatoide, doença de Crohn e psoríase. No tratamento da esclerose múltipla, a neutralização do TNF- $\alpha$  com o anticorpo monoclonal natalizumabe tem sido a forma de imunoterapia de maior sucesso entre os antagonistas de citocinas utilizados na prática clínica (KONTERMANN; SCHEURICH; PFIZENMAIER, 2009; MCCOY; TANSEY, 2008; PFIZENMAIER; SZYMKOWSKI, 2011).

A infecção por HTLV-1 induz a ativação de células T e a proliferação espontânea de linfócitos, levando à produção de níveis elevados de IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  (BANGHAM *et al.*, 2015; OSAME, 2002). A alta carga proviral de HTLV-1 (KIRA *et al.*, 1991) e a expressão aumentada das citocinas pró-inflamatórias TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  em PBMC, bem como de IL-1 e IL-6 no LCR estão associadas à HAM/TSP (NISHIMOTO *et al.*, 1990). Devido ao papel dos mediadores pró-inflamatórios na patogênese da lesão neuronal associada às infecções por HTLV-1, os agentes imunomoduladores tem sido apontados como alvos candidatos à terapia em pacientes com HAM/TSP e em indivíduos com maior risco de seu desenvolvimento (SANDBORN; TARGAN, 2002; SURYAPRASAD; PRINDIVILLE, 2003). Em estudos anteriores, pacientes com HAM/TSP foram caracterizados por níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-4, IL-6, IL-8, IFN- $\gamma$ , e TNF- $\alpha$ , na comparação com doadores saudáveis e ACs (NAGAI *et al.*, 2001). Além disso, foi observado que células T de pacientes com HAM/TSP expressam espontaneamente IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, e IL-1 $\beta$ , cujos níveis se mostraram aumentados no LCR. Logo, foi sugerido que estas citocinas participam de respostas inflamatórias na HAM/TSP (BANGHAM *et al.*, 2015; STARLING *et al.*, 2013), contribuindo para a formação de lesões na medula espinhal.

**Figura 13 – Atividade biológica do TNF- $\alpha$  transmembrana e solúvel.**



**Legenda:** TNF- $\alpha$  transmembrana é uma forma precursora do TNF- $\alpha$  solúvel que é expresso em células produtoras de TNF- $\alpha$  como um homotrímero. Após o processamento por TACE, o TNF- $\alpha$  solúvel é gerado e se liga ao TNF-R1 ou -R2. O TNF- $\alpha$  transmembrana também se liga ao TNF-R1 e -R2. Após a ligação aos receptores de TNF, tanto o TNF- $\alpha$  transmembrana quanto o solúvel promovem efeitos pleiotrópicos (apoptose, proliferação celular e produção de citocinas). O TNF- $\alpha$  transmembrana remanescente após a clivagem com TACE é posteriormente processado por SPPL2b e o domínio intracelular é translocado para o núcleo e supostamente medeia a produção de citocinas. tmTNF: TNF- $\alpha$  transmembrana; sTNF: TNF- $\alpha$  solúvel.

**Fonte:** HORIUCHI *et al.* (2010).

### 1.3.11 Receptor solúvel para produtos finais de glicosilação avançada (sRAGE)

O receptor para produtos finais de glicosilação avançada (RAGE) possui diferentes ligantes e pertence à superfamília das imunoglobulinas. Existem três isoformas de RAGE, duas das quais são geradas individualmente como resultado de *splicing* alternativo. Essas três isoformas de RAGE são comumente referidas como integral, solúvel (sRAGE), e N-terminal truncada (NtRAGE) (BUCCIARELLI *et al.*, 2002; DING; KELLER, 2005; MALHERBE *et al.*, 1999; YONEKURA *et al.*, 2003). A interação dos produtos finais da glicosilação avançada (AGE) com o seu receptor na membrana celular, RAGE, resulta na geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), através da ativação da NADPH-oxidase (WAUTIER *et al.*, 2001) que ativa NF- $\kappa$ B (GLOIRE; LEGRAND-POELS; PIETTE, 2006), resultando em aumento da expressão de genes pró-inflamatórios (HOFMANN *et al.*, 1999). Em condições normais, RAGE é expresso em baixos níveis em todos os tecidos, com exceção do pulmão, que possui níveis

elevados (NEEPER *et al.*, 1992). Contudo, em situações fisiopatológicas, tais como diabetes, inflamação crônica, ou distúrbios neurodegenerativos, os níveis de RAGE sofrem elevação (BIERHAUS; STERN; NAWROTH, 2006; NAWROTH *et al.*, 2005; YAN *et al.*, 2009). No diabetes, elevadas concentrações de AGEs levam a um aumento da expressão de RAGE nas células do endotélio vascular, e promovem a transmigração de células imunes circulantes. Com isso, a ativação de RAGE está associada à sustentação da resposta inflamatória, resultando em inflamação crônica, como observado no diabetes (BIERHAUS; NAWROTH, 2009).

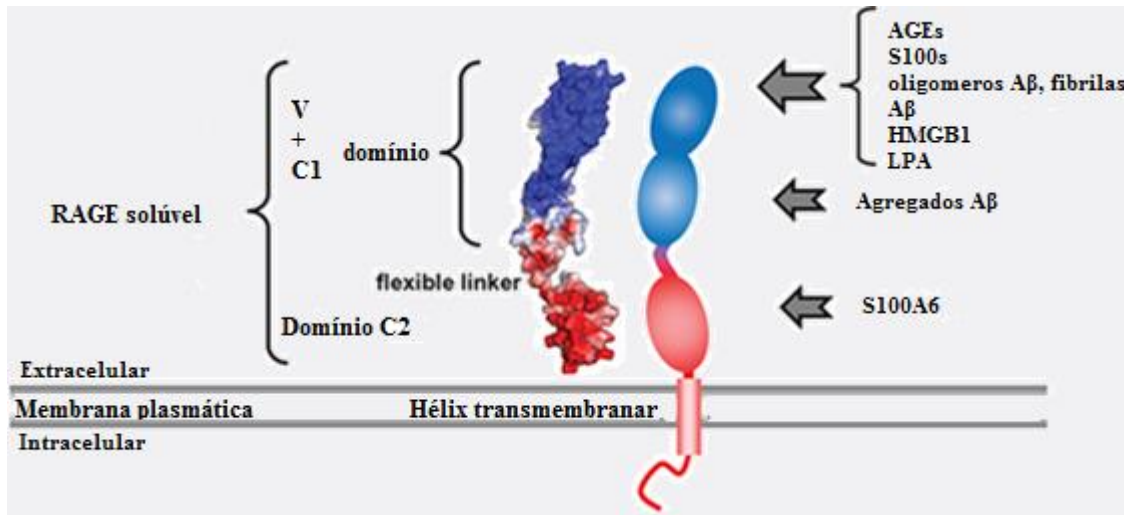
A interação entre RAGE e seus ligantes tem efeitos adversos nas funções das células, podendo causar o início e progressão de doenças e complicações. A apresentação solúvel sRAGE possui duas isoformas: RAGE clivado (cRAGE) e RAGE secretado endogenamente (esRAGE) (TAM *et al.*, 2011) que se ligam aos AGEs, evitando assim a sinalização intracelular, e atuam como um receptor que impede a ligação de AGEs da circulação ao RAGE na membrana celular, desempenhando um efeito citoprotetor. Os níveis séricos de sRAGE são reduzidos em pacientes com hipertensão essencial, doença coronariana, doença pulmonar obstrutiva crônica, hipertireoidismo, artrite reumatoide e doença de Alzheimer (CASPAR-BELL; DHAR; PRASAD, 2016; EMANUELE *et al.*, 2005; FALCONE *et al.*, 2005; GEROLDI *et al.*, 2005; PULLERITS *et al.*, 2005; SMITH *et al.*, 2011).

RAGE é composto por três domínios principais: um domínio de ligação extracelular, uma única alfa-hélice transmembrana, e um domínio curto C-terminal não estruturado e que não possui atividade enzimática (RAI *et al.*, 2012). No entanto, este domínio citoplasmático é essencial para a sinalização celular. O ectodomínio de RAGE é composto por três moléculas de Ig com um domínio N-terminal de Ig do tipo V, seguido por dois domínios de Ig do tipo C. O domínio V e o domínio C1 adjacente formam uma unidade estrutural e funcional, interagindo com quase todos os seus ligantes (Figura 14) (DATTILO *et al.*, 2007; HUTTUNEN; FAGES; RAUVALA, 1999; KOCH *et al.*, 2010).

sRAGE é a forma predominante do receptor que neutraliza a patogênese mediada por RAGE, operando como um receptor de captura, sendo, portanto, proposto como um antagonista de RAGE, especialmente no desenvolvimento de tumores. Os níveis de sRAGE não excluem a totalidade de AGEs circulantes *in vivo*. Uma vez que AGE é um regulador positivo da atividade de RAGE, as concentrações circulantes de sRAGE podem refletir a expressão de RAGE e podem ser aumentadas paralelamente às concentrações séricas de AGE, atuando como um contra-sistema ao dano tecidual causado por AGE. As concentrações séricas de AGE e sRAGE podem, portanto, não apenas ser utilizados como biomarcadores em pacientes com câncer, mas

também como potenciais alvos terapêuticos (GEROLDI; FALCONE; EMANUELE, 2006; KARIN; GRETEN, 2005; NAKAMURA *et al.*, 2008; YAMAGISHI *et al.*, 2006; YAMAGISHI; IMAIZUMI, 2007).

**Figura 14 – Representação esquemática da estrutura RAGE e modelo de sRAGE.**



**Legenda:** O ectodomínio de RAGE é composto por três domínios Ig: V, C1 e C2. O receptor é ancorado na membrana plasmática por uma única hélice transmembranar e exibe no citoplasma uma cauda curta não estruturada. No lado esquerdo, um modelo estrutural do ectodomínio RAGE com a superfície acessível a solvente é mostrada. O modelo de sRAGE é baseado nas estruturas do domínio tandem VC1 e domínio C2. A superfície é colorida de acordo com a carga eletrostática; as áreas com carga positiva são representadas em azul e as áreas com carga negativa são representadas em vermelho. Os domínios V e C1 formam uma unidade estrutural e carregam uma carga superficial positiva em contraste com o domínio C2, que é carregado negativamente. A maioria dos ligantes relatados até agora se ligam ao domínio V de RAGE

**Fonte:** KIERDORF; FRITZ (2013).

Citocinas pró-inflamatórias se acumulam em lesões na esclerose múltipla, sugerindo que o aumento da sua produção pode prejudicar os mecanismos de defesa celular, facilitando a desmielinização. Além disso, outros mediadores pró-inflamatórios também estão relacionados à neuroinflamação, como a proteína do grupo 1 de alta mobilidade (HMGB1), que é detectada em lesões ativas na esclerose múltipla e na encefalite autoimune experimental (EAE), e se correlaciona com a intensidade da inflamação. HMGB1 é uma proteína nuclear que pode ser liberada ativamente por monócitos e macrófagos estimulados, ou liberada passivamente por células necróticas. Esta molécula se liga a vários receptores, incluindo RAGE, amplificando assim processos neuroinflamatórios na esclerose múltipla e EAE (ANDERSSON *et al.*, 2008; GARDELLA *et al.*, 2002; MUSABAK *et al.*, 2011; SCAFFIDI; MISTELI; BIANCHI, 2002; SOSPEDRA; MARTIN, 2005). HMGB1 e RAGE são mediadores potenciais da inflamação. Em casos de hemorragia intracerebral (ICH) foi observada uma correlação entre os níveis de HMGB1 e sRAGE com a gravidade da ICH, e houve um aumento na frequência de resultados

funcionais ruins com o aumento dos níveis de HMGB1 e sRAGE (LEI; GENG; ZHONG, 2020). Além disso, as concentrações de HMGB1 e sRAGE se correlacionaram positivamente com o volume do hematoma. Com isso, a dosagem de HMGB1 e sRAGE tem auxiliado a definição de prognósticos em casos de ICH. Segundo YAGHOUTI *et al.* (2019), os níveis plasmáticos de sRAGE foram maiores em ACs do que em pacientes com HAM/TSP. Os resultados mostraram que sRAGE pode desempenhar um potencial papel no controle da resposta inflamatória na infecção por HTLV-1 pela inibição da sinalização de HMGB1. Em um estudo com pacientes com ATLL, foram observados níveis plasmáticos de HGMB1 mais altos na comparação com indivíduos saudáveis (KIMURA; MORI, 2014). Além disso, ZHANG *et al.* (2013) mostraram que HMGB1 foi altamente expresso em linhagens de células T infectadas com HTLV-1 em comparação com linhagens de células T não infectadas, e que este processo estava relacionado a proteína viral Tax, que induz uma maior secreção de HMGB1. Por isso, HMGB1 foi sugerido como um potencial biomarcador e alvo terapêutico na ATLL.

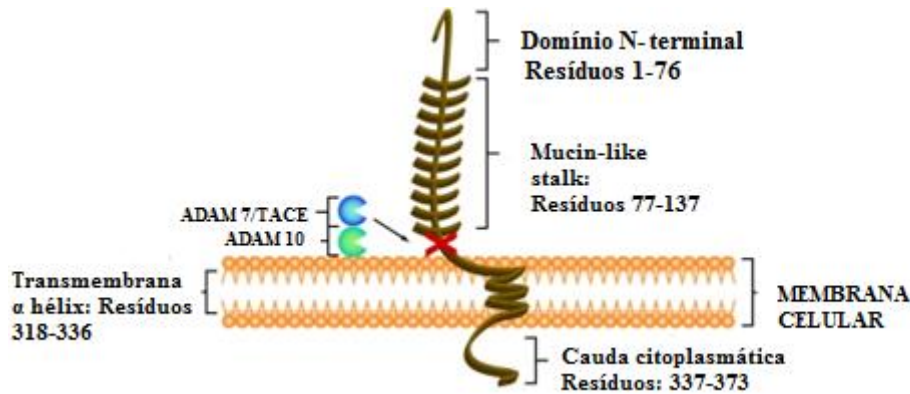
### **1.3.12 Fractalkina (CX3CL1)**

A fractalkina, também denominada CX3CL1, é a única quimiocina da subclasse CX3C, sendo composta por 373 aminoácidos, apresentando as formas transmembranar e solúvel. A forma transmembranar possui um N-terminal extracelular, uma haste semelhante à mucina, está ancorada à membrana por uma hélice  $\alpha$  transmembrana, e apresenta uma cauda citoplasmática curta. A fractalkina transmembrana é clivada por ADAM10 e ADAM17 para gerar a sua forma solúvel, que consiste no domínio da quimiocina e na haste extracelular semelhante à mucina (Figura 15) (JONES; BEAMER; AHMED, 2010).

No sangue periférico a fractalkina é expressa por monócitos em condições inflamatórias, e o seu único receptor, CX3CR1, é expresso em monócitos, células T e NK. A expressão da fractalkina em células endoteliais é regulada positivamente por IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , sendo capaz de modular o mecanismo de adesão de leucócitos ao endotélio. O domínio desta quimiocina é apresentado no topo da haste do tipo mucina ligada à membrana, onde atua como uma molécula de adesão. A interação entre a fractalkina e seu receptor CX3CR1 pode aumentar a afinidade com as integrinas  $\beta 1$  e  $\beta 2$ , levando a uma adesão mais intensa. Com isso, leucócitos extravasam para o tecido através da parede vascular, seguindo o gradiente de concentração da quimiocina. A fractalkina tem papel importante em algumas doenças inflamatórias, como artrite reumatoide,

aterosclerose, câncer, e também na infecção por HIV (JONES; BEAMER; AHMED, 2010; WHITE; GREAVES, 2012).

**Figura 15 – Fractalkina ligada à membrana/CX3CL1.**



**Legenda:** Representação esquemática da estrutura da fractalkina/CX3CL1, uma quimiocina ligada à membrana que consiste em um domínio N-terminal extracelular (resíduos 1-76), uma haste semelhante a mucina (resíduos 77-317), uma hélice  $\alpha$  transmembrana (resíduos 318-336), e uma cauda citoplasmática curta (resíduos 337-373). A fractalkina/CX3CL1 solúvel, que consiste no domínio de quimiocinas e na haste semelhante à mucina. A forma solúvel tem atividade quimioatrativa para monócitos, células T e NK.

**Fonte:** JONES; BEAMER; AHMED (2010).

A fractalkina desempenha um papel importante na redução da neuroinflamação e é altamente expressa nas principais áreas do SNC afetadas na doença de Alzheimer, tais como o hipocampo e o córtex cerebral, e o nível de expressão da fractalkina reflete a velocidade de progressão da neuroinflamação nesta doença. A fractalkina possui um papel neuroprotetor no SNC, reduzindo a neurotoxicidade e a ativação microglial, sendo predominantemente expressa em neurônios no SNC. Seu receptor, CX3CR1, pertence ao receptor acoplado à proteína G e é expresso na micróglia, astrócitos e neurônios (BAJETTO *et al.*, 2002; CASPAR-BELL; DHAR; PRASAD, 2016; CHEN *et al.*, 2016; MIZUNO *et al.*, 2003).

Monócitos do sangue periférico são divididos em três subconjuntos baseados nos níveis de expressão das moléculas de CD14 e CD16, sendo eles: monócitos clássicos  $CD14^+CD16^-$ , monócitos intermediários  $CD14^+CD16^+$ , monócitos não clássicos  $CD14^-CD16^+$ . Os monócitos clássicos expressam níveis elevados de CCR2. No entanto, monócitos não clássicos expressam CX3CR1. Os monócitos possuem funções imunes inatas e adaptativas e estão envolvidos em várias condições inflamatórias. Tanto monócitos clássicos quanto monócitos intermediários são fagocíticos, e acredita-se que monócitos não clássicos também exercem a apresentação de antígenos e produzem altos níveis de citocinas que modulam as respostas imunes. Os monócitos não clássicos  $CD14^-CD16^+$  também promovem respostas imunes adaptativas e monitoram a barreira sangue/endotélio. Contudo, devido ao baixo nível de expressão de CCR2, estas células



possuem capacidade limitada de migração transendotelial, e possuem função anti-inflamatória (WEBER *et al.*, 2000, 2001; WONG *et al.*, 2011; ZIEGLER-HEITBROCK *et al.*, 2010).

CX3CR1 é altamente expresso em monócitos CD16<sup>+</sup>, e que por isso migram em resposta à fractalkina, que é conhecida por induzir altos níveis de migração transendotelial destas células (ANCUTA; WEISS; HAEFFNER-CAVAILLON, 2000). Os níveis de quimiocinas e seus receptores são alterados em pacientes com doenças neurodegenerativas. É importante ressaltar que a forma transmembrana de fractalkina é expressa em células endoteliais após estimulação com TNF- $\alpha$  e IL-1. Monócitos não clássicos CX3CR1<sup>+</sup> são recrutados para o SNC inflamado de pacientes com esclerose múltipla, e a fractalkina por isso atua como uma proteína reguladora neuronal que controla a ativação da micróglia em condições fisiológicas. Dependendo do tipo de lesão do SNC, o eixo de sinalização CX3CL1/CX3CR1 desempenha um papel diferente na neurodegeneração em comparação com o papel que possui na neuroproteção (DE CASTRO-AMARANTE *et al.*, 2015).

A fractalkina também possui um papel importante na resposta imune antitumoral. O aumento na expressão de fractalkina em células tumorais correlaciona com a intensidade da resposta antitumoral, pois promove o acúmulo de células T CD4<sup>+</sup> antitumorais, células T CD8<sup>+</sup>, células dendríticas, e células NK no tumor. Por esta razão, o aumento na expressão de fractalkina no tumor melhora o prognóstico de pacientes com carcinoma de mama, câncer colorretal, adenocarcinoma gástrico e glioma. Dessa forma, tem sido sugerido o uso de terapias gênicas na transferência de fractalkina para células tumorais (AZODI *et al.*, 2017; ERRENI *et al.*, 2016; GAUDRAY *et al.*, 2002; GUO; CALLAWAY; TING, 2015; HYAKUDOMI *et al.*, 2008; KEHLEN *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2019).

DE CASTRO-AMARANTE *et al.* (2015) avaliaram como a carga proviral de HTLV-1 correlaciona com a progressão da doença, além do nível de infecção, frequência, funções quimiotáticas e fagocíticas de subpopulações de monócitos clássicos, intermediários e não clássicos. Todas estas subpopulações de monócitos se mostraram infectadas por HTLV-1, e foi observada uma diminuição na frequência de monócitos clássicos no sangue de indivíduos infectados em comparação com indivíduos não infectados. Na população de monócitos clássicos (CD14<sup>+</sup>), foi observada uma maior frequência de células expressando os receptores de quimiocinas CCR5, CXCR3 e CXCR1. No entanto, não foi observado aumento na resposta quimiotática destas células aos ligantes de CCR2 (CCL2), CCR5 (CCL5), CXCR3 (CXCL9) ou CX3CR1 (CX3CL1) em indivíduos infectados. Por outro lado, foi observada uma correlação positiva entre a capacidade de migração de monócitos clássicos em resposta a CCL2, CCL5 e CX3CL1 e a carga proviral de HTLV-1, sugerindo que a migração destas células para os tecidos

resulta em sua infecção *in vivo*. Enquanto isso, a população de monócitos intermediários mostrou uma maior capacidade de migrar em resposta a CCL5.

