



MACPro
Mestrado em
Análises Clínicas
Profissional

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS PROFISSIONAL

JAIRO FALCÃO RIBEIRO

**ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS EM PORTADORES DO VÍRUS
LINFOTRÓPICO T HUMANO TIPO 1**

BELÉM
2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS PROFISSIONAL

JAIRO FALCÃO RIBEIRO

**ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS EM PORTADORES DO VÍRUS
LINFOTRÓPICO T HUMANO TIPO 1**

Dissertação de Mestrado apresentada à banca examinadora como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Análises Clínicas do programa de pós-graduação em Análises Clínicas Profissional da Universidade Federal do Pará.

Orientadora: Profa. Dra. Maísa Silva de Sousa

BELÉM
2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Biblioteca prof. Dr. Habib Fraiha Neto. Belém, PA / UFPA

Ribeiro, Jairo Falcão

Alterações hematológicas em portadores do vírus linfotrópico T humano tipo 1 / Jairo Falcão Ribeiro; orientadora, Maísa Silva de Sousa. — Belém (PA): [s. n.], 2017.

75 f.: il.; 30 cm

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Núcleo de Medicina Tropical, Programa de Pós-graduação em Análises Clínicas Profissional da Universidade Federal do Pará, Belém (PA), 2017.

1. Vírus Linfotrópico de Células T Humanas Tipo 1. 2. HTVL – I (vírus) – Belém (PA). 3. HTVL – I (vírus) – Perfil hematológico. I. Sousa, Maísa Silva de, orient. II. Título.

CDD: 22. ed.: 616.9188

Elaboração: Diego Santos da Silva
Bibliotecário-Documentalista CRB2/593

JAIRO FALCÃO RIBEIRO

**ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS EM PORTADORES DO VÍRUS
LINFOTRÓPICO T HUMANO TIPO 1**

Dissertação de Mestrado apresentada à banca examinadora como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Análises Clínicas do programa de pós-graduação em Análises Clínicas Profissional da Universidade Federal do Pará.

Data da Defesa: 29/09/2017

Orientadora: Profª. Dra. Maísa Silva de Sousa
Núcleo de Medicina Tropical, UFPA

Banca Examinadora: Prof. Dr. José Alexandre Lemos
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Prof. Dr. Lacy Brito Junior
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Prof. Dr. José Ricardo Vieira
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Profª. Dra. Rita Mousinho (suplente)
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela força e saúde que dá para viver o dia a dia de minha vida.

Aos meus pais que foram essenciais para minha formação como homem e profissional.

Aos amigos do Laboratório de Biologia Molecular e Celular do Núcleo de Medicina Tropical por toda ajuda para a realização deste trabalho.

À minha orientadora, Profa. Dra. Máisa Silva de Sousa, pela ajuda na realização deste trabalho, além da paciência e dedicação que tem por todos seus orientados.

À Profa. Dra. Edna Aoba Yassui Ishikawa coordenadora do Laboratório de Biologia Molecular e Celular por permitir o desenvolvimento deste trabalho no laboratório.

Aos membros de avaliação deste trabalho que fazem parte da banca pela contribuição de opiniões que ajudaram no melhoramento e conclusão desta pesquisa.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis”.

José de Alencar

RESUMO

O vírus linfotrófico T humano tipo 1 (HTLV-1), isolado em 1980, é um vírus de progressão lenta, sendo considerado de baixa morbidade, está relacionado com algumas doenças com destaque para, Leucemia/Linfoma de células T do adulto, e com a Mielopatia crônica, ocorrendo em cerca de 5% dos casos de infecção pelo vírus. No Brasil estima-se que mais de 3 milhões de pessoas estejam infectadas pelo HTLV-1, evidenciando uma preocupação quanto a este dados, mostrando que existe regiões endêmicas quanto a infecção por este vírus. A existência de uma associação entre a infecção pelo HTLV-1 e desordens hematológicas trás a importância do acompanhamento hematológico através da realização do hemograma de pacientes infectados, tornando-se uma ferramenta para a avaliação de diversas situações como, por exemplo, no auxílio de um diagnóstico e na evolução de doenças hematológicas nos quadros infecciosos. O objetivo do trabalho foi estabelecer o perfil hematológico de portadores da infecção pelo HTLV-1 de Belém do Pará, descrevendo os parâmetros hematológicos em estudo, estimando a frequência de atipia linfocítica e associando o perfil hematológico com doenças e sintomas. Após o consentimento dos pacientes em participar do estudo, foram analisados dados hematológicos de 202 indivíduos sendo 87 indivíduos infectados pelo HTLV-1 e 115 indivíduos não infectados pelo HTLV-1, como grupo controle, sendo a maioria de familiares dos infectados. A Soroprevalência da infecção pelo HTLV-1 foi observada em 71,3% nos indivíduos de sexo feminino com predominância na faixa etária de mais de 50 anos (44,8%). A análise dos parâmetros hematológicos apresentou uma diferença significativa na contagem dos segmentados ($p=0,0303$) e eosinófilos ($p=0,0092$) nos portadores de HTLV-1. A atipia linfocítica foi um achado presente apenas nos portadores do HTLV-1 ($p=0,0001$). Não houve frequência alta na contagem dos leucócitos dos infectados pelo HTLV-1 não entre eles em relação a um aumento ou diminuição considerável. Conclui-se que a infecção por HTLV-1 se destaca nas mulheres acima de 50 anos. O perfil hematológico dos infectados demonstra uma redução de segmentados, um aumento de eosinófilos e presença de linfócitos atípicos. O perfil hematológico do portador de HTLV-1 deve ser sempre avaliado para identificar precocemente algumas doenças associadas à infecção.