AMORIM *et al.* (2014) descreveram que a subpopulação de monócitos intermediários (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>) está aumentada em pacientes com HAM/TSP. Esses autores observaram um aumento da frequência de monócitos não clássicos em indivíduos infectados por HTLV-1 e, com expressão aumentada de receptores de quimiocinas CCR1, CXCR3 e CX3CR1. Em resumo, esses dados sugerem um modelo no qual a inflamação na infecção por HTLV-1 resulta da regulação positiva da expressão de receptores de quimiocinas em monócitos, favorecendo o extravasamento de monócitos clássicos, que é a população de monócitos mais abundante no sangue, que por sua vez pode ser infectada. Do mesmo modo, o recrutamento de monócitos intermediários para sítios de inflamação por CCL5, favorece a sua infecção, o que prejudica a sua capacidade fagocítica. Finalmente, monócitos não clássicos, cuja frequência se mostra aumentada no sangue periférico, podem ser um canal para a transmissão de HTLV-1 para células T (DE CASTRO-AMARANTE *et al.*, 2015).

## 2 JUSTIFICATIVA

Diferentes características clínicas e laboratoriais de alterações neurológicas associadas à infecção por HTLV-1 tem sido avaliadas por nosso grupo de pesquisa (ESPÍNDOLA *et al.*, 2015; LEITE *et al.*, 2004; LIMA *et al.*, 2007; LIMA; BICA; ARAÚJO, 2005; NOVAES *et al.*, 2013). Conforme descrição clássica, a HAM/TSP apresenta inflamação no SNC, de progressão lenta, sem indícios de remissão (SATO *et al.*, 2013). Tem sido descrito que a HAM/TSP resulta de uma resposta inflamatória no SNC que promove a degeneração axonal dos tratos cortico-espinhais em decorrência da liberação de fatores inflamatórios e citotóxicos aos neurônios. Por isso, a pesquisa e identificação de marcadores de neuroinflamação possibilitariam uma melhor compreensão da patogênese da HAM/TSP e do acompanhamento dos pacientes.

### **3 OBJETIVO GERAL**

Avaliar o papel de fatores associados a processos neuroinflamatórios e de neurotrofinas, comumente associados ao desenvolvimento de doenças do SNC, na infecção por HTLV-1 e na progressão da HAM/TSP.

#### **3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar a concentração de VILIP-1, BDNF, TGF- $\beta$ 1, VEGF, IL-6, sTREM-1, sTREM-2,  $\beta$ -NGF, IL-18, TNF- $\alpha$ , sRAGE e fractalkina em amostras de LCR e de soro de pacientes com HAM/TSP, portadores assintomáticos de HTLV-1 (ACs), e de grupo controle de indivíduos não infectados por HTLV-1;
- Avaliar a associação entre os níveis de fatores relacionados a processos neuroinflamatórios e neurotrofinas com o desenvolvimento e/ou a progressão da HAM/TSP;
- Correlacionar os resultados obtidos com dados de biomarcadores de inflamação, dentre eles neopterin e quimiocinas, de neurodegeneração, incluindo proteína Tau e neurofilamento, e de estudo do LCR, tais como proteínas totais, glicose e contagem celular, além da carga proviral de HTLV-1 em sangue periférico.

### **4 METODOLOGIA**

#### **4.1 TIPO DE ESTUDO E ASPECTOS ÉTICOS**

Trata-se de um estudo de corte transversal do tipo caso-controle, realizado com amostras de pacientes com diagnóstico de infecção pelo HTLV-1, e que apresentam definição clínica do estado neurológico quanto ao desenvolvimento de HAM/TSP. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do INI/FIOCRUZ sob o protocolo CAAE 53518416.9.0000.5262.

## **4.2 CASUÍSTICA, COLETA DE DADOS E DE MATERIAL BIOLÓGICO**

Os indivíduos incluídos na pesquisa foram distribuídos em três grupos:

- Indivíduos infectados pelo HTLV-1 e assintomáticos neurológicos (n=13).
- Pacientes com HAM/TSP (n=20).
- Grupo controle de indivíduos não infectados (n=9).

Como grupo controle foram utilizados dados de indivíduos não infectados por HTLV-1 com alterações neurológicas não inflamatórias e não degenerativas, derivados do estudo “Caracterização clínica e laboratorial das manifestações neurológicas associadas à infecção pelo novo Coronavírus durante uma epidemia nas cidades do Rio de Janeiro e Niterói”, aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) (CAAE: 30611720.6.0000.5262), coordenado pelo Dr. Marcus Tullius Teixeira da Silva, do LAPCLIN-NEURO/INI.

### **4.2.1 Critérios de inclusão**

Foram incluídos no estudo indivíduos de ambos os sexos, maiores de 18 anos, portadores de infecção pelo HTLV-1, e que concordaram em participar do estudo e assinaram termo de consentimento livre e esclarecido.

### **4.2.2 Critérios de exclusão**

Foram excluídos indivíduos que apresentavam: (1) coinfeção com HIV, HBV, HCV e HTLV-2; (2) histórico de tratamento com corticosteroides ou outras drogas imunomoduladoras em período inferior a um (01) ano do momento de inclusão no estudo; (3) diagnóstico de doenças autoimunes ou outras desordens inflamatórias crônicas além da HAM/TSP; (4) diagnóstico de outras doenças que poderiam afetar a capacidade motora, tais como síndrome de Parkinson, artrite reumatoide, espondilite anquilosante, dentre outras; (5) escaras de decúbito nos seis meses anteriores à data prevista para coleta de amostras; (6) diagnóstico de ATLL. Também foram excluídos pacientes que retiraram o consentimento para participação no estudo.

Os dados clínicos e laboratoriais dos indivíduos infectados por HTLV-1 foram extraídos do sistema de prontuários eletrônicos do INI/FIOCRUZ, mantendo-se a confidencialidade e privacidade. O diagnóstico de HAM/TSP foi realizado por neurologistas do Laboratório de

Pesquisa Clínica em Neuroinfecções (LAPCLIN-NEURO) do INI conforme critérios da Organização Mundial de Saúde (BANGHAM *et al.*, 2015; DE CASTRO-COSTA *et al.*, 2006). De acordo com a avaliação clínica periódica destes pacientes, foi realizada apenas uma coleta de sangue periférico e de LCR de cada indivíduo, no mesmo dia. As amostras de soro foram separadas por centrifugação, após formação do coágulo, e mantidas a  $-80^{\circ}\text{C}$  até o momento de uso. As amostras de LCR foram coletadas por punção lombar após anestesia local com lidocaína a 1%, e acondicionadas em banho de gelo. As amostras de soro e LCR foram processadas com intervalo máximo de duas horas até o congelamento, e foram usadas na quantificação de fatores neuroinflamatórios.

Dados destes pacientes sobre a quantificação de carga proviral de HTLV-1 em PBMCs, de biomarcadores de neurodegeneração, tais como a proteína Tau, proteínas do neurofilamento de cadeia leve (NfL) e de cadeia pesada (pNfH), e de neuroinflamação, incluindo contagem de células no LCR, valores de proteínas totais e de glicose no LCR, e concentração de neopterina e quimiocinas inflamatórias (CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL11, CCL17, CCL20, CXCL1, CXCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10 e CXCL11) no soro e LCR, foram obtidos de registros do LAPCLIN-NEURO/INI, apresentados na Tese de Doutorado de SOUZA (2020), intitulada Estudo de biomarcadores associados à lesão neuronal, inflamação, e migração celular no sistema nervoso central de pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1, defendida em 2020 no Programa de Pós-graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas da FIOCRUZ.

### **4.3 DOSAGEM DE FATORES ASSOCIADOS À NEUROINFLAMAÇÃO**

As concentrações de 12 fatores (VILIP-1, BDNF, TGF- $\beta$ 1, VEGF, IL-6, sTREM-1, sTREM-2,  $\beta$ -NGF, IL-18, TNF- $\alpha$ , sRAGE, e fractalkina) em amostras de soro e LCR foram definidas por citometria de fluxo, simultaneamente, usando o kit LEGENDPlex<sup>TM</sup> Human Neuroinflammation Panel 1 (Biolegend, Cat. No. 740795), conforme as recomendações do fabricante. As amostras de LCR foram avaliadas sem diluição, enquanto as amostras de soro foram diluídas a 1:2 com tampão fornecido com o kit. A leitura dos ensaios foi realizada em citômetro de fluxo FACS Canto II (BD Biosciences), no Serviço de Citometria de Fluxo do Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira da Universidade Federal do Rio de Janeiro, e a concentração dos analitos foi calculada em curvas logarítmicas de cinco parâmetros com o programa fornecido pelo fabricante do ensaio.

#### 4.4 PLANO DE ANÁLISE

A elaboração de gráficos e a análise estatística foram realizadas com os programas *R* versão 3.5.1 e GraphPad Prism versão 5. As variáveis quantitativas foram avaliadas quanto a sua distribuição normal pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Variáveis cuja dispersão seguiu a normalidade foram avaliadas por testes paramétricos, tais como correlação de Pearson e teste *t* de Student, com correção de Welch quando os grupos apresentavam variâncias distintas. A comparação de três grupos foi realizada pelo teste ANOVA com correção de Bonferroni. Variáveis assimétricas foram avaliadas por testes não-paramétricos, tais como correlação de Spearman e teste de Mann-Whitney, e a comparação de três grupos foi realizada pelo teste de Kruskal-Wallis com correção de Dunn para múltiplas comparações. A associação entre variáveis qualitativas foi definida pelo teste Exato de Fisher. Foram considerados significativos resultados com  $p < 0,05$ . Indivíduos nos grupos de ACs e de pacientes com HAM/TSP também foram organizados para comparação de médias de concentração dos fatores associados a processos neuroinflamatórios de acordo com as seguintes características: (1) níveis normais ou alterados de NfL no LCR, conforme valores de referência corrigidos por idade; (2) contagem normal de células no LCR ( $< 5$  células/mm<sup>3</sup>) ou pleocitose ( $\geq 5$  células/mm<sup>3</sup>); (3) razão da concentração de neopterin LCR/soro  $< 1,0$  ou  $\geq 1,0$ ; (4) razão da concentração de CXCL10 LCR/soro  $< 2,0$  ou  $\geq 2,0$ . Em seguida, as medianas foram comparadas pelo teste de Wilcoxon. Diferenças com  $p < 0,05$  foram consideradas significativas.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 ASPECTOS GERAIS E CLÍNICOS DA POPULAÇÃO DO ESTUDO

No estudo, foram avaliadas 42 amostras de LCR, sendo 13 amostras de ACs, 20 de pacientes com HAM/TSP, e nove de grupo controle, que foi constituído de indivíduos não infectados por HTLV-1 com alterações neurológicas não inflamatórias e não degenerativas, caracterizadas por hidrocefalia normobárica. Também foram analisadas 38 amostras pareadas de soro, sendo 13 de ACs, 20 de pacientes com HAM/TSP, e cinco de grupo controle. Dados

desta população, tais como idade, sexo, tempo de doença, parâmetros bioquímicos (glicose e proteínas totais) e de citologia no LCR estão resumidas na Tabela 1.

**Tabela 1 – Caracterização da população de estudo.**

	AC (n=13)	HAM/TSP (n=20)	Controle (n=9)	<i>p</i> -valor <sup>g</sup>
<b>Idade (anos)<sup>a</sup></b>	62,15 ± 10,21	54,75 ± 13,46	59,46 ± 20,65	0,345
<b>Sexo<sup>b</sup></b>				
Homens	6 (14,3%)	8 (19,0%)	4 (9,5%)	0,935
Mulheres	7 (16,7%)	12 (28,6%)	5 (11,9%)	
<b>Tempo de infecção (anos)<sup>c,d</sup></b>	16,98 [IQR 16,47 - 21,71]	–	N.A.	–
<b>Tempo de doença (anos)<sup>a,e</sup></b>	N.A.	12,94 ± 8,07	N.A.	–
<b>Escala de incapacidade</b>				–
Leve (1-10 pontos)	0	13 (65,0%)	N.A.	–
Moderada (11-21 pontos)	0	5 (25,0%)	N.A.	–
Grave (≥22 pontos)	0	2 (10,0%)	N.A.	–
<b>Parâmetros – LCR</b>				–
Glicose (mg/dL) <sup>a</sup>	63,00 ± 11,52	61,55 ± 9,19	55,56 ± 8,47	0,191
Proteínas totais (mg/dL) <sup>a</sup>	48,25 ± 13,06	44,08 ± 12,86	33,00 ± 8,57	<b>0,020</b>
Frequência de níveis elevados de proteínas <sup>b</sup>	53.8% (7/13)	30% (6/20)	0% (0/9)	<b>0,027</b>
Citologia (células/mm <sup>3</sup> ) <sup>d,f</sup>	1,0 [IQR 1 - 2]	4,0 [IQR 1,5 - 7,5]	1,0 [IQR 1 - 1]	<b>&lt;0,001</b>
<b>Carga proviral PBMCs (%)<sup>a</sup></b>	4,50 ± 3,64	8,46 ± 6,37	N.A.	<b>0,049</b>

**Legenda:** <sup>a</sup> Valores estão apresentados como média ± desvio-padrão. Comparação de médias foi realizada com o teste de ANOVA com correção de Bonferroni.

<sup>b</sup> A análise de diferenças na frequência entre os grupos de ACs, pacientes com HAM/TSP, e de controles foi realizada pelo teste de Chi-quadrado.

<sup>c</sup> Tempo de infecção em ACs (em anos) foi calculado desde a data de diagnóstico até a data da coleta de amostras.

<sup>d</sup> Valores apresentados como mediana e IQR. Comparação entre os grupos foi realizada com o teste de Kruskal-Wallis com correção de Dunn.

<sup>e</sup> Tempo de doença, em anos, foi calculado a partir do momento de apresentação de síndrome piramidal até o momento de coleta de amostras de sangue e LCR.

<sup>f</sup> Todas as amostras apresentaram composição 100% mononuclear.

<sup>g</sup> Foi considerado significativo  $p < 0,05$ .

**Notas:** AC, assintomático; HAM/TSP, mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical N.A., não se aplica; IQR, intervalo interquartilico 25%-75%.

Foram incluídos 18 homens e 24 mulheres, e a análise dos grupos (ACs, pacientes com HAM/TSP e controles) demonstrou uma distribuição homogênea de acordo com o sexo (Chi-quadrado,  $p=0,935$ ). Também foram observadas médias de idade semelhantes entre os grupos

(ANOVA,  $p=0,345$ ), com ACs apresentando média de  $62,15 \pm 10,21$  anos, pacientes com HAM/TSP de  $54,75 \pm 13,46$  anos, e de grupo controle com  $59,46 \pm 20,65$  anos (Tabela 1).

Pacientes com HAM/TSP apresentavam doença há  $12,94 \pm 8,07$  anos, o que representa uma população com infecção crônica, e diferentes níveis de incapacidade, sendo 65% ( $n=13$ ) com grau leve, 25% ( $n=5$ ) com grau moderado, e 10% ( $n=2$ ) com quadro grave de acordo com a escala IPEC-2, que avalia distúrbios motores, sensoriais, urinários e intestinais (Tabela 1).

Nenhum dos indivíduos apresentou alterações relevantes nos níveis de glicose no LCR, e nenhuma das amostras de LCR apresentou contaminação relevante com sangue decorrente de acidente de punção, como confirmado pela mediana de contagem de hemácias no LCR (1 hemácia/ $\text{mm}^3$ , IQR 0-6).

A faixa de referência da concentração de proteínas totais no LCR lombar, em adultos, varia de 15 a 45 mg/dL. Níveis de proteínas foram ligeiramente aumentados em ACs (Tabela 1, Kruskal-Wallis,  $p=0,020$ ), sendo presente em 53,8% dos indivíduos desse grupo, em 30% de pacientes com HAM/TSP, enquanto todos os indivíduos do grupo controle apresentaram níveis normais (Tabela 1). Por isso, na comparação entre os grupos, foram observadas frequências distintas de indivíduos com níveis alterados de proteínas no LCR (Chi-quadrado,  $p=0,027$ ). Pacientes com HAM/TSP e ACs não apresentaram diferença (Teste exato de Fisher,  $p=0,275$ ). No entanto, foi observada frequência significativamente maior de pacientes com níveis elevados de proteínas no LCR somente no grupo de ACs (Teste exato de Fisher,  $p=0,016$ ), não havendo diferença em pacientes com HAM/TSP (Teste exato de Fisher,  $p=0,137$ ). Por outro lado, essas ligeiras alterações nos níveis de proteínas no LCR foram consideradas irrelevantes quanto ao valor clínico.

A média de CPV de HTLV-1 no grupo de ACs foi de  $4,50\% \pm 3,64\%$  de células infectadas em PBMCs, sendo significativamente menor que a CPV de pacientes com HAM/TSP ( $p=0,049$ ), que apresentaram média de  $8,46\% \pm 6,37\%$  em PBMCs (Tabela 1).

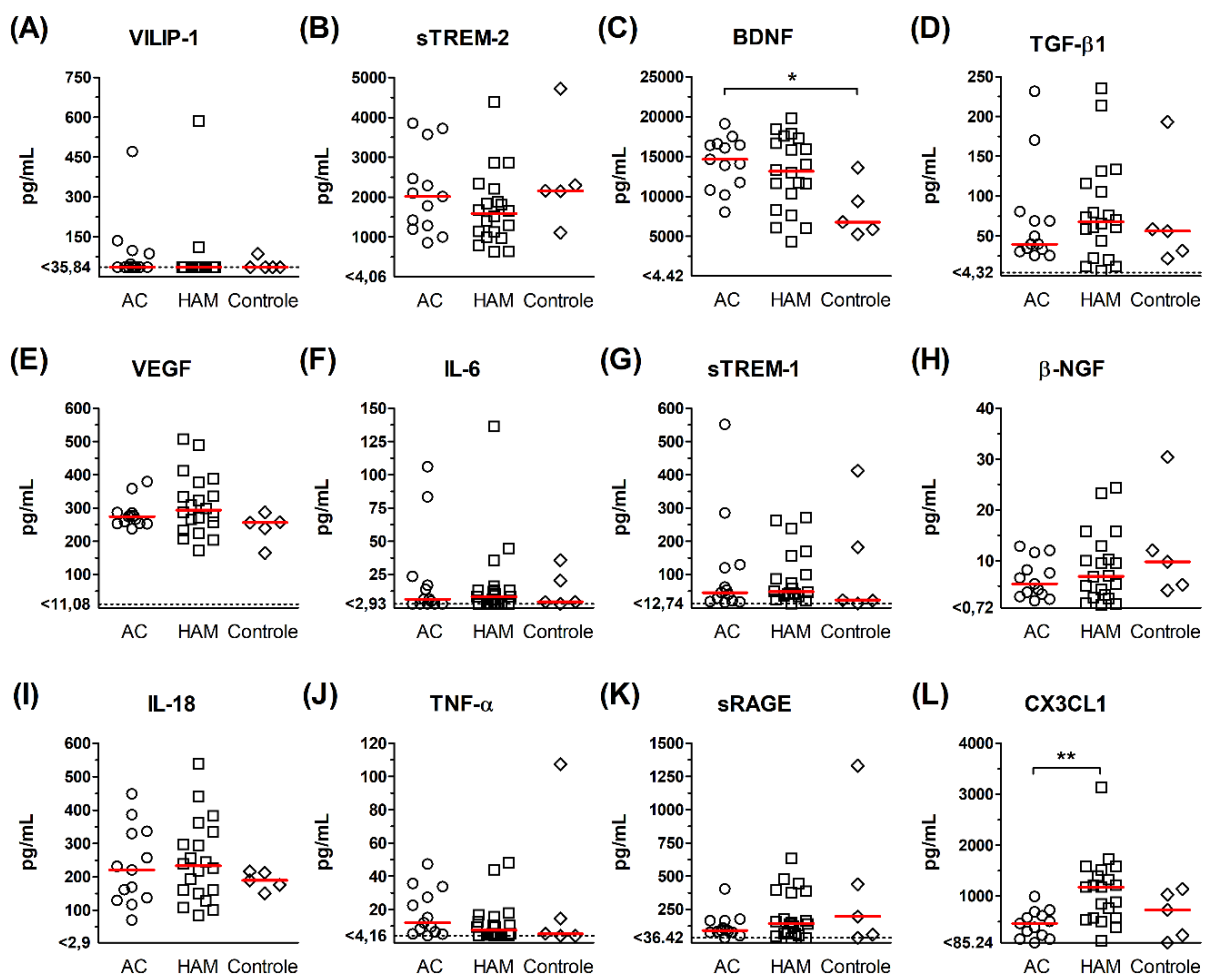
A contagem de leucócitos no LCR em adultos é considerada normal até 5 células/ $\text{mm}^3$ . Todos os indivíduos incluídos no estudo apresentaram composição celular 100% mononuclear, sendo observada mediana de 1 célula/ $\text{mm}^3$  em ACs e no grupo controle (Tabela 1), com todos apresentando contagem  $\leq 5$  células/ $\text{mm}^3$ . Pacientes com HAM/TSP apresentaram mediana de 4 células/ $\text{mm}^3$ , que, embora dentro um valor normal, foi significativamente superior à de ACs e do grupo controle (Kruskal-Wallis,  $p<0,001$ ) (Tabela 1). Dos pacientes com HAM/TSP, seis apresentaram pleocitose. No entanto, de modo semelhante aos níveis de glicose e proteínas, tais alterações na contagem de células do LCR também não apresentaram valor clínico.



## 5.2 FATORES ASSOCIADOS A PROCESSOS NEUROINFLAMATÓRIOS

Os níveis de VILIP-1, sTREM-1, sTREM-2, TGF- $\beta$ 1, VEGF, IL-6,  $\beta$ -NGF, IL-18, TNF- $\alpha$ , sRAGE no soro não apresentaram diferença significativa entre os grupos de pacientes com HAM/TSP, ACs e de controle (Figura 16). Contudo, BDNF se mostrou aumentado em ACs em relação aos controles, enquanto a fractalkina/CX3CL1 se mostrou aumentada em pacientes com HAM/TSP em relação a ACs (Figura 16, Kruskal-Wallis  $p < 0,05$ ).

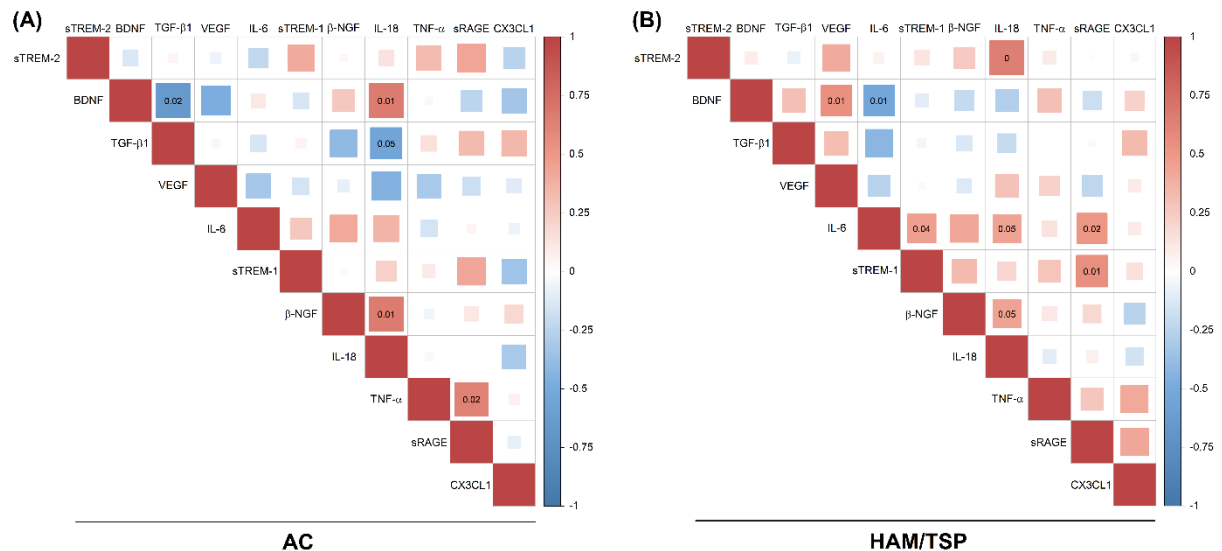
Figura 16 – Níveis séricos de fatores associados a processos neuroinflamatórios.



**Legenda:** Níveis séricos de (A) VILIP-1, (B) sTREM-2, (C) BDNF, (D) TGF- $\beta$ 1, (E) VEGF, (F) IL-6, (G) sTREM-1, (H)  $\beta$ -NGF, (I) IL-18, (J) TNF- $\alpha$ , (K) sRAGE, (L) CX3CL1 (Fractalkina) foram determinados por imunoenensaio multiplex baseado em esferas com leitura por citometria de fluxo, em amostras de portadores assintomáticos de HTLV-1 (AC) (n=13), pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM) (n=20), e de grupo controle (Controle) composto de indivíduos não infectados com alteração neurológica não inflamatória e não degenerativa (n=5). Diferenças entre os grupos foram avaliadas pelo teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn com correção para múltiplas comparações. Foram consideradas significativas diferenças com  $p < 0,05$ . \*,  $p < 0,05$ ; \*\*,  $p < 0,01$ .

A análise de correlação dos níveis séricos de fatores ligados à neuroinflamação indicou associações distintas de acordo com o estado neurológico dos indivíduos infectados por HTLV-1 (Figura 17). Uma vez que VILIP-1 apresentou níveis detectáveis em menos da metade das amostras de soro da população de estudo, este fator foi excluído das análises seguintes. Em ACs, foi observada correlação positiva de IL-18 com BDNF e  $\beta$ -NGF, enquanto os níveis de sRAGE correlacionaram com TNF- $\alpha$ . Por outro lado, os níveis séricos de BDNF e IL-18 correlacionaram negativamente com TGF- $\beta$ 1 (Figura 17A). Em pacientes com HAM/TSP, foi observada uma maior frequência de correlações entre os fatores, sendo que IL-18 correlacionou positivamente com  $\beta$ -NGF, sTREM-2 e IL-6, enquanto os níveis de IL-6 também correlacionaram com sTREM-1 e sRAGE, que por sua vez correlacionaram entre si. Por fim, BDNF correlacionou positivamente com VEGF e negativamente com IL-6 (Figura 17B).

**Figura 17 – Análise de correlação dos níveis séricos de fatores ligados à neuroinflamação.**



**Legenda:** A análise de correlação entre os níveis de sTREM-2, BDNF, TGF- $\beta$ 1, VEGF, IL-6, sTREM-1,  $\beta$ -NGF, IL-18, TNF- $\alpha$ , sRAGE e CX3CL1 (Fractalkina) em amostras de soro de (A) portadores assintomáticos de HTLV-1 (AC) (n=13) e (B) de pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP) (n=20) foi realizada pelo teste de Spearman. Foram selecionados somente os fatores com níveis detectáveis em pelo menos metade da amostra de cada grupo. Coeficientes de correlação são indicados por intensidade de cor, em que correlações positivas estão destacadas em vermelho e correlações negativas em azul. Os tamanhos dos quadrados nas interseções dos fatores correspondem ao  $p$ -valor, que estão apresentados para as diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

A análise dos fatores associados a processos neuroinflamatórios no soro de ACs e de pacientes com HAM/TSP não mostrou associação com a carga proviral (CPV) de HTLV-1, e somente foi observada uma correlação positiva entre os níveis de neoptertina e de sTREM-2 em ACs (Figura 18).

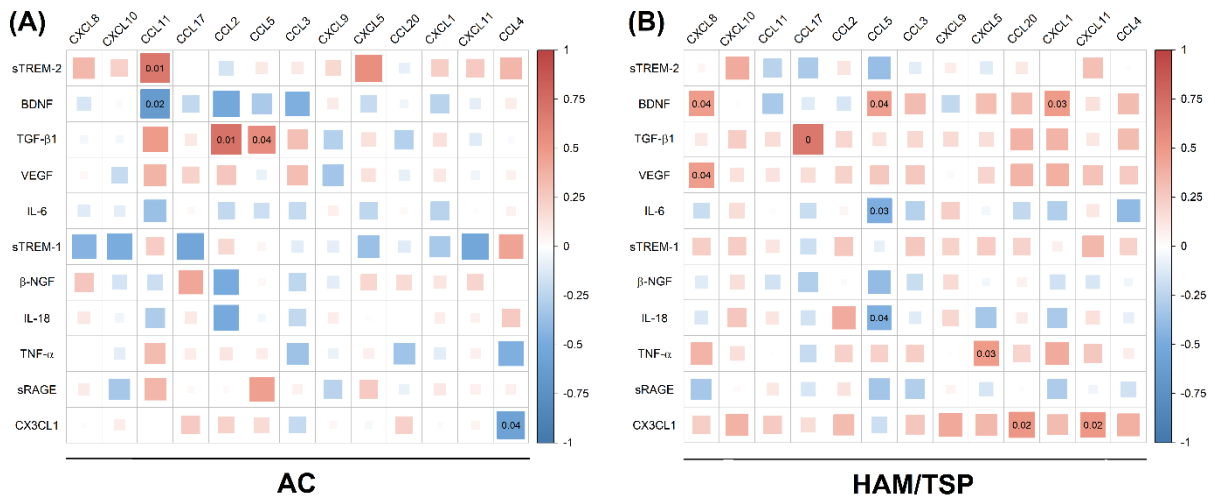
**Figura 18 – Correlação entre níveis séricos de fatores associados a processos neuroinflamatórios, neopterina e CPV de HTLV-1.**



**Legenda:** A análise de correlação dos níveis séricos de sTREM-2, BDNF, TGF-β1, VEGF, IL-6, sTREM-1, β-NGF, IL-18, TNF-α, sRAGE e CX3CL1 (Fractalkina) com a concentração de neopterina e da carga proviral (CPV) de HTLV-1 em sangue periférico de (A) portadores assintomáticos de HTLV-1 (AC) (n=13) e (B) de pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP) (n=20) foi realizada pelo teste de Spearman. Foram selecionados somente os fatores com níveis detectáveis em pelo menos metade da amostra de cada grupo. Coeficientes de correlação são indicados por intensidade de cor, em que correlações positivas estão destacadas em vermelho e correlações negativas em azul. Os tamanhos dos quadrados nas interseções dos fatores correspondem ao *p*-valor, que estão apresentados para as diferenças significativas (*p*<0,05).

Por sua vez, a análise de correlação dos níveis séricos de fatores ligados a processos neuroinflamatórios com os níveis de quimiocinas, previamente descritos nesta população, indicou uma baixa frequência de associações tanto em ACs quanto em pacientes com HAM/TSP (Figura 19). Em ACs, foi observada correlação positiva dos níveis de TGF-β1 com CCL2 e CCL5, e de sTREM-2 e CCL11 (Figura 19A). Por outro lado, foi observada correlação negativa entre BDNF e CCL11, e entre fractalkina/CX3CL1 e CCL4. No grupo de pacientes com HAM/TSP, os níveis de BDNF correlacionaram positivamente com CXCL8, CCL5, e CXCL1, enquanto TGF-β1 correlacionou fortemente com CCL17 (Figura 19B). Também foram observadas correlações positivas entre VEGF e CXCL8, entre TNF-α e CXCL5, e entre as concentrações de fractalkina/CX3CL1 e de CCL20 e CXCL11. Em contraste, os níveis de CCL5 correlacionaram negativamente com IL-6 e IL-18 (Figura 19B).

**Figura 19 – Correlação entre níveis séricos de fatores ligados à neuroinflamação e de quimiocinas.**

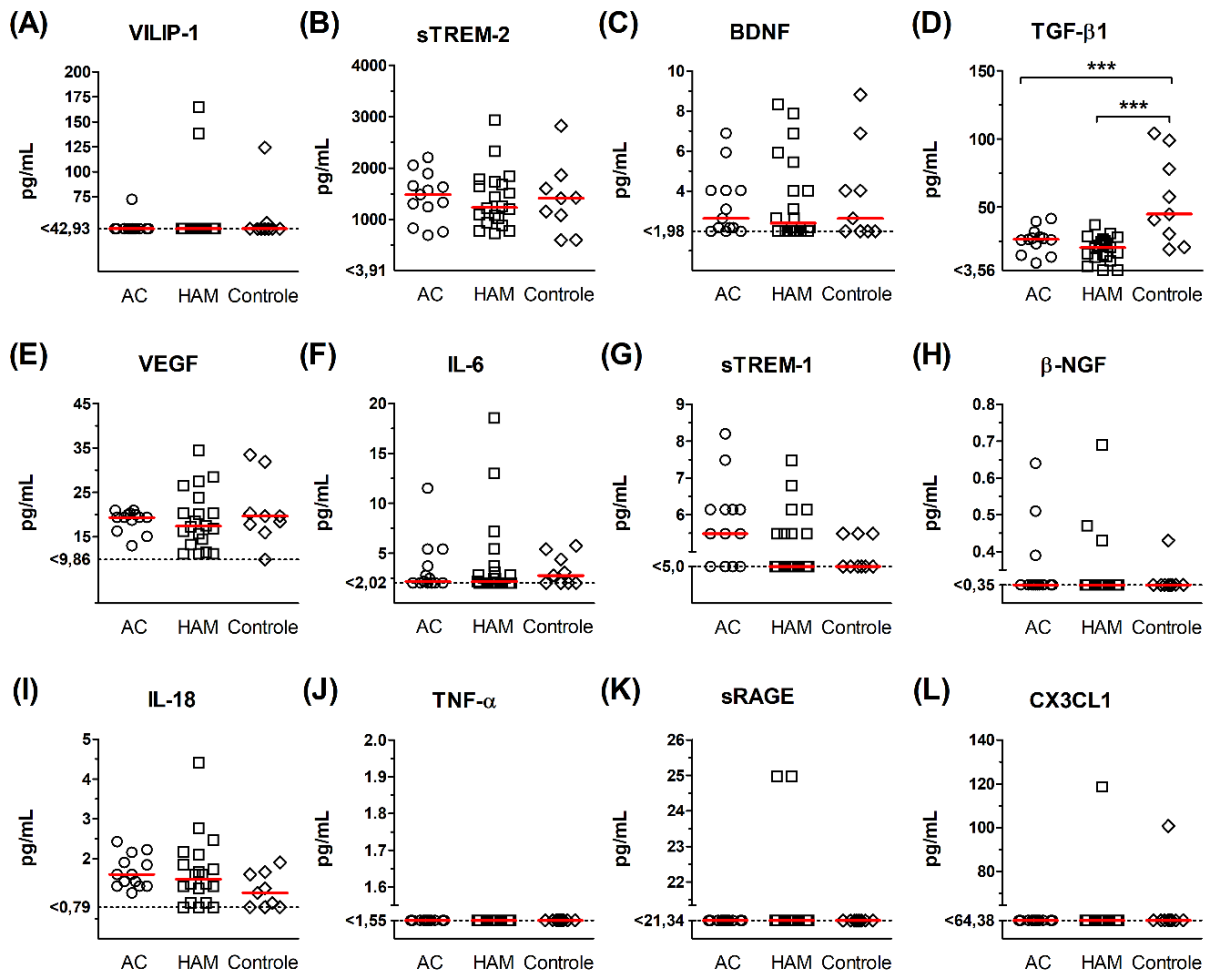


**Legenda:** A análise de correlação dos níveis séricos de sTREM-2, BDNF, TGF- $\beta$ 1, VEGF, IL-6, sTREM-1,  $\beta$ -NGF, IL-18, TNF- $\alpha$ , sRAGE e CX3CL1 (Fractalkina) com as concentrações de quimiocinas (CXCL8, CXCL10, CCL11, CCL17, CCL2, CCL5, CCL3, CXCL9, CXCL5, CCL20, CXCL1, CXCL11 e CCL4) no soro de **(A)** portadores assintomáticos de HTLV-1 (AC) (n=13) e **(B)** de pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP) (n=20) foi realizada pelo teste de Spearman. Foram selecionados somente os fatores e quimiocinas com níveis detectáveis em pelo menos metade da amostra de cada grupo. Coeficientes de correlação são indicados por intensidade de cor, em que correlações positivas estão destacadas em vermelho e correlações negativas em azul. Os tamanhos dos quadrados nas interseções dos fatores correspondem ao *p*-valor, que estão apresentados para as diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

De acordo com a quantificação no LCR de fatores ligados à neuroinflamação, foi observado que os níveis de VILIP-1, sTREM-1, sTREM-2, BDNF, VEGF, IL-6,  $\beta$ -NGF, IL-18, TNF- $\alpha$ , sRAGE e fractalkina/CX3CL1 não apresentaram diferenças entre os três grupos (Figura 20). Contudo, a concentração de TGF- $\beta$ 1 se mostrou reduzida tanto em pacientes com HAM/TSP quanto em ACs na comparação com o grupo controle (Figura 20).

Em amostras de LCR, VILIP-1,  $\beta$ -NGF, TNF- $\alpha$ , sRAGE, e fractalkina/CX3CL1 tiveram níveis detectáveis em menos da metade da população de estudo e, por isso, foram excluídas das análises seguintes. No grupo de ACs, não foi observada associação significativa entre nenhum dos fatores (Figura 21A). Por outro lado, foi observada uma alta frequência de correlações positivas entre os fatores no grupo de pacientes com HAM/TSP, particularmente entre TGF- $\beta$ 1, IL-6, IL-18, VEGF, e BDNF (Figura 21B).

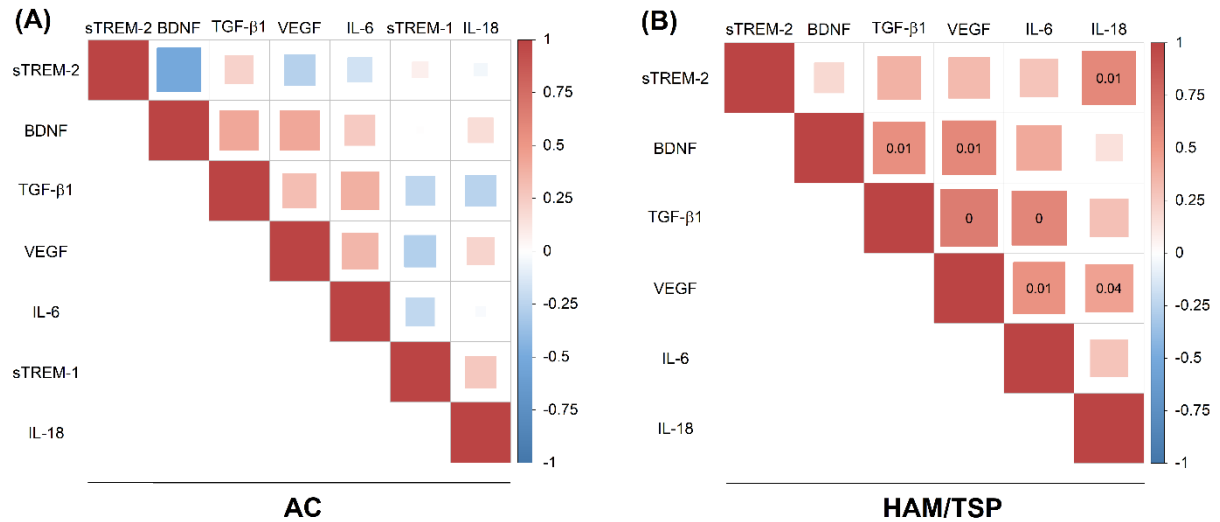
Figura 20 – Níveis de fatores associados a processos neuroinflamatórios no LCR.



**Legenda:** Níveis no LCR de (A) VILIP-1, (B) sTREM-2, (C) BDNF, (D) TGF- $\beta$ 1, (E) VEGF, (F) IL-6, (G) sTREM-1, (H)  $\beta$ -NGF, (I) IL-18, (J) TNF- $\alpha$ , (K) sRAGE, (L) CX3CL1 (Fractalkina) foram determinados por imunoenensaio multiplex baseado em esferas com leitura por citometria de fluxo, em amostras de portadores assintomáticos de HTLV-1 (AC) (n=13), pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM) (n=20), e de grupo controle (Controle) composto de indivíduos não infectados com alteração neurológica não inflamatória e não degenerativa (n=9). Diferenças entre os grupos foram avaliadas pelo teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn com correção para múltiplas comparações. Foram consideradas significativas diferenças com  $p < 0,05$ . \*\*\*,  $p < 0,001$ .

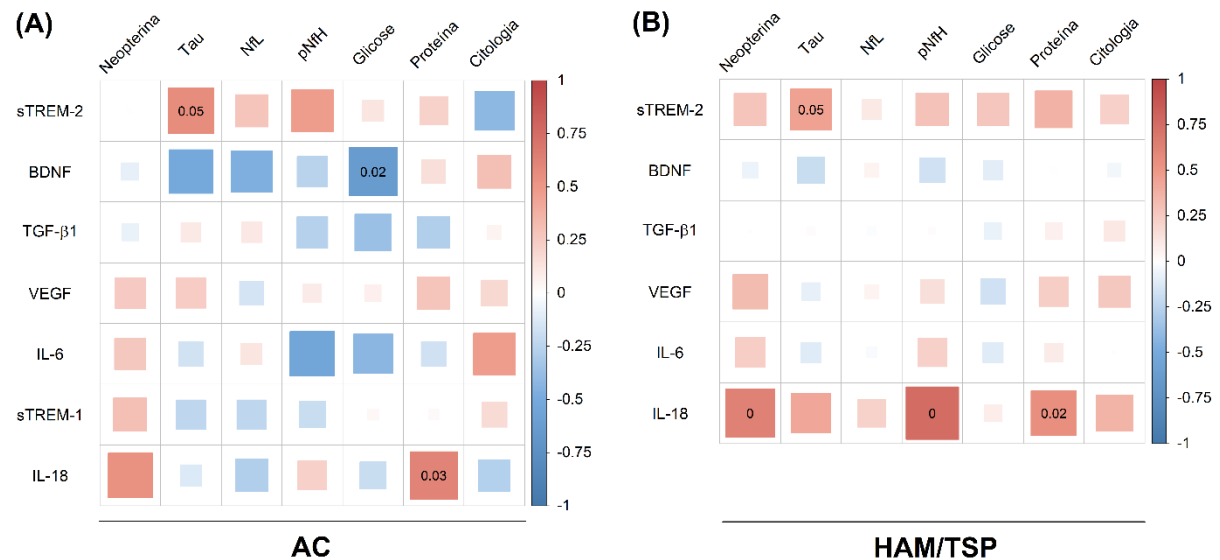
A análise dos fatores no LCR de ACs e de pacientes com HAM/TSP em relação a dados prévios de bioquímica (glicose e proteínas totais) e citologia do LCR, além da concentração de neopterina e de marcadores de morte neuronal (proteínas Tau, NfL e pNfH) mostrou uma correlação positiva entre sTREM-2 e os níveis de proteína Tau, e entre IL-18 e proteínas totais, tanto em ACs quanto em pacientes com HAM/TSP (Figura 22). Por outro lado, os níveis de IL-18 no LCR de pacientes com HAM/TSP correlacionaram positivamente com as concentrações de neopterina, pNfH e de proteínas totais (Figura 22B).

**Figura 21 – Análise de correlação dos níveis de fatores ligados à neuroinflamação no LCR.**



**Legenda:** A análise de correlação entre os níveis de sTREM-2, BDNF, TGF-β1, VEGF, IL-6, sTREM-1 e IL-18 em amostras de LCR de (A) portadores assintomáticos de HTLV-1 (AC) (n=13) e (B) de pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP) (n=20) foi realizada pelo teste de Spearman. Foram selecionados somente os fatores com níveis detectáveis em pelo menos metade da amostra de cada grupo. Coeficientes de correlação são indicados por intensidade de cor, em que correlações positivas estão destacadas em vermelho e correlações negativas em azul. Os tamanhos dos quadrados nas interseções dos fatores correspondem ao  $p$ -valor, que estão apresentados para as diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

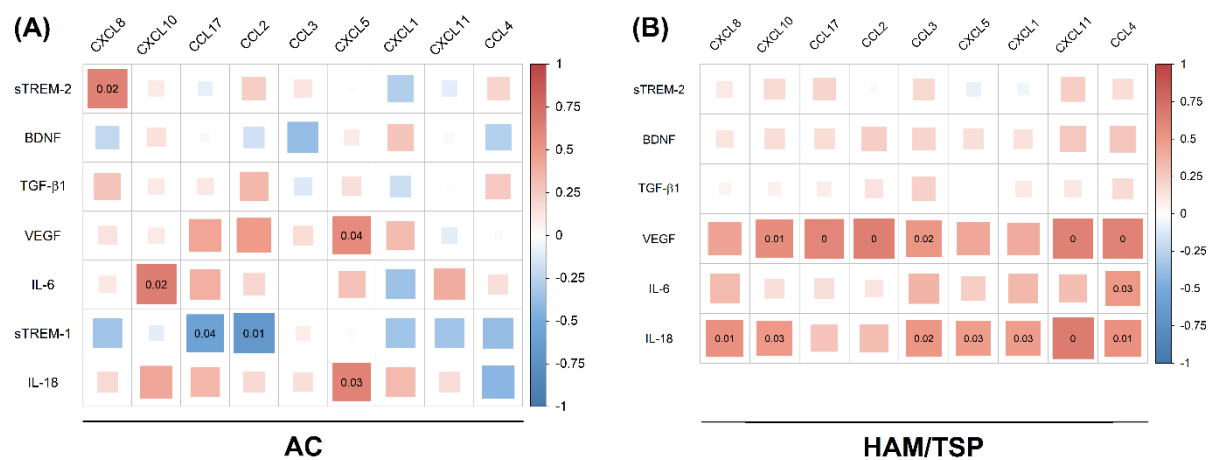
**Figura 22 – Correlação de fatores ligados à neuroinflamação e dados de bioquímica, celularidade, níveis de neoptertina e de marcadores de morte neuronal no LCR.**



**Legenda:** A análise de correlação entre os níveis de sTREM-2, BDNF, TGF-β1, VEGF, IL-6, sTREM-1 e IL-18 com as concentrações de neoptertina, proteína Tau, cadeia leve do neurofilamento (NFL), cadeia pesada fosforilada do neurofilamento (pNFH), glicose, proteínas totais e citologia no LCR de (A) portadores assintomáticos de HTLV-1 (AC) (n=13) e (B) de pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP) (n=20) foi realizada pelo teste de Spearman. Foram selecionados somente os fatores com níveis detectáveis em pelo menos metade da amostra de cada grupo. Coeficientes de correlação são indicados por intensidade de cor, em que correlações positivas estão destacadas em vermelho e correlações negativas em azul. Os tamanhos dos quadrados nas interseções dos fatores correspondem ao  $p$ -valor, que estão apresentados para as diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

A análise de correlação dos níveis de fatores associados a processos neuroinflamatórios em relação aos níveis de quimiocinas indicou uma baixa frequência de associações em ACs (Figura 23A). Por outro lado, em pacientes com HAM/TSP, VEGF e de IL-18 correlacionaram consistentemente com diferentes quimiocinas inflamatórias (Figura 23B). Os níveis de VEGF apresentaram correlação positiva com CXCL10, CXCL11, CCL17, CCL2, CCL3 e CCL4, enquanto os níveis de IL-18 correlacionaram com CXCL10, CXCL11, CXCL1, CXCL5, CXCL8, CCL3 e CCL4 (Figura 23B).

**Figura 23 – Correlação entre níveis de fatores ligados à neuroinflamação e de quimiocinas no LCR.**



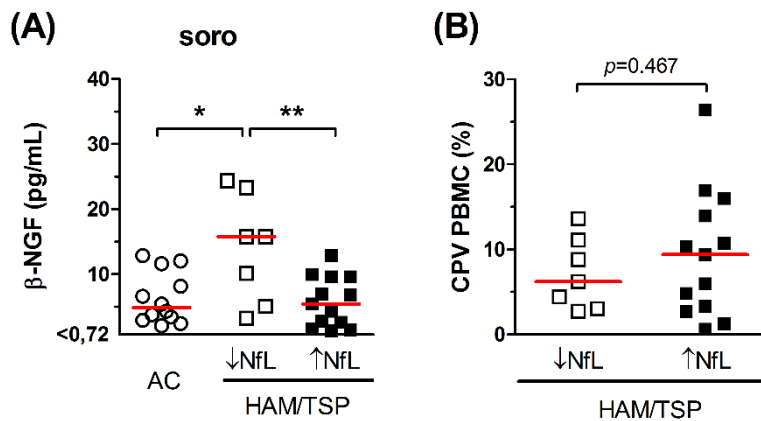
**Legenda:** A análise de correlação entre os níveis de sTREM-2, BDNF, TGF-β1, VEGF, IL-6, sTREM-1, e IL-18, e as concentrações de quimiocinas (CXCL8, CXCL10, CCL17, CCL2, CCL3, CXCL5, CXCL1, CXCL11 e CCL4) no LCR de (A) portadores assintomáticos de HTLV-1 (AC) (n=13) e de (B) pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP) (n=20) foi realizada pelo teste de Spearman. Foram selecionados somente os fatores e quimiocinas com níveis detectáveis em pelo menos metade da amostra de cada grupo. Coeficientes de correlação são indicados por intensidade de cor, em que correlações positivas estão destacadas em vermelho e correlações negativas em azul. Os tamanhos dos quadrados nas interseções dos fatores correspondem ao *p*-valor, que estão apresentados para as diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

Para uma melhor caracterização de mudanças nos níveis no soro e no LCR dos fatores ligados a processos neuroinflamatórios no contexto da HAM/TSP, a população de estudo foi organizada segundo características de neuroinflamação e neurodegeneração decorrentes da progressão desta doença. Dessa forma, ACs e pacientes com HAM/TSP foram divididos de acordo com a presença ou ausência de pleocitose, níveis alterados de NfL, como marcador de morte neuronal, e índices de atividade de neuroinflamação, representados por valores da razão entre os níveis no LCR e no soro de neopterin e de CXCL10.

Assim, foi identificado que pacientes com HAM/TSP e níveis normais de NfL no LCR, conforme valores de referência corrigidos pela idade, apresentaram níveis de β-NGF no soro mais elevados do que pacientes com níveis aumentados de NfL e ACs (ANOVA,  $p=0,004$ ) (Figura 24A). Contudo, não foi observada diferença na CPV de HTLV-1 entre pacientes com

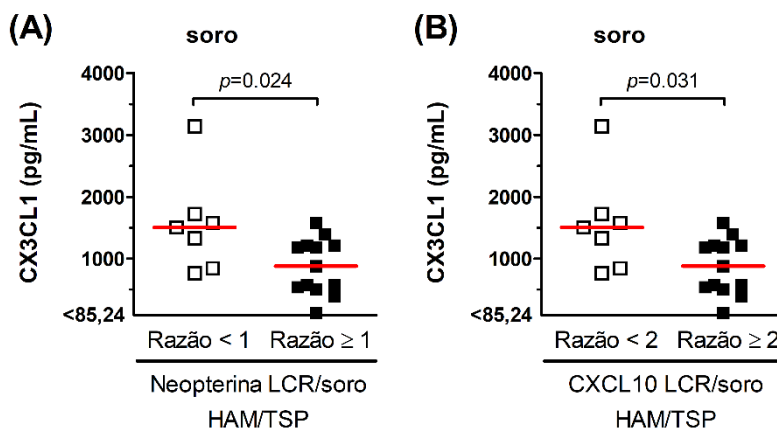
HAM/TSP divididos de acordo com os níveis de NfL (Figura 24B). Em relação aos marcadores de atividade de inflamação, pacientes com HAM/TSP e neuroinflamação ativa, indicada tanto por valores de razão LCR/soro de neopterinina  $\geq 1$  e de CXCL10  $\geq 2$ , apresentaram níveis séricos mais baixos de fractalkina/CX3CL1 (Figura 25).

Figura 24 – Níveis séricos de  $\beta$ -NGF em função de alterações nos níveis de NfL no LCR.



**Legenda:** Os níveis de  $\beta$ -NGF no soro de portadores assintomáticos de HTLV-1 (AC) (n=13) e de pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP) foram avaliados de acordo com níveis normais de cadeia leve do neurofilamento ( $\downarrow$ NfL) (n=7) e níveis elevados ( $\uparrow$ NfL) (n=13). Diferenças entre os grupos foram avaliadas pelo teste de ANOVA com correção de Bonferroni para múltiplas comparações. (B) Os níveis de carga proviral de HTLV-1 (CPV) em células mononucleares de sangue periférico (PBMCs) de pacientes com HAM/TSP divididos em  $\downarrow$ NfL e  $\uparrow$ NfL foram comparados pelo teste *t* de Student. Foram consideradas significativas diferenças com  $p < 0,05$ . \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,010$ .

Figura 25 – Níveis séricos de fractalkina em função da atividade de neuroinflamação.

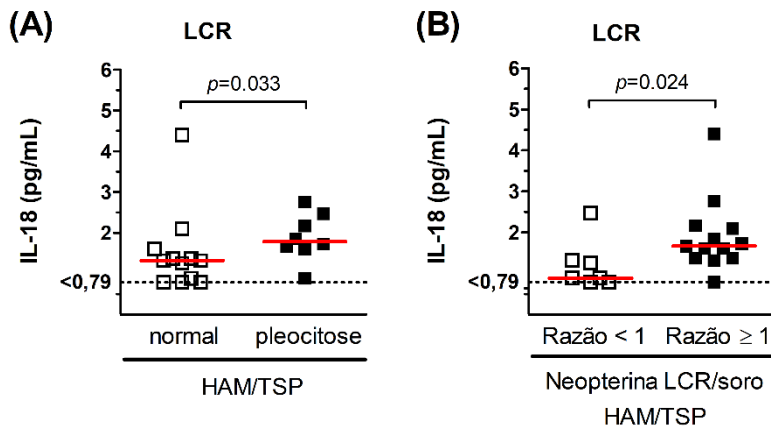


**Legenda:** Os níveis de CX3CL1/fractalkina no soro de pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP) foram avaliados de acordo com a atividade de neuroinflamação, definida por valores da razão entre os níveis no LCR e no soro de (A) neopterinina  $< 1$  (sem neuroinflamação ativa) (n=7) e  $\geq 1$  (com neuroinflamação) (n=13), e de (B) CXCL10  $< 2$  (sem neuroinflamação ativa) (n=7) e  $\geq 2$  (com neuroinflamação) (n=13). Diferenças entre os grupos foram avaliadas pelo teste *t* de Student. Foram consideradas significativas diferenças com  $p < 0,05$ .



De acordo com a análise dos fatores no LCR, foi observado que os níveis de IL-18 foram mais altos em pacientes com HAM/TSP apresentando pleocitose (Mann-Whitney,  $p=0,033$ ) (Figura 26A), assim como naqueles com neuroinflamação ativa, conforme indicado pela razão LCR/soro de neopterina  $\geq 1$  (Mann-Whitney,  $p=0,024$ ) (Figura 26B).

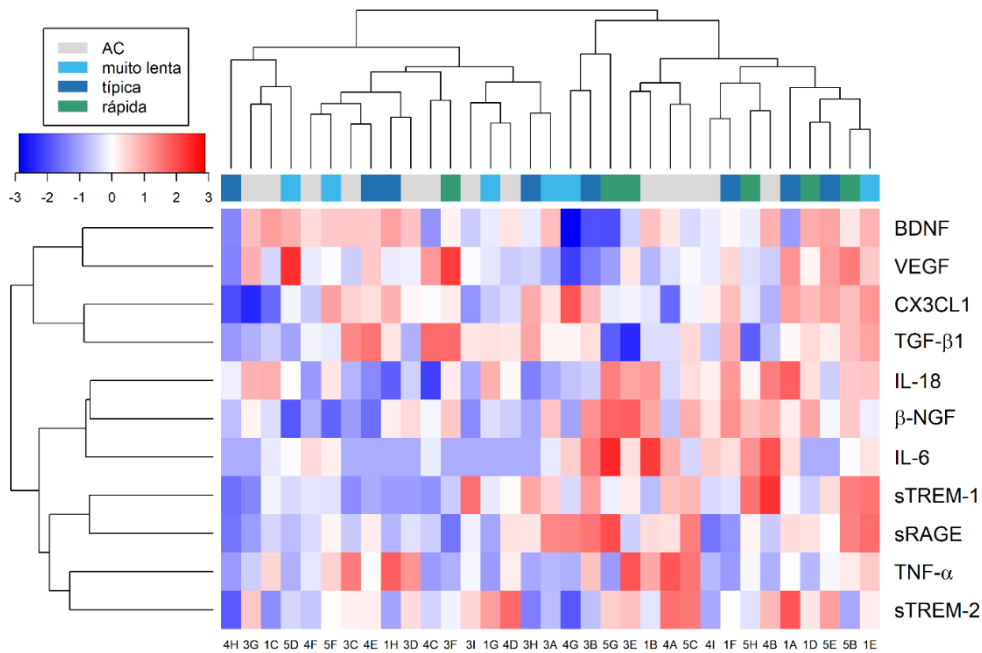
**Figura 26 – Níveis de IL-18 no LCR em função da pleocitose e atividade de inflamação.**



**Legenda:** Os níveis de IL-18 no LCR de pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP) foram avaliados de acordo com (A) contagem normal de células no LCR ( $< 5 \text{ células/mm}^3$ ) ( $n=12$ ) e pleocitose ( $\geq 5 \text{ células/mm}^3$ ) ( $n=8$ ), e (B) pela atividade de neuroinflamação, que foi definida pela razão entre as concentrações no LCR e soro de neopterina  $< 1$  (sem neuroinflamação ativa) ( $n=7$ ) e  $\geq 1$  (com neuroinflamação) ( $n=13$ ). Diferenças entre os grupos foram avaliadas pelo teste de Mann-Whitney. Foram consideradas significativas diferenças com  $p<0,05$ .

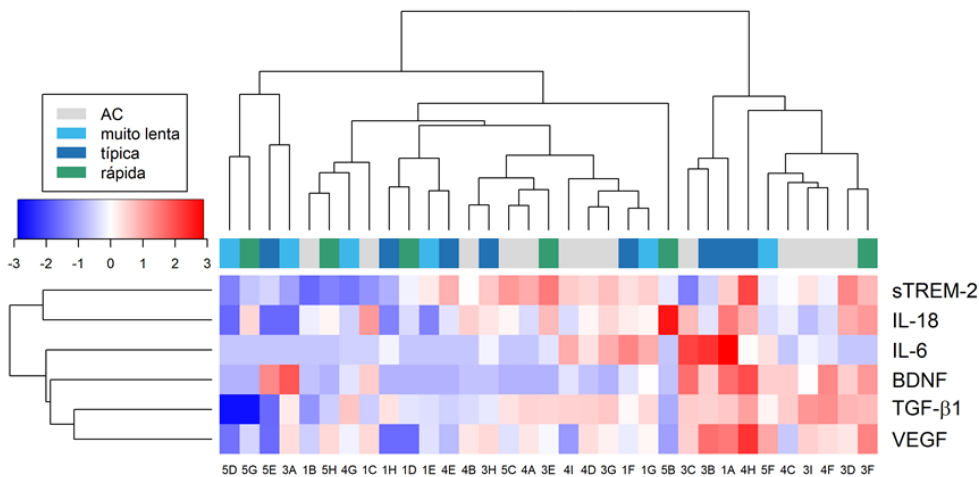
Também foi realizada a análise de *heatmap* dos níveis relativos dos fatores associados a processos neuroinflamatórios em função da presença de HAM/TSP e da velocidade de progressão da doença, caracterizada como muito lenta, típica e rápida, com o intuito de identificar fatores associados ou perfis característicos para cada uma destas condições. Contudo, não foi observado o agrupamento de indivíduos com características semelhantes tanto na análise de resultados do soro (Figura 27) quanto do LCR (Figura 28), sendo revelada uma alta diversidade de perfis.

**Figura 27 – Expressão relativa no soro de fatores ligados a processos neuroinflamatórios.**



**Legenda:** A expressão relativa dos fatores no soro de portadores assintomáticos de HTLV-1 (ACs) (n=13) e de pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1 (n=20) caracterizados de acordo com a velocidade de progressão da doença, como muito lenta, típica e rápida, foi realizada pela análise de *heatmap*. As concentrações dos fatores foram transformadas para  $\log_2$ , e a expressão corrigida para cada fator (linhas), variando de -3 (azul) até 3 (vermelho), e com a mediana indicada por 0 (branco). Dessa forma, tons de azul representam expressão relativa reduzida, enquanto tons de vermelho representam expressão relativa aumentada.

**Figura 28 – Expressão relativa no LCR de fatores ligados a processos neuroinflamatórios.**



**Legenda:** A expressão relativa dos fatores no LCR de portadores assintomáticos de HTLV-1 (ACs) (n=13) e de pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1 (n=20) caracterizados de acordo com a velocidade de progressão da doença, como muito lenta, típica e rápida, foi realizada pela análise de *heatmap*. As concentrações dos fatores foram transformadas para  $\log_2$ , e a expressão corrigida para cada fator (linhas), variando de -3 (azul) até 3 (vermelho), e com a mediana indicada por 0 (branco). Dessa forma, tons de azul representam expressão relativa reduzida, enquanto tons de vermelho representam expressão relativa aumentada.

## 6 DISCUSSÃO

A infecção por HTLV-1 está associada ao desenvolvimento da HAM/TSP após um longo período de infecção assintomática. No entanto, biomarcadores que possam prever o risco de progressão do estado assintomático para sintomático ainda estão sendo definidos. Por isso, foram avaliadas as concentrações de fatores comumente associados à neuroinflamação, sendo eles: VILIP-1, BDNF, TGF- $\beta$ 1, VEGF, IL-6, sTREM-1, sTREM-2,  $\beta$ -NGF, IL-18, TNF- $\alpha$ , sRAGE, e fractalkina em amostras de LCR e de soro de pacientes com HAM/TSP e ACs em comparação com grupo controle de indivíduos não infectados. Além disso, foi realizada a associação dos resultados da expressão desses fatores com a velocidade de progressão da HAM/TSP.

A concentração de TGF- $\beta$ 1 no LCR se mostrou reduzida em indivíduos infectados por HTLV-1, tanto em pacientes com HAM/TSP quanto em ACs, em relação ao grupo controle. TGF- $\beta$ 1 é um importante fator na modulação de lesões cerebrais, pois, quando aumentado tem ação neuroprotetora e quando reduzido tem função degenerativa (BUCKWALTER; WYSS-CORAY, 2004). Por outro lado, o soro de pacientes com HAM/TSP apresentou níveis elevados da quimiocina fractalkina/CX3CL1 em relação a ACs. Ainda no soro, os níveis de BDNF se mostraram elevados em ACs.

A fractalkina é quimioatrativa para células NK, monócitos, e células T e é expressa por células endoteliais, células dendríticas e monócitos do sangue periférico em condições inflamatórias, sendo sua expressão induzida por TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  (JONES; BEAMER; AHMED, 2010). Logo, é possível que os níveis aumentados de fractalkina estejam relacionados com a expressão aumentada de IFN- $\gamma$  em pacientes com HAM/TSP. TATTERMUSCH *et al.* (2012) demonstraram que a população total de monócitos de pacientes com HAM/TSP tem a expressão aumentada de genes estimulados por IFN- $\gamma$ . PBMCs de pacientes com HAM/TSP secretam *in vitro* níveis mais altos de IL-2 e IFN- $\gamma$  do que células de ACs (CARVALHO *et al.*, 2001). Além disso, foi mostrado que pacientes com HAM/TSP apresentam uma maior frequência de células T CD4<sup>+</sup>IFN- $\gamma$ <sup>+</sup>, que correlacionam positivamente com a carga proviral (MITRE *et al.*, 2003; YAMANO *et al.*, 2005). ESPÍNDOLA *et al.* (2015) também mostraram que PBMCs de pacientes com HAM/TSP apresentam níveis aumentados de mRNAs de IFN- $\gamma$  em comparação com ACs e indivíduos saudáveis.

DE CASTRO-AMARANTE *et al.* (2015) mostraram que monócitos clássicos (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>), intermediários (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>) e não clássicos (CD14<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>) se encontram

infectados por HTLV-1. Além disso, mostraram que monócitos não clássicos de pacientes com HAM/TSP expressavam níveis mais altos de CX3CR1, o receptor de CX3CL1/fractalkina, do que em células de indivíduos não infectados. Monócitos expressando altos níveis de CD16 na superfície estão aumentados em idosos, e em várias doenças inflamatórias e infecciosas. Além disso, monócitos CD16<sup>+</sup> tendem a estar aumentados em infecções virais (DE CASTRO-AMARANTE *et al.*, 2015). AMORIM *et al.* (2014) descreveram que a subpopulação de monócitos intermediários (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>) tem frequência aumentada em pacientes com HAM/TSP e essas células são a principal fonte de TNF- $\alpha$ . Sendo assim, a expressão aumentada de fractalkina no soro de pacientes com HAM/TSP poderia estar relacionada com produção de TNF- $\alpha$  por monócitos intermediários. No entanto, em nosso estudo os níveis séricos de TNF- $\alpha$  não apresentaram diferença significativa entre os grupos. Por isso, seriam necessários mais experimentos para avaliar quais células estariam expressando CX3CL1 nestes indivíduos.

POLAKOWSKI *et al.* (2014) mostraram que a proteína HBZ regula a expressão de BDNF em linhagens de células infectadas por HTLV-1 derivadas de pacientes com ATLL. Conforme demonstrado por ESPÍNDOLA *et al.* (2015), mRNAs de HBZ são pouco expressos em PBMCs *ex vivo*, e diferenças significativas na expressão de *hbz* não foram observadas entre ACs e pacientes com HAM/TSP, embora tais níveis tenham se correlacionado positivamente com a carga proviral. Contudo, não foi observada correlação entre BDNF e a CPV de HTLV-1, tanto em ACs quanto em pacientes com HAM/TSP, o que sugere que tais níveis elevados de BDNF no soro não estejam associados somente à expressão de HBZ em células infectadas.

Indivíduos infectados apresentaram níveis reduzidos de TGF- $\beta$ 1 no LCR em relação com grupo controle. A HAM/TSP é uma doença desmielinizante de progressão lenta. No entanto, imagens de ressonância magnética do cérebro tem mostrado lesões na matéria branca, indicando que condições neurodegenerativas também estão presentes em ACs, possivelmente em caráter subclínico (MORGAN *et al.*, 2007). As células Tregs são uma das principais populações celulares produtoras de TGF- $\beta$ , e são identificadas pela expressão intracelular de FoxP3. Contudo, defeitos na expressão de FoxP3 e/ou na função de Tregs podem contribuir para a perda de tolerância imunológica (GRANT *et al.*, 2008). Na infecção por HTLV-1, células T CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> são considerados reservatórios virais no sangue periférico, e células T CD4<sup>+</sup> de pacientes com HAM/TSP se mostram resistentes aos efeitos anti-proliferativos de TGF- $\beta$ , que é uma citocina anti-inflamatória com a capacidade de suprimir a expansão e de modular a diferenciação de células T, o que explicaria a permanente proliferação das células T CD4<sup>+</sup> (GRANT *et al.*, 2008). No SNC, a interação entre astrócitos e micróglia tem um papel importante na homeostase cerebral. Quando ocorre um estímulo inflamatório, as células da

microglia secretam IL-10, que induz os astrócitos a produzirem TGF- $\beta$ 1, que por sua vez atua na microglia controlando sua resposta pró-inflamatória. A doença de Alzheimer é caracterizada pela reatividade das células gliais, microglia e astrócitos que circundam as placas  $\beta$  amiloides, que apresentam aumento na expressão e secreção de fatores pró-inflamatórios, como IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  e óxido nítrico, e uma redução na produção das citocinas anti-inflamatórias, tais como TGF- $\beta$ 1 e IL-10. Embora não tenha sido observado um aumento na expressão de TNF- $\alpha$  ou de IL-6 no LCR de indivíduos infectados, níveis reduzidos de TGF- $\beta$ 1 nestes indivíduos podem indicar uma constante estimulação inflamatória no SNC (CARACI *et al.*, 2018; DINIZ *et al.*, 2019), provavelmente induzida por células infectadas, que estão presentes tanto no LCR de ACs quanto de pacientes com HAM/TSP (SOUZA, 2020).

No soro de pacientes com HAM/TSP foi observada uma correlação positiva de BDNF com VEGF e IL-6, e uma correlação de IL-18 com IL-6,  $\beta$ -NGF e sTREM-2. Contudo, tais correlações entre fatores observadas em pacientes com HAM/TSP não estiveram presentes na população de ACs, com exceção da associação entre os níveis de IL-18 e  $\beta$ -NGF. Resultados de modelos animais têm demonstrado que BDNF e VEGF atuam na mediação de alterações estruturais e funcionais no hipocampo induzidas por exercícios físicos. A redução desses fatores na velhice tem sido relacionada à atrofia do hipocampo, diminuição da vascularização e declínio cognitivo. BDNF é um membro da família das neurotrofinas, que são fatores que atuam na sobrevivência, crescimento e plasticidade sináptica de neurônios, e está altamente concentrado no hipocampo e córtex. Por sua vez, VEGF é uma proteína que pode ser induzida em condições de hipóxia, que promove a formação e o crescimento de vasos sanguíneos, e que também tem sido associada a melhora da cognição. BDNF e VEGF são capazes de passar a barreira hematoencefálica e, assim, podem mediar a neurogênese e a angiogênese (LU *et al.*, 2019; MAASS *et al.*, 2016; VOSS *et al.*, 2013). No SNC, tem sido proposta uma correlação entre a angiogênese e a neurogênese. A ligação entre os sistemas nervoso e vascular é responsável pela formação de um microambiente para as células progenitoras neuronais se autorrenovarem, proliferarem e se diferenciarem. Em pacientes após acidente vascular cerebral e lesão cerebral traumática, o aumento da angiogênese e da neurogênese estão associados ao processo de recuperação (LU *et al.*, 2019). No estudo de BAZARBACHI *et al.* (2004), foi visto que o soro de pacientes com ATLL ou HAM/TSP apresentam níveis elevados de VEGF e b-FGF, suficientes para induzir a angiogênese na comparação com controles saudáveis soronegativos para HTLV-1. No entanto, não observamos esta diferença em nossa população de estudo. Células transformadas por HTLV-1 também secretam VEGF e b-FGF, que induzem a angiogênese *in vitro*, através de transativação transcricional mediada pela proteína Tax de

HTLV-1. Dessa forma, é possível que a permeabilidade alterada dos vasos e células endoteliais ativadas estejam envolvidas na patogênese da HAM/TSP em um mecanismo semelhante à angiogênese, que, desencadeado por células infectadas, pode ser responsável pela passagem destas células através da barreira hematoencefálica para o SNC (SAITO *et al.*, 2004). Os níveis de VEGF no LCR de pacientes com HAM/TSP correlacionaram de modo consistente com as concentrações de diferentes quimiocinas inflamatórias, dentre elas CXCL10, CXCL11, CCL17, CCL2, CCL3, e CCL4, que são estão relacionadas à migração e quimioatração de células Th1 e monócitos, o que reforça um possível deste fator na alteração de permeabilidade da barreira hematoencefálica e passagem de células infectadas para o SNC.

Neste estudo, os níveis de sTREM-2 no LCR correlacionaram positivamente com os níveis de proteína Tau em pacientes com HAM/TSP e em ACs, embora não sido evidenciados níveis elevados conforme valores de referência por faixas de idade (SOUZA, 2020). Em momentos iniciais da doença de Alzheimer, o aumento do sTREM-2 no LCR se correlaciona com marcadores de degeneração neuronal, como a proteína Tau, e provavelmente reflete a ativação microglial em resposta à degeneração neuronal. Na esclerose múltipla, a correlação entre sTREM-2 e NfL no LCR também sugere que a ativação de macrófagos/micróglia pode estar relacionada a respostas reparadoras à lesão neuroaxonal imunomediada. Também tem sido sugerido que sTREM-2 na esclerose múltipla inibe a função anti-inflamatória de TREM-2 ligado à membrana das células (IOANNIDES *et al.*, 2021).

Em pacientes com HAM/TSP, os níveis de sTREM-2 correlacionaram positivamente com IL-18 tanto no LCR quanto no soro. Além disso, IL-18 correlacionou positivamente com os níveis de neopterin, pNfH e de proteínas totais, indicando uma associação entre os níveis de IL-18 e de marcadores de inflamação, neurodegeneração e de alterações de permeabilidade da barreira hematoencefálica. A IL-18 é uma citocina inflamatória capaz de induzir a produção de IFN- $\gamma$  em células Th1. Por outro lado, em células T não polarizadas, células NK, células NKT, células B, células dendríticas e macrófagos, a produção de IFN- $\gamma$  é induzida pela sinalização por IL-18 na presença de IL-12. Na ausência de IL-12, mas em conjunto com IL-2, a IL-18 estimula a produção de citocinas Th2 por células T CD4<sup>+</sup>, células NK, e células NKT. Além disso, a IL-18 associada à IL-3 induz mastócitos e basófilos a produzirem IL-4 e IL-13. Portanto, a IL-18 estimula diferentes tipos celulares envolvidos em processos da imunidade inata e adquirida (NAKANISHI, 2018; NAKANISHI *et al.*, 2001). sTREM-2 representa a forma solúvel resultante da clivagem TREM-2, que é um receptor associado à proteína adaptadora DAP12 e que suprime efeitos induzidos pela ativação de receptores Toll-like por LPS. TREM-2 é expresso em células mieloides, incluindo micróglia, macrófagos, células

dendríticas derivadas de monócitos, e osteoclastos, e no SNC é expresso especialmente na micróglia (BOUCHON; DIETRICH; COLONNA, 2000). Portanto, sTREM-2 apresenta um potencial pró-inflamatório e níveis elevados estão presentes no LCR de pacientes com esclerose múltipla (PICCIO *et al.*, 2008). Contudo, não foi observada elevação nos seus níveis em pacientes com HAM/TSP, provavelmente pelo caráter lento da progressão dessa doença.

Diferentemente de achados no soro, os níveis de IL-18 no LCR de pacientes com HAM/TSP correlacionaram com as concentrações de diferentes quimiocinas pró-inflamatórias, dentre elas, CXCL10, CXCL11, CXCL1, CXCL5, CXCL8, CCL3 e CCL4, o que não foi observado em ACs. As quimiocinas CXCL10 e CXCL11 possuem em comum o receptor CXCR3 e são induzidas em resposta ao IFN- $\gamma$ , que, por sua vez, pode ser induzido por IL-18. Em processos inflamatórios, essas quimiocinas apresentam um papel importante no recrutamento de células expressando o receptor CXCR3 para o SNC, incluindo células T CD4<sup>+</sup> infectadas por HTLV-1 e produtoras de IFN- $\gamma$ , estimulando assim a produção de CXCL10 por astrócitos, que são os principais produtores dessa quimiocina no SNC. Com isso, é constituída uma alça de regulação positiva, que resulta em um processo inflamatório crônico do SNC que caracteriza a HAM/TSP (ARAYA *et al.*, 2014).

CXCL8 tem como receptores CXCR1 e CXCR2, que são expressos em células NK, células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, neutrófilos, e monócitos, sendo quimiotática para essas células, e está associada à ruptura da barreira hematoencefálica, o que pode estar relacionado com o início da HAM/TSP (MÜLLER *et al.*, 2010; PALOMINO; MARTI, 2015). Já CXCL1 e CXCL5 tem em comum o receptor CXCR2, que é expresso em neutrófilos. Por outro lado, CCL3 e CCL4 se ligam ao receptor CCR5, enquanto CCL3 também é capaz de se ligar a CCR1, que são expressos por células Th1, monócitos, e células T CD8<sup>+</sup>. A IL-18 também é capaz de induzir a produção dessas quimiocinas dependendo do ambiente. No entanto, essas quimiocinas talvez não sejam fisiologicamente relevantes para a atração dessas células imunes para o sitio de inflamação no SNC na HAM/TSP, pois são expressas em níveis menores que no soro (SOUZA, 2020).

A IL-18 está presente em células mieloides sob a forma de pró-IL-18, sendo classificada como um membro da família IL-1, pois é semelhante à IL-1 $\beta$  tanto estruturalmente quanto em termos de processamento (AREND; PALMER; GABAY, 2008; NOLAN; GREAVES; WALDMANN, 1998). A pró-IL-18 representa um precursor inativo de IL-18 que é armazenado no citoplasma, sendo clivado e processado pela caspase-1 na forma biologicamente ativa. Depois de processada, a IL-18 é secretada ou expressa de forma ligada à membrana. A produção de pró-IL-18 foi observada em diferentes tipos celulares, incluindo astrócitos e micróglia no SNC, que expressam IL-18 e caspase-1 constitutivamente, proporcionando assim uma resposta

imune local dependente de IL-18. A IL-18 tem sido apontada como um mediador central de processos de neuroinflamação e neurodegeneração, incluindo infecções bacterianas e virais, doenças desmielinizantes e lesões cerebrais isquêmicas e traumáticas (FELDERHOFF-MUESER *et al.*, 2005). BIDKHORI *et al.* (2020) observaram que a expressão gênica e os níveis plasmáticos de IL-18 se mostraram reduzidos em indivíduos infectados por HTLV-1 em relação a indivíduos saudáveis, porém, sem diferença significativa entre ACs e pacientes com HAM/TSP. Em nossa população de estudo, não foram observadas diferenças nos níveis de IL-18 no soro e LCR de ACs, pacientes com HAM/TSP e controles. Porém, pacientes com HAM/TSP apresentando pleocitose ou com neuroinflamação ativa, indicada pela elevação de neopterin no LCR em relação ao soro, tiveram níveis mais altos de IL-18 no LCR, sugerindo uma possível ativação e participação de respostas associadas ao inflamassoma.

Os inflamassomas são complexos multiproteicos presentes no citoplasma e, após sua montagem, ativam caspases pró-inflamatórias, que são responsáveis pela maturação e secreção das citocinas IL-1 $\beta$  e IL-18. No SNC, a sinalização do inflamassoma é feita principalmente pela micróglia. A expressão de componentes do inflamassoma também foi relatada em outros tipos de células do SNC, incluindo neurônios, astrócitos, macrófagos perivasculares do SNC, oligodendrócitos e células endoteliais (VOET *et al.*, 2019). Na esclerose múltipla, que é a doença inflamatória crônica mais comum do SNC, se observa o comprometimento da barreira hematoencefálica e a infiltração de células imunes da periferia, com ativação da micróglia local e de astrócitos, que promovem inflamação, desmielinização e neurodegeneração. Também na esclerose múltipla, a resposta imune periférica é constituída por linfócitos e macrófagos que entram no SNC durante o desenvolvimento da doença. Se observa que a caspase-1, IL-18 e IL-1 $\beta$  são regulados positivamente em PBMCs e no LCR desses pacientes, assim como os níveis de DAMPs ativadores de inflamassoma NLRP3, tais como ATP e ácido úrico. Além disso, a expressão da caspase-1 é elevada em lesões desmielinizantes agudas e crônicas na esclerose múltipla (BAECHER-ALLAN; KASKOW; WEINER, 2018; VOET *et al.*, 2018).

A análise dos níveis de  $\beta$ -NGF no LCR de ACs, pacientes com HAM/TSP e de controles não evidenciou diferenças entre os grupos, como também observado por ALBRECHT *et al.* (2006). Contudo a análise dos níveis de  $\beta$ -NGF no soro de pacientes com HAM/TSP mostrou que indivíduos com níveis normais de NfL no LCR, o que indica uma intensidade de morte neuronal não diferente da associada ao envelhecimento, apresentam níveis mais altos de  $\beta$ -NGF. Embora o  $\beta$ -NGF seja capaz de induzir a neurogênese e de aumentar a sobrevivência e a plasticidade de neurônios, está neurotrofina não atravessa a barreira hematoencefálica



(FRIDEN *et al.*, 1993). Em doenças inflamatórias e autoimunes se observa um aumento localizado de NGF em sítios de inflamação. Níveis aumentados de NGF estão presentes no LCR de pacientes com esclerose múltipla aguda (LAUDIERO *et al.*, 1992), no fluido sinovial de indivíduos com artrite reumatoide (ALOE *et al.*, 1992; FALCINI *et al.*, 1996), e no soro de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (AALTO *et al.*, 2002; BRACCI-LAUDIERO *et al.*, 1993). Dessa forma, é possível que níveis mais altos de  $\beta$ -NGF no soro de pacientes com HAM/TSP e menores níveis de morte neuronal estejam relacionados a um melhor controle de eventos da inflamação associada à geração de lesão neurológica, independentemente do controle da carga proviral, que não diferiu da observada em pacientes com níveis NfL elevada.

Da mesma forma, indivíduos com HAM/TSP e baixa atividade de neuroinflamação, indicada por valores da razão LCR/soro de neopterinina e de CXCL10, apresentaram níveis mais altos de fractalkina no soro em relação com pacientes com neuroinflamação ativa. No sangue periférico a fractalkina é expressa por monócitos em condições inflamatórias. Os monócitos não clássicos atuam no monitoramento da barreira sangue/endotélio, e devido a baixa expressão de CCR2, possuem uma capacidade limitada de migração transendotelial, e exercem por isso funções anti-inflamatórias (WEBER *et al.*, 2000, 2001; WONG *et al.*, 2011; ZIEGLER-HEITBROCK *et al.*, 2010). Monócitos não clássicos CD16<sup>+</sup> expressam principalmente CX3CR1 e, por isso, migram em resposta à fractalkina (ANCUTA; WEISS; HAEFFNER-CAVAILLON, 2000).

DE CASTRO-AMARANTE *et al.* (2015) mostraram que a frequência de monócitos não clássicos é aumentada em indivíduos infectados por HTLV-1 e, que esta população apresenta expressão aumentada dos receptores de quimiocinas CCR1, CXCR3 e CX3CR1. Dessa forma, foi proposto um modelo no qual a inflamação na infecção por HTLV-1 resulta da regulação da expressão de receptores de quimiocinas em monócitos. Respostas inflamatórias favorecem a migração de monócitos clássicos, que respondem principalmente a CCL2, que é a população de monócitos mais abundante no sangue, e que desempenha funções inflamatórias. Por outro lado, os dados sobre os níveis aumentados de fractalkina em pacientes com HAM/TSP e baixa atividade de doença corroboram com os achados de frequência aumentada de monócitos não clássicos, que desempenham funções anti-inflamatórias.

As concentrações de neopterinina e CXCL10 no LCR têm sido mostradas como potenciais biomarcadores da velocidade de progressão da HAM/TSP, conforme demonstrado por SATO *et al.*, (2013). Recentemente, SOUZA (2020) demonstrou que a quantificação de neopterinina e de CXCL10 no LCR de indivíduos infectados reflete melhor a atividade de doença, o que em função do tempo está diretamente relacionado à velocidade de progressão. Além disso, a

definição de índices pelo cálculo da razão das concentrações destes fatores no LCR e no soro permitiria eliminar variações implícitas à utilização de diferentes métodos para a quantificação destes biomarcadores. No entanto, nenhum dos fatores avaliados se mostrou associado à carga proviral de HTLV-1 ou à velocidade de progressão da HAM/TSP, o que limita a sua utilização como biomarcador desta doença neurológica.

## 7 CONCLUSÕES

Dessa forma, podemos concluir que:

- Os níveis de VILIP-1, sTREM-1, sTREM-2, VEGF, IL-6,  $\beta$ -NGF, IL-18, TNF- $\alpha$ , sRAGE não apresentaram diferenças no LCR e no soro de ACs e de pacientes com HAM/TSP.
- BDNF se mostrou aumentado no soro de ACs e com uma tendência de elevação em pacientes com HAM/TSP. Contudo, a falta de correlação com a CPV de HTLV-1 sugere que processos além da expressão de genes virais estejam associados aos níveis elevados de BDNF.
- A fractalkina/CX3CL1 está aumentada no soro de pacientes com HAM/TSP, possivelmente em resposta à uma maior expressão de IFN- $\gamma$  em PBMCs e de maior frequência de monócitos não clássicos nestes indivíduos.
- A concentração de TGF- $\beta$ 1 reduzida no LCR de ACs e de pacientes com HAM/TSP está provavelmente associada aos processos neurodegenerativos na infecção por HTLV-1.
- Os níveis de fatores neuroinflamatórios avaliados (VILIP-1, TGF- $\beta$ 1, VEGF, IL-6, sTREM-1, sTREM-2, IL-18, TNF- $\alpha$ , sRAGE, e fractalkina) e das neurotrofinas BDNF e  $\beta$ -NGF, no LCR e no soro, não se mostraram associados à velocidade de progressão da HAM/TSP.
- Níveis de  $\beta$ -NGF no soro de pacientes com HAM/TSP foram mais elevados em indivíduos com níveis normais de NfL no LCR, independentemente do controle da infecção na periferia, mostrado por níveis semelhantes de carga proviral com o grupo apresentando NfL alterada.
- Níveis reduzidos de fractalkina no soro de pacientes com HAM/TSP e neuroinflamação ativa, indicada por índices de razão LCR/soro de neopterina  $\geq 1$  e de CXCL10  $\geq 2$ , sugerem que processos envolvendo a função dessa quimiocina na periferia influenciam a atividade inflamatória no SNC.
- Os níveis de IL-18 no LCR foram mais altos em pacientes com HAM/TSP apresentando sinais de neuroinflamação ativa, e correlacionaram positivamente com marcadores de

inflamação, morte neuronal, e de permeabilidade da barreira hematoencefálica, sugerindo o envolvimento de mecanismos mediados por inflamassomas na patogênese da HAM/TSP.

## REFERÊNCIAS

- AALTO, K. et al. Nerve growth factor in serum of children with systemic lupus erythematosus is correlated with disease activity. **Cytokine**, v. 20, n. 3, p. 136–139, 7 nov. 2002.
- ADAMIS, A. P.; SHIMA, D. T. The role of vascular endothelial growth factor in ocular health and disease. **Retina (Philadelphia, Pa.)**, v. 25, n. 2, p. 111–118, mar. 2005.
- AGGARWAL, B. B. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. **Nature Reviews. Immunology**, v. 3, n. 9, p. 745–756, set. 2003.
- AIROLDI, I. et al. Heterogeneous expression of interleukin-18 and its receptor in B-cell lymphoproliferative disorders deriving from naive, germinal center, and memory B lymphocytes. **Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research**, v. 10, n. 1 Pt 1, p. 144–154, 1 jan. 2004.
- AKIRA, S.; KISHIMOTO, T. IL-6 and NF-IL6 in acute-phase response and viral infection. **Immunological Reviews**, v. 127, p. 25–50, jun. 1992.
- AKIRA, S.; TAGA, T.; KISHIMOTO, T. Interleukin-6 in biology and medicine. **Advances in Immunology**, v. 54, p. 1–78, 1993.
- ALBRECHT, D. et al. Trophic factors in cerebrospinal fluid and spinal cord of patients with tropical spastic paraparesis, HIV, and Creutzfeldt-Jakob disease. **AIDS research and human retroviruses**, v. 22, n. 3, p. 248–254, mar. 2006.
- ALEFANTIS, T. et al. Secretion of the human T cell leukemia virus type I transactivator protein tax. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 17, p. 17353–17362, 29 abr. 2005.
- ALOE, L. et al. Nerve growth factor in the synovial fluid of patients with chronic arthritis. **Arthritis and Rheumatism**, v. 35, n. 3, p. 351–355, mar. 1992.
- ALOE, L. et al. The synovium of transgenic arthritic mice expressing human tumor necrosis factor contains a high level of nerve growth factor. **Growth Factors (Chur, Switzerland)**, v. 9, n. 2, p. 149–155, 1993.
- ALTSTIEL, L. D.; SPERBER, K. Cytokines in Alzheimer's disease. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 15, n. 4, p. 481–495, 1991.
- AMBROSINO, C. et al. HIV-1 Tat induces the expression of the interleukin-6 (IL6) gene by binding to the IL6 leader RNA and by interacting with CAAT enhancer-binding protein beta (NF-IL6) transcription factors. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 23, p. 14883–14892, 6 jun. 1997.
- AMORIM, C. F. et al. Functional activity of monocytes and macrophages in HTLV-1 infected subjects. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 12, p. e3399, dez. 2014.
- ANCUTA, P.; WEISS, L.; HAEFFNER-CAVAILLON, N. CD14+CD16++ cells derived in vitro from peripheral blood monocytes exhibit phenotypic and functional dendritic cell-like characteristics. **European Journal of Immunology**, v. 30, n. 7, p. 1872–1883, jul. 2000.

- ANDERSSON, A. et al. Pivotal advance: HMGB1 expression in active lesions of human and experimental multiple sclerosis. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 84, n. 5, p. 1248–1255, nov. 2008.
- ARAUJO, A. Q. C.; SILVA, M. T. T. The HTLV-1 neurological complex. **The Lancet. Neurology**, v. 5, n. 12, p. 1068–1076, dez. 2006.
- ARAYA, N. et al. HTLV-1 induces a Th1-like state in CD4+CCR4+ T cells. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 124, n. 8, p. 3431–3442, ago. 2014.
- AREND, W. P.; PALMER, G.; GABAY, C. IL-1, IL-18, and IL-33 families of cytokines. **Immunological Reviews**, v. 223, p. 20–38, jun. 2008.
- ARNULF, B. et al. Human T-cell lymphotropic virus oncoprotein Tax represses TGF-beta 1 signaling in human T cells via c-Jun activation: a potential mechanism of HTLV-I leukemogenesis. **Blood**, v. 100, n. 12, p. 4129–4138, 1 dez. 2002.
- ASQUITH, B. et al. Is human T-cell lymphotropic virus type I really silent? **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences**, v. 355, n. 1400, p. 1013–1019, 29 ago. 2000.
- AUTRY, A. E.; MONTEGGIA, L. M. Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. **Pharmacological Reviews**, v. 64, n. 2, p. 238–258, abr. 2012.
- AZODI, S. et al. Imaging spinal cord atrophy in progressive myelopathies: HTLV-I-associated neurological disease (HAM/TSP) and multiple sclerosis (MS). **Annals of Neurology**, v. 82, n. 5, p. 719–728, nov. 2017.
- BAECHER-ALLAN, C.; KASKOW, B. J.; WEINER, H. L. Multiple Sclerosis: Mechanisms and Immunotherapy. **Neuron**, v. 97, n. 4, p. 742–768, 21 fev. 2018.
- BAJETTO, A. et al. Characterization of chemokines and their receptors in the central nervous system: physiopathological implications. **Journal of Neurochemistry**, v. 82, n. 6, p. 1311–1329, set. 2002.
- BALLARD, D. W. et al. HTLV-I tax induces cellular proteins that activate the kappa B element in the IL-2 receptor alpha gene. **Science (New York, N.Y.)**, v. 241, n. 4873, p. 1652–1655, 23 set. 1988.
- BANGHAM, C. R. M. et al. HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **Nature Reviews. Disease Primers**, v. 1, p. 15012, 18 2015.
- BARKSBY, H. E. et al. The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 149, n. 2, p. 217–225, ago. 2007.
- BAUER, J. et al. Interleukin-6 and alpha-2-macroglobulin indicate an acute-phase state in Alzheimer's disease cortices. **FEBS letters**, v. 285, n. 1, p. 111–114, 8 jul. 1991.
- BAZARBACHI, A. et al. Human T-cell lymphotropic virus type I-infected cells extravasate through the endothelial barrier by a local angiogenesis-like mechanism. **Cancer Research**, v. 64, n. 6, p. 2039–2046, 15 mar. 2004.

BAZZONI, F.; BEUTLER, B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. **The New England Journal of Medicine**, v. 334, n. 26, p. 1717–1725, 27 jun. 1996.

BERNSTEIN, H. G. et al. Regional and cellular distribution of neural visinin-like protein immunoreactivities (VILIP-1 and VILIP-3) in human brain. **Journal of Neurocytology**, v. 28, n. 8, p. 655–662, ago. 1999.

BIDKHORI, H. R. et al. The IL-18, IL-12, and IFN- $\gamma$  expression in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) patients, HTLV-1 carriers, and healthy subjects. **Journal of Neurovirology**, v. 26, n. 3, p. 338–346, 2020.

BIERHAUS, A.; NAWROTH, P. P. Multiple levels of regulation determine the role of the receptor for AGE (RAGE) as common soil in inflammation, immune responses and diabetes mellitus and its complications. **Diabetologia**, v. 52, n. 11, p. 2251–2263, nov. 2009.

BIERHAUS, A.; STERN, D. M.; NAWROTH, P. P. RAGE in inflammation: a new therapeutic target? **Current Opinion in Investigational Drugs (London, England: 2000)**, v. 7, n. 11, p. 985–991, nov. 2006.

BORASCHI, D.; DINARELLO, C. A. IL-18 in autoimmunity: review. **European Cytokine Network**, v. 17, n. 4, p. 224–252, dez. 2006.

BOUCHON, A.; DIETRICH, J.; COLONNA, M. Cutting edge: inflammatory responses can be triggered by TREM-1, a novel receptor expressed on neutrophils and monocytes. **Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 164, n. 10, p. 4991–4995, 15 maio 2000.

BRACCI-LAUDIERO, L. et al. Increased levels of NGF in sera of systemic lupus erythematosus patients. **Neuroreport**, v. 4, n. 5, p. 563–565, maio 1993.

BRACCI-LAUDIERO, L. et al. Modification of lymphoid and brain nerve growth factor levels in systemic lupus erythematosus mice. **Neuroscience Letters**, v. 204, n. 1–2, p. 13–16, 2 fev. 1996.

BRADLEY, J. R. TNF-mediated inflammatory disease. **The Journal of Pathology**, v. 214, n. 2, p. 149–160, jan. 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. – Portaria nº 1376 de 19 de novembro de 1993. Aprova alterações na Portaria n. 721/GM, de 09.08.89, que aprova Normas Técnicas para coleta, processamento e transfusão de sangue, componentes e derivados, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Seção 1, Brasília, DF, dez, 1993.

BRASIL. Ministério da Saúde. RDC No . 220, de 27 de Dezembro de 2006. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o Funcionamento de Bancos de Tecidos Musculoesqueléticos e de Bancos de Pele de origem humana, **ANVISA**, Secretaria de Estado de Saúde, dez, 2006.

BRAUNEWELL, K. H. The visinin-like proteins VILIP-1 and VILIP-3 in Alzheimer’s disease-old wine in new bottles. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 5, p. 20, 19 jan. 2012.

BREEN, E. C. VEGF in biological control. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 102, n. 6, p. 1358–1367, 15 dez. 2007.

- BUCCIARELLI, L. G. et al. RAGE is a multiligand receptor of the immunoglobulin superfamily: implications for homeostasis and chronic disease. **Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)**, v. 59, n. 7, p. 1117–1128, 1 jul. 2002.
- BUCKWALTER, M. S.; WYSS-CORAY, T. Modelling neuroinflammatory phenotypes in vivo. **Journal of Neuroinflammation**, v. 1, n. 1, p. 10, 1 jul. 2004.
- BUDNI, J. et al. The involvement of BDNF, NGF and GDNF in aging and Alzheimer's disease. **Aging and Disease**, v. 6, n. 5, p. 331–341, set. 2015.
- CAO, C.; GU, J.; ZHANG, J. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cell-1 (sTREM-1): a potential biomarker for the diagnosis of infectious diseases. **Frontiers of Medicine**, v. 11, n. 2, p. 169–177, jun. 2017.
- CARACI, F. et al. Neurobiological links between depression and AD: The role of TGF- $\beta$ 1 signaling as a new pharmacological target. **Pharmacological Research**, v. 130, p. 374–384, abr. 2018.
- CARPENTIER, I.; COORNAERT, B.; BEYAERT, R. Function and regulation of tumor necrosis factor receptor type 2. **Current Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 16, p. 2205–2212, ago. 2004.
- CARVALHO, E. M. et al. Cytokine profile and immunomodulation in asymptomatic human T-lymphotropic virus type 1-infected blood donors. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes (1999)**, v. 27, n. 1, p. 1–6, 1 maio 2001.
- CASPAR-BELL, G.; DHAR, I.; PRASAD, K. Advanced glycation end products (AGEs) and its receptors in the pathogenesis of hyperthyroidism. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 414, n. 1–2, p. 171–178, mar. 2016.
- CHAN, F. K. et al. A domain in TNF receptors that mediates ligand-independent receptor assembly and signaling. **Science (New York, N.Y.)**, v. 288, n. 5475, p. 2351–2354, 30 jun. 2000.
- CHAO, M. V. Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signalling pathways. **Nature Reviews. Neuroscience**, v. 4, n. 4, p. 299–309, abr. 2003.
- CHEN, P. et al. CX3CL1/CX3CR1 in Alzheimer's Disease: A Target for Neuroprotection. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 8090918, 2016.
- CHIN, D. et al. What is transforming growth factor-beta (TGF-beta)? **British Journal of Plastic Surgery**, v. 57, n. 3, p. 215–221, abr. 2004.
- CIRULLI, F. et al. NGF expression in the developing rat brain: effects of maternal separation. **Brain Research. Developmental Brain Research**, v. 123, n. 2, p. 129–134, 28 out. 2000.
- COLONNA, M.; FACCHETTI, F. TREM-1 (triggering receptor expressed on myeloid cells): a new player in acute inflammatory responses. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 187 Suppl 2, p. S397-401, 15 jun. 2003.
- CRISPOLTONI, L. et al. Changes in Plasma  $\beta$ -NGF and Its Receptors Expression on Peripheral Blood Monocytes During Alzheimer's Disease Progression. **Journal of Alzheimer's disease: JAD**, v. 55, n. 3, p. 1005–1017, 2017.

- CURRER, R. et al. HTLV tax: a fascinating multifunctional co-regulator of viral and cellular pathways. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, p. 406, 2012.
- DATTILO, B. M. et al. The extracellular region of the receptor for advanced glycation end products is composed of two independent structural units. **Biochemistry**, v. 46, n. 23, p. 6957–6970, 12 jun. 2007.
- DE CASTRO-AMARANTE, M. F. et al. Human T Cell Leukemia Virus Type 1 Infection of the Three Monocyte Subsets Contributes to Viral Burden in Humans. **Journal of Virology**, v. 90, n. 5, p. 2195–2207, 25 nov. 2015.
- DE CASTRO-COSTA, C. M. et al. Proposal for diagnostic criteria of tropical spastic paraparesis/HTLV-I-associated myelopathy (TSP/HAM). **AIDS research and human retroviruses**, v. 22, n. 10, p. 931–935, out. 2006.
- DETERMANN, R. M. et al. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1: a biomarker for bacterial meningitis. **Intensive Care Medicine**, v. 32, n. 8, p. 1243–1247, ago. 2006.
- DINARELLO, C. A. et al. Interleukin-18 and IL-18 binding protein. **Frontiers in Immunology**, v. 4, p. 289, 8 out. 2013.
- DING, Q.; KELLER, J. N. Splice variants of the receptor for advanced glycosylation end products (RAGE) in human brain. **Neuroscience Letters**, v. 373, n. 1, p. 67–72, 3 jan. 2005.
- DINIZ, L. P. et al. Astrocytes and the TGF- $\beta$ 1 Pathway in the Healthy and Diseased Brain: a Double-Edged Sword. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 7, p. 4653–4679, jul. 2019.
- DOBBIE, M. S. et al. Upregulation of intercellular adhesion molecule-1 expression on human endothelial cells by tumour necrosis factor-alpha in an in vitro model of the blood-brain barrier. **Brain Research**, v. 830, n. 2, p. 330–336, 5 jun. 1999.
- DONEGAN, E. et al. Transfusion transmission of retroviruses: human T-lymphotropic virus types I and II compared with human immunodeficiency virus type 1. **Transfusion**, v. 34, n. 6, p. 478–483, jun. 1994.
- EDWARDS, R. H. et al. Processing of the native nerve growth factor precursor to form biologically active nerve growth factor. **Journal of Biological Chemistry**, v. 263, n. 14, p. 6810–6815, maio 1988.
- EINSIEDEL, L. et al. Clinical associations of Human T-Lymphotropic Virus type 1 infection in an indigenous Australian population. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 1, p. e2643, 2014.
- EISSNER, G.; KOLCH, W.; SCHEURICH, P. Ligands working as receptors: reverse signaling by members of the TNF superfamily enhance the plasticity of the immune system. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 15, n. 5, p. 353–366, out. 2004.
- EMANUELE, E. et al. Circulating levels of soluble receptor for advanced glycation end products in Alzheimer disease and vascular dementia. **Archives of Neurology**, v. 62, n. 11, p. 1734–1736, nov. 2005.



- ERRENI, M. et al. The Fractalkine-Receptor Axis Improves Human Colorectal Cancer Prognosis by Limiting Tumor Metastatic Dissemination. **Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 196, n. 2, p. 902–914, 15 jan. 2016.
- ESPÍNDOLA, O. M. et al. High IFN- $\gamma$ /IL-10 expression ratio and increased frequency of persistent human T-cell lymphotropic virus type 1-infected clones are associated with human T-cell lymphotropic virus type 1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis development. **Intervirology**, v. 58, n. 2, p. 106–114, 2015.
- FAHNESTOCK, M. et al. The Precursor Pro-Nerve Growth Factor Is the Predominant Form of Nerve Growth Factor in Brain and Is Increased in Alzheimer's Disease. **Molecular and Cellular Neuroscience**, v. 18, n. 2, p. 210–220, ago. 2001.
- FALCINI, F. et al. Increased circulating nerve growth factor is directly correlated with disease activity in juvenile chronic arthritis. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 55, n. 10, p. 745–748, out. 1996.
- FALCONE, C. et al. Plasma levels of soluble receptor for advanced glycation end products and coronary artery disease in nondiabetic men. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 25, n. 5, p. 1032–1037, maio 2005.
- FELDERHOFF-MUESER, U. et al. IL-18: a key player in neuroinflammation and neurodegeneration? **Trends in Neurosciences**, v. 28, n. 9, p. 487–493, set. 2005.
- FERRARA, N.; ADAMIS, A. P. Ten years of anti-vascular endothelial growth factor therapy. **Nature Reviews. Drug Discovery**, v. 15, n. 6, p. 385–403, 2016.
- FREI, K. et al. Production of B cell stimulatory factor-2 and interferon gamma in the central nervous system during viral meningitis and encephalitis. Evaluation in a murine model infection and in patients. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 168, n. 1, p. 449–453, 1 jul. 1988.
- FREI, K. et al. Interleukin-6 is elevated in plasma in multiple sclerosis. **Journal of Neuroimmunology**, v. 31, n. 2, p. 147–153, fev. 1991.
- FREUND-MICHEL, V.; FROSSARD, N. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 117, n. 1, p. 52–76, jan. 2008.
- FRIDEN, P. M. et al. Blood-brain barrier penetration and in vivo activity of an NGF conjugate. **Science (New York, N.Y.)**, v. 259, n. 5093, p. 373–377, 15 jan. 1993.
- GAHRING, L. C. et al. Neuronal expression of tumor necrosis factor alpha in the murine brain. **Neuroimmunomodulation**, v. 3, n. 5, p. 289–303, out. 1996.
- GALLO, R. C. History of the discoveries of the first human retroviruses: HTLV-1 and HTLV-2. **Oncogene**, v. 24, n. 39, p. 5926–5930, 5 set. 2005.
- GARDELLA, S. et al. The nuclear protein HMGB1 is secreted by monocytes via a non-classical, vesicle-mediated secretory pathway. **EMBO reports**, v. 3, n. 10, p. 995–1001, out. 2002.
- GAUDRAY, G. et al. The complementary strand of the human T-cell leukemia virus type 1 RNA genome encodes a bZIP transcription factor that down-regulates viral transcription. **Journal of Virology**, v. 76, n. 24, p. 12813–12822, dez. 2002.

- GERDES, N. et al. Expression of interleukin (IL)-18 and functional IL-18 receptor on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: implications for atherogenesis. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 195, n. 2, p. 245–257, 21 jan. 2002.
- GEROLDI, D. et al. Decreased plasma levels of soluble receptor for advanced glycation end-products in patients with essential hypertension. **Journal of Hypertension**, v. 23, n. 9, p. 1725–1729, set. 2005.
- GEROLDI, D.; FALCONE, C.; EMANUELE, E. Soluble receptor for advanced glycation end products: from disease marker to potential therapeutic target. **Current Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 17, p. 1971–1978, 2006.
- GESSAIN, A.; CASSAR, O. Epidemiological Aspects and World Distribution of HTLV-1 Infection. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, p. 388, 2012.
- GHEZ, D. et al. Current concepts regarding the HTLV-1 receptor complex. **Retrovirology**, v. 7, p. 99, 29 nov. 2010.
- GIBOT, S.; MASSIN, F. Soluble form of the triggering receptor expressed on myeloid cells 1: an anti-inflammatory mediator? **Intensive Care Medicine**, v. 32, n. 2, p. 185–187, fev. 2006.
- GINGRAS, M.-C.; LAPILLONNE, H.; MARGOLIN, J. F. TREM-1, MDL-1, and DAP12 expression is associated with a mature stage of myeloid development. **Molecular Immunology**, v. 38, n. 11, p. 817–824, mar. 2002.
- GLOIRE, G.; LEGRAND-POELS, S.; PIETTE, J. NF-kappaB activation by reactive oxygen species: fifteen years later. **Biochemical Pharmacology**, v. 72, n. 11, p. 1493–1505, 30 nov. 2006.
- GOEL, H. L.; MERCURIO, A. M. VEGF targets the tumour cell. **Nature Reviews. Cancer**, v. 13, n. 12, p. 871–882, dez. 2013.
- GORELIK, L.; FLAVELL, R. A. Transforming growth factor-beta in T-cell biology. **Nature Reviews. Immunology**, v. 2, n. 1, p. 46–53, jan. 2002.
- GRANT, C. et al. Dysregulation of TGF-beta signaling and regulatory and effector T-cell function in virus-induced neuroinflammatory disease. **Blood**, v. 111, n. 12, p. 5601–5609, 15 jun. 2008.
- GRIGSBY, I. F. et al. Biophysical analysis of HTLV-1 particles reveals novel insights into particle morphology and Gag stoichiometry. **Retrovirology**, v. 7, p. 75, 20 set. 2010.
- GROBLEWSKA, M. et al. The Role of Visinin-Like Protein-1 in the Pathophysiology of Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's disease: JAD**, v. 47, n. 1, p. 17–32, 2015.
- GUERRERO, P. A.; MCCARTY, J. H. TGF- $\beta$  Activation and Signaling in Angiogenesis. In: SIMIONESCU, D.; SIMIONESCU, A. (Eds.). . **Physiologic and Pathologic Angiogenesis - Signaling Mechanisms and Targeted Therapy**. [s.l.] InTech, 2017.
- GUO, H.; CALLAWAY, J. B.; TING, J. P.-Y. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. **Nature Medicine**, v. 21, n. 7, p. 677–687, jul. 2015.

- GUTZMER, R. et al. Human dendritic cells express the IL-18R and are chemoattracted to IL-18. **Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 171, n. 12, p. 6363–6371, 15 dez. 2003.
- HAMPEL, H. et al. Pattern of interleukin-6 receptor complex immunoreactivity between cortical regions of rapid autopsy normal and Alzheimer's disease brain. **European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience**, v. 255, n. 4, p. 269–278, ago. 2005.
- HANAOKA, M.; KUBO, T.; SAITOH, A. Discrepancy between human T-cell lymphotropic virus type I screening test and confirmatory tests in non-endemic areas. **The Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v. 38, n. 5, p. 793–796, maio 2012.
- HEESE, K. et al. Nerve growth factor (NGF) expression in rat microglia is induced by adenosine A2a-receptors. **Neuroscience Letters**, v. 231, n. 2, p. 83–86, 8 ago. 1997.
- HIBI, M. et al. Molecular cloning and expression of an IL-6 signal transducer, gp130. **Cell**, v. 63, n. 6, p. 1149–1157, 21 dez. 1990.
- HOFMANN, M. A. et al. RAGE mediates a novel proinflammatory axis: a central cell surface receptor for S100/calgranulin polypeptides. **Cell**, v. 97, n. 7, p. 889–901, 25 jun. 1999.
- HÖLLSBERG, P.; AUSUBEL, L. J.; HAFNER, D. A. Human T cell lymphotropic virus type I-induced T cell activation. Resistance to TGF-beta 1-induced suppression. **Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 153, n. 2, p. 566–573, 15 jul. 1994.
- HORIUCHI, S. et al. Human T-cell leukemia virus type-I Tax induces expression of interleukin-6 receptor (IL-6R): Shedding of soluble IL-6R and activation of STAT3 signaling. **International Journal of Cancer**, v. 119, n. 4, p. 823–830, 15 ago. 2006.
- HORIUCHI, T. et al. Transmembrane TNF-alpha: structure, function and interaction with anti-TNF agents. **Rheumatology (Oxford, England)**, v. 49, n. 7, p. 1215–1228, jul. 2010.
- HUTTUNEN, H. J.; FAGES, C.; RAUVALA, H. Receptor for advanced glycation end products (RAGE)-mediated neurite outgrowth and activation of NF-kappaB require the cytoplasmic domain of the receptor but different downstream signaling pathways. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 274, n. 28, p. 19919–19924, 9 jul. 1999.
- HYAKUDOMI, M. et al. Increased expression of fractalkine is correlated with a better prognosis and an increased number of both CD8+ T cells and natural killer cells in gastric adenocarcinoma. **Annals of Surgical Oncology**, v. 15, n. 6, p. 1775–1782, jun. 2008.
- IOANNIDES, Z. A. et al. Correlations between macrophage/microglial activation marker sTREM-2 and measures of T-cell activation, neuroaxonal damage and disease severity in multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis Journal - Experimental, Translational and Clinical**, v. 7, n. 2, p. 20552173211019772, jun. 2021.
- IULITA, M. F.; CUELLO, A. C. Nerve growth factor metabolic dysfunction in Alzheimer's disease and Down syndrome. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 35, n. 7, p. 338–348, jul. 2014.
- JANKNECHT, R.; WELLS, N. J.; HUNTER, T. TGF-beta-stimulated cooperation of smad proteins with the coactivators CBP/p300. **Genes & Development**, v. 12, n. 14, p. 2114–2119, 15 jul. 1998.

- JIANG, T. et al. TREM2 in Alzheimer's disease. **Molecular Neurobiology**, v. 48, n. 1, p. 180–185, ago. 2013.
- JIN, D. Y.; JEANG, K. T. HTLV-I Tax self-association in optimal trans-activation function. **Nucleic Acids Research**, v. 25, n. 2, p. 379–387, 15 jan. 1997.
- JONES, B. A.; BEAMER, M.; AHMED, S. Fractalkine/CX3CL1: a potential new target for inflammatory diseases. **Molecular Interventions**, v. 10, n. 5, p. 263–270, out. 2010.
- KAESS, B. M. et al. Circulating brain-derived neurotrophic factor concentrations and the risk of cardiovascular disease in the community. **Journal of the American Heart Association**, v. 4, n. 3, p. e001544, 11 mar. 2015.
- KANNIAN, P.; GREEN, P. L. Human T Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1): Molecular Biology and Oncogenesis. **Viruses**, v. 2, n. 9, p. 2037–2077, set. 2010.
- KARIN, M.; GRETEN, F. R. NF-kappaB: linking inflammation and immunity to cancer development and progression. **Nature Reviews. Immunology**, v. 5, n. 10, p. 749–759, out. 2005.
- KAWAMURA, T. et al. Innate and intrinsic antiviral immunity in skin. **Journal of Dermatological Science**, v. 75, n. 3, p. 159–166, set. 2014.
- KCHOUR, G. et al. Increased microvessel density in involved organs from patients with HTLV-I associated adult T cell leukemia lymphoma. **Leukemia & Lymphoma**, v. 49, n. 2, p. 265–270, fev. 2008.
- KEHLEN, A. et al. High coexpression of CCL2 and CX3CL1 is gender-specifically associated with good prognosis in soft tissue sarcoma patients. **International Journal of Cancer**, v. 135, n. 9, p. 2096–2106, 1 nov. 2014.
- KESTER, M. I. et al. Cerebrospinal fluid VILIP-1 and YKL-40, candidate biomarkers to diagnose, predict and monitor Alzheimer's disease in a memory clinic cohort. **Alzheimer's Research & Therapy**, v. 7, n. 1, p. 59, 17 set. 2015.
- KHAN, M. Y. et al. HTLV-1 Associated Neurological Disorders. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 12, p. 1320–1330, 2017.
- KIERDORF, K.; FRITZ, G. RAGE regulation and signaling in inflammation and beyond. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 94, n. 1, p. 55–68, jul. 2013.
- KIMURA, E. T.; MATSUO, S. E.; RICARTE-FILHO, J. C. TGFbeta, activina e sinalização SMAD em câncer de tiróide. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 51, n. 5, p. 683–689, jul. 2007.
- KIMURA, R.; MORI, N. Abundant expression of HMGB1 in human T-cell lymphotropic virus type I-infected T-cell lines and high plasma levels of HMGB1 in patients with adult T-cell leukemia. **Oncology Letters**, v. 7, n. 4, p. 1239–1242, abr. 2014.
- KIRA, J. et al. Increased HTLV-I proviral DNA in HTLV-I-associated myelopathy: a quantitative polymerase chain reaction study. **Annals of Neurology**, v. 29, n. 2, p. 194–201, fev. 1991.

- KLESNEY-TAIT, J.; TURNBULL, I. R.; COLONNA, M. The TREM receptor family and signal integration. **Nature Immunology**, v. 7, n. 12, p. 1266–1273, dez. 2006.
- KOCH, M. et al. Structural basis for ligand recognition and activation of RAGE. **Structure (London, England: 1993)**, v. 18, n. 10, p. 1342–1352, 13 out. 2010.
- KONTERMANN, R. E.; SCHEURICH, P.; PFIZENMAIER, K. Antagonists of TNF action: clinical experience and new developments. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 4, n. 3, p. 279–292, mar. 2009.
- LAMBIASE, A. et al. Nerve growth factor and the immune system: old and new concepts in the cross-talk between immune and resident cells during pathophysiological conditions. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, v. 4, n. 5, p. 425–430, out. 2004.
- LAMBRECHTS, D. et al. Meta-analysis of vascular endothelial growth factor variations in amyotrophic lateral sclerosis: increased susceptibility in male carriers of the -2578AA genotype. **Journal of Medical Genetics**, v. 46, n. 12, p. 840–846, dez. 2009.
- LANGE, C. et al. Vascular endothelial growth factor: a neurovascular target in neurological diseases. **Nature Reviews. Neurology**, v. 12, n. 8, p. 439–454, ago. 2016.
- LAUDIERO, L. B. et al. Multiple sclerosis patients express increased levels of beta-nerve growth factor in cerebrospinal fluid. **Neuroscience Letters**, v. 147, n. 1, p. 9–12, 23 nov. 1992.
- LAURENZI, M. A. et al. Cerebrospinal fluid interleukin-6 activity in HIV infection and inflammatory and noninflammatory diseases of the nervous system. **Clinical Immunology and Immunopathology**, v. 57, n. 2, p. 233–241, nov. 1990.
- LE BLANC, I.; ROSENBERG, A. R.; DOKHÉLAR, M. C. Multiple functions for the basic amino acids of the human T-cell leukemia virus type 1 matrix protein in viral transmission. **Journal of Virology**, v. 73, n. 3, p. 1860–1867, mar. 1999.
- LEBRE, M. C. et al. Double-stranded RNA-exposed human keratinocytes promote Th1 responses by inducing a Type-1 polarized phenotype in dendritic cells: role of keratinocyte-derived tumor necrosis factor alpha, type I interferons, and interleukin-18. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 120, n. 6, p. 990–997, jun. 2003.
- LEE, F. S. et al. The uniqueness of being a neurotrophin receptor. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 11, n. 3, p. 281–286, jun. 2001.
- LEE, J. H.; CHO, D. H.; PARK, H. J. IL-18 and Cutaneous Inflammatory Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 12, p. 29357–29369, 9 dez. 2015.
- LEE, R.; SCHWARTZ, R. A. Human T-lymphotrophic virus type 1-associated infective dermatitis: a comprehensive review. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 64, n. 1, p. 152–160, jan. 2011.
- LEI, C.; GENG, J.; ZHONG, L. The association between plasma HMGB1 and sRAGE and clinical outcome in intracerebral hemorrhage. **Journal of Neuroimmunology**, v. 345, p. 577266, 15 ago. 2020.

- LEITE, A. C. C. et al. Peripheral neuropathy in HTLV-I infected individuals without tropical spastic paraparesis/HTLV-I-associated myelopathy. **Journal of Neurology**, v. 251, n. 7, p. 877–881, jul. 2004.
- LEUNG, K.; NABEL, G. J. HTLV-1 transactivator induces interleukin-2 receptor expression through an NF-kappa B-like factor. **Nature**, v. 333, n. 6175, p. 776–778, 23 jun. 1988.
- LIBERMANN, T. A.; BALTIMORE, D. Activation of interleukin-6 gene expression through the NF-kappa B transcription factor. **Molecular and Cellular Biology**, v. 10, n. 5, p. 2327–2334, maio 1990.
- LICHTMAN, M. K.; OTERO-VINAS, M.; FALANGA, V. Transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) isoforms in wound healing and fibrosis. **Wound Repair and Regeneration: Official Publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society**, v. 24, n. 2, p. 215–222, mar. 2016.
- LICZNERSKI, P.; JONAS, E. A. BDNF signaling: Harnessing stress to battle mood disorder. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 15, p. 3742–3744, 10 abr. 2018.
- LIÉNART, S. et al. Structural basis of latent TGF- $\beta$ 1 presentation and activation by GARP on human regulatory T cells. **Science (New York, N.Y.)**, v. 362, n. 6417, p. 952–956, 23 nov. 2018.
- LIM, Y. Y. et al. BDNF Val66Met moderates memory impairment, hippocampal function and tau in preclinical autosomal dominant Alzheimer's disease. **Brain: A Journal of Neurology**, v. 139, n. Pt 10, p. 2766–2777, out. 2016.
- LIMA, M. A. et al. Subacute progression of human T-lymphotropic virus type I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **Journal of Neurovirology**, v. 13, n. 5, p. 468–473, out. 2007.
- LIMA, M. A. S. D.; BICA, R. B. S.; ARAÚJO, A. Q. C. Gender influence on the progression of HTLV-I associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry**, v. 76, n. 2, p. 294–296, fev. 2005.
- LINKER, R. A. et al. IL-6 transsignalling modulates the early effector phase of EAE and targets the blood-brain barrier. **Journal of Neuroimmunology**, v. 205, n. 1–2, p. 64–72, 15 dez. 2008.
- LIU, J. et al. Increased CX3CL1 mRNA expression level is a positive prognostic factor in patients with lung adenocarcinoma. **Oncology Letters**, v. 17, n. 6, p. 4877–4890, jun. 2019.
- LOBODA, A. et al. TGF- $\beta$ 1/Smads and miR-21 in Renal Fibrosis and Inflammation. **Mediators of Inflammation**, v. 2016, p. 8319283, 2016.
- LU, J. et al. Synergistic effects of dual-presenting VEGF- and BDNF-mimetic peptide epitopes from self-assembling peptide hydrogels on peripheral nerve regeneration. **Nanoscale**, v. 11, n. 42, p. 19943–19958, 14 nov. 2019.
- LUO, X. et al. CSF levels of the neuronal injury biomarker visinin-like protein-1 in Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies. **Journal of Neurochemistry**, v. 127, n. 5, p. 681–690, dez. 2013.

- MAASS, A. et al. Relationships of peripheral IGF-1, VEGF and BDNF levels to exercise-related changes in memory, hippocampal perfusion and volumes in older adults. **NeuroImage**, v. 131, p. 142–154, maio 2016.
- MACKENZIE, F.; RUHRBERG, C. Diverse roles for VEGF-A in the nervous system. **Development (Cambridge, England)**, v. 139, n. 8, p. 1371–1380, abr. 2012.
- MAIMONE, D.; GUAZZI, G. C.; ANNUNZIATA, P. IL-6 detection in multiple sclerosis brain. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 146, n. 1, p. 59–65, 27 fev. 1997.
- MALHERBE, P. et al. cDNA cloning of a novel secreted isoform of the human receptor for advanced glycation end products and characterization of cells co-expressing cell-surface scavenger receptors and Swedish mutant amyloid precursor protein. **Molecular Brain Research**, v. 71, n. 2, p. 159–170, ago. 1999.
- MALMESTRÖM, C. et al. IL-6 and CCL2 levels in CSF are associated with the clinical course of MS: implications for their possible immunopathogenic roles. **Journal of Neuroimmunology**, v. 175, n. 1–2, p. 176–182, jun. 2006.
- MARIE, J. C. et al. TGF-beta1 maintains suppressor function and Foxp3 expression in CD4+CD25+ regulatory T cells. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 201, n. 7, p. 1061–1067, 4 abr. 2005.
- MARTELOSSI CEBINELLI, G. C. et al. TGF-β1 functional polymorphisms: a review. **European Cytokine Network**, v. 27, n. 4, p. 81–89, 1 nov. 2016.
- MATSUOKA, M.; JEANG, K.-T. Human T-cell leukaemia virus type 1 (HTLV-1) infectivity and cellular transformation. **Nature Reviews. Cancer**, v. 7, n. 4, p. 270–280, abr. 2007.
- MATSUSAKA, T. et al. Transcription factors NF-IL6 and NF-kappa B synergistically activate transcription of the inflammatory cytokines, interleukin 6 and interleukin 8. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 90, n. 21, p. 10193–10197, 1 nov. 1993.
- MCCOY, M. K.; TANSEY, M. G. TNF signaling inhibition in the CNS: implications for normal brain function and neurodegenerative disease. **Journal of Neuroinflammation**, v. 5, p. 45, 17 out. 2008.
- MELINCOVICI, C. S. et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis. **Romanian Journal of Morphology and Embryology = Revue Roumaine De Morphologie Et Embryologie**, v. 59, n. 2, p. 455–467, 2018.
- MEOLI, E. M. et al. TGF-β signaling is altered in the peripheral blood of subjects with multiple sclerosis. **Journal of Neuroimmunology**, v. 230, n. 1–2, p. 164–168, jan. 2011.
- MIHARA, M. et al. IL-6/IL-6 receptor system and its role in physiological and pathological conditions. **Clinical Science**, v. 122, n. 4, p. 143–159, 1 fev. 2012.
- MITOMA, H.; HORIUCHI, T.; TSUKAMOTO, H. Binding activities of infliximab and etanercept to transmembrane tumor necrosis factor-alpha. **Gastroenterology**, v. 126, n. 3, p. 934–935; author reply 935–936, mar. 2004.

- MITRE, E. et al. Majority of interferon-gamma-producing CD4+ cells in patients infected with human T cell lymphotropic virus do not express tax protein. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 188, n. 3, p. 428–432, 1 ago. 2003.
- MIZUNO, T. et al. Production and neuroprotective functions of fractalkine in the central nervous system. **Brain Research**, v. 979, n. 1–2, p. 65–70, 25 jul. 2003.
- MOCHIZUKI, M. et al. HTLV-I and uveitis. **Lancet (London, England)**, v. 339, n. 8801, p. 1110, 2 maio 1992.
- MÖLLER, B. et al. Expression of interleukin-18 receptor in fibroblast-like synoviocytes. **Arthritis Research**, v. 4, n. 2, p. 139–144, 2002.
- MOREIRA, I. S.; FERNANDES, P. A.; RAMOS, M. J. Vascular endothelial growth factor (VEGF) inhibition--a critical review. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 7, n. 2, p. 223–245, mar. 2007.
- MORGAN, D. J. et al. Brain magnetic resonance imaging white matter lesions are frequent in HTLV-I carriers and do not discriminate from HAM/TSP. **AIDS research and human retroviruses**, v. 23, n. 12, p. 1499–1504, dez. 2007.
- MORGAN, O. S. et al. HTLV-1 and polymyositis in Jamaica. **Lancet (London, England)**, v. 2, n. 8673, p. 1184–1187, 18 nov. 1989.
- MÜHL, H.; PFEILSCHIFTER, J. Interleukin-18 bioactivity: a novel target for immunopharmacological anti-inflammatory intervention. **European Journal of Pharmacology**, v. 500, n. 1–3, p. 63–71, 1 out. 2004.
- MÜLLER, M. et al. Review: The chemokine receptor CXCR3 and its ligands CXCL9, CXCL10 and CXCL11 in neuroimmunity--a tale of conflict and conundrum. **Neuropathology and Applied Neurobiology**, v. 36, n. 5, p. 368–387, ago. 2010.
- MURAKAMI, M. et al. IL-6-induced homodimerization of gp130 and associated activation of a tyrosine kinase. **Science (New York, N.Y.)**, v. 260, n. 5115, p. 1808–1810, 18 jun. 1993.
- MURRAY, S. S. A Novel p75 Neurotrophin Receptor-Related Protein, NRH2, Regulates Nerve Growth Factor Binding to the TrkA Receptor. **Journal of Neuroscience**, v. 24, n. 11, p. 2742–2749, 17 mar. 2004.
- MUSABAK, U. et al. Serum adiponectin, TNF- $\alpha$ , IL-12p70, and IL-13 levels in multiple sclerosis and the effects of different therapy regimens. **Neuroimmunomodulation**, v. 18, n. 1, p. 57–66, 2011.
- NAGAI, M. et al. Increased activated human T cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) Tax11-19-specific memory and effector CD8+ cells in patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis: correlation with HTLV-I provirus load. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 183, n. 2, p. 197–205, 15 jan. 2001.
- NAKAHASHI, T. et al. Vascular endothelial cells synthesize and secrete brain-derived neurotrophic factor. **FEBS letters**, v. 470, n. 2, p. 113–117, 24 mar. 2000.
- NAKAMURA, K. et al. Endotoxin-induced serum factor that stimulates gamma interferon production. **Infection and Immunity**, v. 57, n. 2, p. 590–595, fev. 1989.



- NAKAMURA, K. et al. Circulating advanced glycation end products (AGEs) and soluble form of receptor for AGEs (sRAGE) are independent determinants of serum monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) levels in patients with type 2 diabetes. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, v. 24, n. 2, p. 109–114, fev. 2008.
- NAKANISHI, K. et al. Interleukin-18 regulates both Th1 and Th2 responses. **Annual Review of Immunology**, v. 19, p. 423–474, 2001.
- NAKANISHI, K. Unique Action of Interleukin-18 on T Cells and Other Immune Cells. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 763, 2018.
- NARAZAKI, M. et al. Soluble forms of the interleukin-6 signal-transducing receptor component gp130 in human serum possessing a potential to inhibit signals through membrane-anchored gp130. **Blood**, v. 82, n. 4, p. 1120–1126, 15 ago. 1993.
- NAWROTH, P. et al. Atherosclerosis and restenosis: is there a role for RAGE? **Current Diabetes Reports**, v. 5, n. 1, p. 11–16, fev. 2005.
- NEEPER, M. et al. Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 267, n. 21, p. 14998–15004, 25 jul. 1992.
- NEJMEDDINE, M. et al. Human T-lymphotropic virus, type 1, tax protein triggers microtubule reorientation in the virological synapse. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 33, p. 29653–29660, 19 ago. 2005.
- NILSSON, M.; HEYMACH, J. V. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Pathway. **Journal of Thoracic Oncology**, v. 1, n. 8, p. 768–770, out. 2006.
- NISHIMOTO, N. et al. Elevated levels of interleukin-6 in serum and cerebrospinal fluid of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 97, n. 2–3, p. 183–193, jul. 1990.
- NISHIOKA, K. et al. Chronic inflammatory arthropathy associated with HTLV-I. **Lancet (London, England)**, v. 1, n. 8635, p. 441, 25 fev. 1989.
- NOLAN, K. F.; GREAVES, D. R.; WALDMANN, H. The human interleukin 18 gene IL18 maps to 11q22.2-q22.3, closely linked to the DRD2 gene locus and distinct from mapped IDDM loci. **Genomics**, v. 51, n. 1, p. 161–163, 1 jul. 1998.
- NOVAES, R. et al. Modulation of glutathione intracellular levels alters the spontaneous proliferation of lymphocyte from HTLV-1 infected patients. **Immunobiology**, v. 218, n. 9, p. 1166–1174, set. 2013.
- NOVICK, D. et al. Interleukin-18 binding protein: a novel modulator of the Th1 cytokine response. **Immunity**, v. 10, n. 1, p. 127–136, jan. 1999.
- NOZUMA, S.; JACOBSON, S. Neuroimmunology of Human T-Lymphotropic Virus Type 1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 24 abr. 2019.
- NYKJAER, A.; WILLNOW, T. E.; PETERSEN, C. M. p75<sup>NTR</sup> – live or let die. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 15, n. 1, p. 49–57, fev. 2005.

- ÖHRFELT, A. et al. Soluble TREM-2 in cerebrospinal fluid from patients with multiple sclerosis treated with natalizumab or mitoxantrone. **Multiple Sclerosis Journal**, v. 22, n. 12, p. 1587–1595, out. 2016.
- OMOTO, Y. et al. Human mast cell chymase cleaves pro-IL-18 and generates a novel and biologically active IL-18 fragment. **Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 177, n. 12, p. 8315–8319, 15 dez. 2006.
- OSAME, M. Pathological mechanisms of human T-cell lymphotropic virus type I-associated myelopathy (HAM/TSP). **Journal of Neurovirology**, v. 8, n. 5, p. 359–364, out. 2002.
- OTTEN, U. et al. Neurotrophins: signals between the nervous and immune systems. **Progress in Brain Research**, v. 103, p. 293–305, 1994.
- PALOMINO, D. C. T.; MARTI, L. C. Chemokines and immunity. **Einstein (Sao Paulo, Brazil)**, v. 13, n. 3, p. 469–473, set. 2015.
- PARK, H. J. et al. Increased expression of IL-18 in cutaneous graft-versus-host disease. **Immunology Letters**, v. 95, n. 1, p. 57–61, 15 ago. 2004.
- PARKHURST, C. N. et al. Microglia promote learning-dependent synapse formation through brain-derived neurotrophic factor. **Cell**, v. 155, n. 7, p. 1596–1609, 19 dez. 2013.
- PENNICA, D. et al. Human tumour necrosis factor: precursor structure, expression and homology to lymphotoxin. **Nature**, v. 312, n. 5996, p. 724–729, 20 jan. 1984.
- PFIZENMAIER, K.; SZYMKOWSKI, D. E. Workshop Summary: Introduction to Rational Design of New Means for Therapeutic Modulation of Function of the TNF Family. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 691, p. 487–491, 2011.
- PHILIP, S. et al. Regulation of human T-lymphotropic virus type I latency and reactivation by HBZ and Rex. **PLoS pathogens**, v. 10, n. 4, p. e1004040, abr. 2014.
- PICCIO, L. et al. Identification of soluble TREM-2 in the cerebrospinal fluid and its association with multiple sclerosis and CNS inflammation. **Brain: A Journal of Neurology**, v. 131, n. Pt 11, p. 3081–3091, nov. 2008.
- POLAKOWSKI, N. et al. HBZ stimulates brain-derived neurotrophic factor/TrkB autocrine/paracrine signaling to promote survival of human T-cell leukemia virus type 1-Infected T cells. **Journal of Virology**, v. 88, n. 22, p. 13482–13494, nov. 2014.
- PULLERITS, R. et al. Decreased levels of soluble receptor for advanced glycation end products in patients with rheumatoid arthritis indicating deficient inflammatory control. **Arthritis Research & Therapy**, v. 7, n. 4, p. R817-824, 2005.
- QUAEGEBEUR, A.; LANGE, C.; CARMELIET, P. The neurovascular link in health and disease: molecular mechanisms and therapeutic implications. **Neuron**, v. 71, n. 3, p. 406–424, 11 ago. 2011.
- QUARESMA, J. A. S. et al. HTLV-1, Immune Response and Autoimmunity. **Viruses**, v. 8, n. 1, 24 dez. 2015.

- RAI, V. et al. Signal transduction in receptor for advanced glycation end products (RAGE): solution structure of C-terminal rage (ctRAGE) and its binding to mDia1. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 287, n. 7, p. 5133–5144, 10 fev. 2012.
- ROBBERECHT, W.; PHILIPS, T. The changing scene of amyotrophic lateral sclerosis. **Nature Reviews. Neuroscience**, v. 14, n. 4, p. 248–264, abr. 2013.
- ROCHA-JÚNIOR, M. C. et al. Interleukin-18 and interferon-gamma polymorphisms are implicated on proviral load and susceptibility to human T-lymphotropic virus type 1 infection. **Tissue Antigens**, v. 80, n. 2, p. 143–150, ago. 2012.
- ROLLNIK, J. D. et al. Biologically active TGF-beta 1 is increased in cerebrospinal fluid while it is reduced in serum in multiple sclerosis patients. **Acta Neurologica Scandinavica**, v. 96, n. 2, p. 101–105, ago. 1997.
- RUBERTI, F. et al. Phenotypic knockout of nerve growth factor in adult transgenic mice reveals severe deficits in basal forebrain cholinergic neurons, cell death in the spleen, and skeletal muscle dystrophy. **The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience**, v. 20, n. 7, p. 2589–2601, 1 abr. 2000.
- RUIZ DE ALMODOVAR, C. et al. Role and therapeutic potential of VEGF in the nervous system. **Physiological Reviews**, v. 89, n. 2, p. 607–648, abr. 2009.
- SAGGIORO, D. Anti-apoptotic effect of Tax: an NF- $\kappa$ B path or a CREB way? **Viruses**, v. 3, n. 7, p. 1001–1014, 2011.
- SAITO, M. et al. Serum concentration and genetic polymorphism in the 5'-untranslated region of VEGF is not associated with susceptibility to HTLV-I associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) in HTLV-I infected individuals. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 219, n. 1–2, p. 157–161, 15 abr. 2004.
- SANDBORN, W. J.; TARGAN, S. R. Biologic therapy of inflammatory bowel disease. **Gastroenterology**, v. 122, n. 6, p. 1592–1608, maio 2002.
- SATO, T. et al. CSF CXCL10, CXCL9, and neopterin as candidate prognostic biomarkers for HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 7, n. 10, p. e2479, 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 of the United States of America**, v. 103, n. 3, p. 720–725, 17 jan. 2006.
- SCAFFIDI, P.; MISTELI, T.; BIANCHI, M. E. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. **Nature**, v. 418, n. 6894, p. 191–195, 11 jul. 2002.
- SCALA, G. et al. The expression of the interleukin 6 gene is induced by the human immunodeficiency virus 1 TAT protein. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 179, n. 3, p. 961–971, 1 mar. 1994.
- SCHNURRA, I. et al. The neuronal calcium sensor protein VILIP-1 is associated with amyloid plaques and extracellular tangles in Alzheimer's disease and promotes cell death and tau phosphorylation in vitro: a link between calcium sensors and Alzheimer's disease? **Neurobiology of Disease**, v. 8, n. 5, p. 900–909, out. 2001.

- SEMMES, O. J.; JEANG, K. T. Localization of human T-cell leukemia virus type 1 tax to subnuclear compartments that overlap with interchromatin speckles. **Journal of Virology**, v. 70, n. 9, p. 6347–6357, set. 1996.
- SERADA, S. et al. IL-6 blockade inhibits the induction of myelin antigen-specific Th17 cells and Th1 cells in experimental autoimmune encephalomyelitis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 26, p. 9041–9046, 1 jul. 2008.
- SIMS, J. E. IL-1 and IL-18 receptors, and their extended family. **Current Opinion in Immunology**, v. 14, n. 1, p. 117–122, fev. 2002.
- SMITH, D. J. et al. Reduced soluble receptor for advanced glycation end-products in COPD. **The European Respiratory Journal**, v. 37, n. 3, p. 516–522, mar. 2011.
- SONG, M.; MARTINOWICH, K.; LEE, F. S. BDNF at the synapse: why location matters. **Molecular Psychiatry**, v. 22, n. 10, p. 1370–1375, 2017.
- SOSPEDRA, M.; MARTIN, R. Immunology of multiple sclerosis. **Annual Review of Immunology**, v. 23, p. 683–747, 2005.
- SOUZA, F. S. **Estudo de biomarcadores associados à lesão neuronal, inflamação, e migração celular no sistema nervoso central de pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1**. Tese de Doutorado—Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, dez. 2020.
- STARLING, A. L. B. et al. Proviral load and the balance of serum cytokines in HTLV-1-asymptomatic infection and in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). **Acta Tropica**, v. 125, n. 1, p. 75–81, jan. 2013.
- SURYAPRASAD, A. G.; PRINDIVILLE, T. The biology of TNF blockade. **Autoimmunity Reviews**, v. 2, n. 6, p. 346–357, out. 2003.
- TAGA, T.; KISHIMOTO, T. Gp130 and the interleukin-6 family of cytokines. **Annual Review of Immunology**, v. 15, p. 797–819, 1997.
- TAM, X. H. L. et al. Enhanced expression of receptor for advanced glycation end-products is associated with low circulating soluble isoforms of the receptor in Type 2 diabetes. **Clinical Science (London, England: 1979)**, v. 120, n. 2, p. 81–89, jan. 2011.
- TANAKA, T. et al. Regulation of IL-6 in Immunity and Diseases. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 941, p. 79–88, 2016.
- TANAKA, T.; NARAZAKI, M.; KISHIMOTO, T. Interleukin (IL-6) Immunotherapy. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 10, n. 8, 01 2018.
- TARAWNEH, R. et al. Visinin-like protein-1: Diagnostic and prognostic biomarker in Alzheimer disease. **Annals of Neurology**, v. 70, n. 2, p. 274–285, ago. 2011.
- TARAWNEH, R. Biomarkers: Our Path Towards a Cure for Alzheimer Disease. **Biomarker Insights**, v. 15, p. 1177271920976367, 2020.
- TATTERMUSCH, S. et al. Systems biology approaches reveal a specific interferon-inducible signature in HTLV-1 associated myelopathy. **PLoS pathogens**, v. 8, n. 1, p. e1002480, jan. 2012.

- TROMBETTA, I. C. et al. Níveis Séricos do BDNF na Proteção Cardiovascular e em Resposta ao Exercício. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 115, n. 2, p. 263–269, 19 ago. 2020.
- TURCI, M. et al. Localization of human T-cell lymphotropic virus type II Tax protein is dependent upon a nuclear localization determinant in the N-terminal region. **Gene**, v. 365, p. 119–124, 3 jan. 2006.
- TUSZYNSKI, M. et al. Nerve growth factor infusion in the primate brain reduces lesion-induced cholinergic neuronal degeneration. **The Journal of Neuroscience**, v. 10, n. 11, p. 3604–3614, 1 nov. 1990.
- TUSZYNSKI, M. H. et al. Nerve Growth Factor Gene Therapy: Activation of Neuronal Responses in Alzheimer Disease. **JAMA Neurology**, v. 72, n. 10, p. 1139, 1 out. 2015.
- ULRICH, E. et al. Specific TrkA survival signals interfere with different apoptotic pathways. **Oncogene**, v. 16, n. 7, p. 825–832, fev. 1998.
- UMEHARA, F. et al. Immunocytochemical analysis of the cellular infiltrate in the spinal cord lesions in HTLV-I-associated myelopathy. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, v. 52, n. 4, p. 424–430, jul. 1993.
- UMEKI, K. et al. Proviral loads and clonal expansion of HTLV-1-infected cells following vertical transmission: a 10-year follow-up of children in Jamaica. **Intervirology**, v. 52, n. 3, p. 115–122, 2009.
- VANDENABEELE, P. et al. Two tumour necrosis factor receptors: structure and function. **Trends in Cell Biology**, v. 5, n. 10, p. 392–399, out. 1995.
- VITALE, R. F.; RIBEIRO, F. DE A. Q. O papel do Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF-alfa) no processo de erosão óssea presente no colesteatoma adquirido da orelha média. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 73, n. 1, p. 123–127, fev. 2007.
- VOET, S. et al. A20 critically controls microglia activation and inhibits inflammasome-dependent neuroinflammation. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 2036, 23 maio 2018.
- VOET, S. et al. Inflammasomes in neuroinflammatory and neurodegenerative diseases. **EMBO molecular medicine**, v. 11, n. 6, p. e10248, jun. 2019.
- VOSS, M. W. et al. Neurobiological markers of exercise-related brain plasticity in older adults. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 28, p. 90–99, fev. 2013.
- WAAGE, A. et al. The complex pattern of cytokines in serum from patients with meningococcal septic shock. Association between interleukin 6, interleukin 1, and fatal outcome. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 169, n. 1, p. 333–338, 1 jan. 1989.
- WAJANT, H.; PFIZENMAIER, K.; SCHEURICH, P. Tumor necrosis factor signaling. **Cell Death and Differentiation**, v. 10, n. 1, p. 45–65, jan. 2003.
- WALTER, J. The Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 2: A Molecular Link of Neuroinflammation and Neurodegenerative Diseases. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 291, n. 9, p. 4334–4341, 26 fev. 2016.
- WANG, D. et al. Evidence for a pathogenetic role of interleukin-18 in cutaneous lupus erythematosus. **Arthritis and Rheumatism**, v. 58, n. 10, p. 3205–3215, out. 2008.

- WAUTIER, M. P. et al. Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, v. 280, n. 5, p. E685-694, maio 2001.
- WEBER, C. et al. Differential chemokine receptor expression and function in human monocyte subpopulations. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 67, n. 5, p. 699-704, maio 2000.
- WEBER, C. et al. Specialized roles of the chemokine receptors CCR1 and CCR5 in the recruitment of monocytes and T(H)1-like/CD45RO(+) T cells. **Blood**, v. 97, n. 4, p. 1144-1146, 15 fev. 2001.
- WHITE, G. E.; GREAVES, D. R. Fractalkine: A Survivor's Guide: Chemokines as Antiapoptotic Mediators. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 32, n. 3, p. 589-594, mar. 2012.
- WIESMANN, C.; DE VOS, A. M. Nerve growth factor: structure and function. **Cellular and molecular life sciences: CMLS**, v. 58, n. 5-6, p. 748-759, maio 2001.
- WITTMANN, M.; MACDONALD, A.; RENNE, J. IL-18 and skin inflammation. **Autoimmunity Reviews**, v. 9, n. 1, p. 45-48, set. 2009.
- WONG, K. L. et al. Gene expression profiling reveals the defining features of the classical, intermediate, and nonclassical human monocyte subsets. **Blood**, v. 118, n. 5, p. e16-31, 4 ago. 2011.
- WOSIK, K. et al. Death receptor expression and function at the human blood brain barrier. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 259, n. 1-2, p. 53-60, 15 ago. 2007.
- WYCUFF, D. R.; GOFF, M. D.; MARRIOTT, S. J. Identification of an initiator-like element within the HTLV-I promoter. **Virology**, v. 280, n. 1, p. 72-79, 1 fev. 2001.
- XU, C.-J.; WANG, J.-L.; JIN, W.-L. The Emerging Therapeutic Role of NGF in Alzheimer's Disease. **Neurochemical Research**, v. 41, n. 6, p. 1211-1218, jun. 2016.
- YAGHOUTI, N. et al. Role of Receptors for Advanced Glycation End Products and High-Mobility Group Box 1 in the Outcome of Human T Cell Lymphotropic Type 1 Infection. **Viral Immunology**, v. 32, n. 2, p. 89-94, 2019.
- YAMADA, K.; MIZUNO, M.; NABESHIMA, T. Role for brain-derived neurotrophic factor in learning and memory. **Life Sciences**, v. 70, n. 7, p. 735-744, jan. 2002.
- YAMAGISHI, S. et al. Positive association between serum levels of advanced glycation end products and the soluble form of receptor for advanced glycation end products in nondiabetic subjects. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 55, n. 9, p. 1227-1231, set. 2006.
- YAMAGISHI, S.; IMAIZUMI, T. Serum levels of soluble form of receptor for advanced glycation end products (sRAGE) may reflect tissue RAGE expression in diabetes. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 27, n. 6, p. e32; author reply e33-34, jun. 2007.
- YAMANO, Y. et al. Virus-induced dysfunction of CD4+CD25+ T cells in patients with HTLV-I-associated neuroimmunological disease. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 115, n. 5, p. 1361-1368, maio 2005.

YAMASAKI, K. et al. Cloning and expression of the human interleukin-6 (BSF-2/IFN beta 2) receptor. **Science (New York, N.Y.)**, v. 241, n. 4867, p. 825–828, 12 ago. 1988.

YAN, S. F. et al. Tempering the wrath of RAGE: an emerging therapeutic strategy against diabetic complications, neurodegeneration, and inflammation. **Annals of Medicine**, v. 41, n. 6, p. 408–422, 2009.

YONEKURA, H. et al. Novel splice variants of the receptor for advanced glycation end-products expressed in human vascular endothelial cells and pericytes, and their putative roles in diabetes-induced vascular injury. **Biochemical Journal**, v. 370, n. 3, p. 1097–1109, 15 mar. 2003.

ZHANG, C.-G. et al. Tax is involved in up-regulation of HMGB1 expression levels by interaction with C/EBP. **Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP**, v. 14, n. 1, p. 359–365, 2013.

ZHANG, J. et al. Dynamic changes of serum soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1) reflect sepsis severity and can predict prognosis: a prospective study. **BMC infectious diseases**, v. 11, p. 53, 1 mar. 2011.

ZHAO, T. et al. Human T-cell leukemia virus type 1 bZIP factor selectively suppresses the classical pathway of NF-kappaB. **Blood**, v. 113, n. 12, p. 2755–2764, 19 mar. 2009.

ZHAO, T. et al. HTLV-1 bZIP factor enhances TGF- $\beta$  signaling through p300 coactivator. **Blood**, v. 118, n. 7, p. 1865–1876, 18 ago. 2011.

ZHI, H. et al. NF- $\kappa$ B hyper-activation by HTLV-1 tax induces cellular senescence, but can be alleviated by the viral anti-sense protein HBZ. **PLoS pathogens**, v. 7, n. 4, p. e1002025, abr. 2011.

ZHONG, L.; CHEN, X.-F. The Emerging Roles and Therapeutic Potential of Soluble TREM2 in Alzheimer's Disease. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 11, p. 328, 2019.

ZIEGLER-HEITBROCK, L. et al. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. **Blood**, v. 116, n. 16, p. e74-80, 21 out. 2010.

ZOZULYA, S.; STRYER, L. Calcium-myristoyl protein switch. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 89, n. 23, p. 11569–11573, 1 dez. 1992.