Palavras-chave: Infecções por HTLV-1. Exames de Sangue. Células Sanguíneas. Vigilância em Saúde Pública.

ABSTRACT

The Human T Lymphotropic Virus type 1 (HTLV-1), isolated in 1980, is related to T-cell leukemia/ lymphoma in adulthood, a type of lymphoproliferative disease, and chronic HTLV-1-associated myelopathy, a disease which causes paralysis of the lower limbs, which occur in about 5% of this viral infection. In most cases, HTLV-1 is a slow-progressing virus, considered a virus of low morbidity. In Brazil, it is estimated that more than 3 million people are infected with HTLV-1, evidencing a concern regarding this data, showing that there are endemic regions regarding the infection by this virus. The existence of an association between HTLV-1 infection and haematological disorders leads to the importance of hematological follow-up by performing the hemogram of infected patients, becoming a tool for the evaluation of several situations, such as for the aid of a diagnosis and for the evolution of hematological diseases in infectious conditions. The aim of this study was to establish the hematological profile of patients with HTLV-1 infection in Belém do Pará, describing the hematological parameters under study, estimating the frequency of lymphocytic atypia and associating the hematological profile with diseases and symptoms. Hematologic data from 202 individuals were analyzed, including 87 HTLV-1 infected individuals and 115 non-HTLV-1 infected individuals as a control group, composed, at a great part, by relatives of the infecteds. The seroprevalence of HTLV-1 infection was observed in 71.3% of female individuals, with predominance in the group older than 50 years (44.8%). The analysis of haematological parameters showed a significant difference in the counts of the segmented cells ($p = 0.0303$) and eosinophils ($p = 0.0092$) in HTLV-1 carriers. Lymphocytic atypia was a finding present only in HTLV-1 carriers ($p = 0.0001$). There was no high frequency in the leukocyte counts of those infected by HTLV-1 not among them in relation to a significant increase or decrease. It is concluded that HTLV-1 infection is prominent in women over 50 years old. The hematological profile of those infected shows a reduction of segmented cells, an increase of eosinophils and the presence of atypical lymphocytes. The hematological profile of the HTLV-1 carrier should always be evaluated to identify early some diseases associated with the infection.

Key words: HTLV-1 Infections. Hematologic Tests. Blood Cells. Public Health Surveillance.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1- Forma de transmissão do HTLV | 10 |
| Figura 2- Estrutura morfológica do HTLV | 14 |
| Figura 3- Proteínas do HTLV e suas funções | 15 |
| Figura 4- Representação esquemática do genoma do HTLV (modificada) | 17 |
| Figura 5- Funções das proteínas regulatórias e acessórias do HTLV | 18 |
| Figura 6- Replicação do HTLV | 19 |
| Figura 7- Linfócitos atípicos em <i>flower cell</i> | 24 |
| Figura 8- Linfócitos atípicos apresentando morfologia irregular em relação núcleo/citoplasma | 24 |
| Figura 9- Linfócitos atípicos com citoplasma amebóide | 26 |
| Figura 10- Distribuição entre o sexo pacientes positivos para HTLV-1 | 41 |
| Figura 11- Distribuição de eosinófilos em pacientes negativos e positivos para HTLV-1 | 42 |
| Figura 12- Distribuição de segmentados em pacientes negativos e positivos para HTLV-1 | 42 |
| Figura 13- Distribuição das idades entre indivíduos HTLV-1 positivos | 43 |
| Figura 14- Distribuição de linfocitose entre indivíduos negativos e positivos na população em estudo | 45 |
| Figura 15- Linfócito atípico trilobulado, imagem obtida através da visualização microscópica, paciente positivo para HTLV-1 | 45 |
| Figura 16- Linfócito atípico com diâmetro grande e citoplasma abundante (superior esquerda) | 46 |
| Figura 17- Linfócito atípico bilobulado | 46 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1- Distribuição da infecção do HTLV-1 quanto ao sexo | 40 |
| Tabela 2- Perfil: Idade e Parâmetros hematológicos | 41 |
| Tabela 3- Distribuição das idades na população em estudo por faixa etária de acordo com a presença da infecção por HTLV-1 e o gênero | 43 |
| Tabela 4- Análise quanto ao número de leucócitos de casos com e sem infecção por HTLV-1 | 44 |
| Tabela 5- Análise da frequência na contagem de linfócitos na população em estudo | 44 |
| Tabela 6- Análise da frequência da população em estudo em relação a ausência ou presença de linfócitos atípicos | 45 |
| Tabela 7- Análise da frequência de indivíduos negativos e positivos para HTLV1 com presença de eosinófilos | 47 |
| Tabela 8- Análise da concentração de hemoglobina na população em estudo | 47 |
| Tabela 9- Análise da frequência de pacientes em relação a contagem de plaquetas | 48 |
| Tabela 10- Achados clínicos dos pacientes positivos para HTLV-1 associados a alterações hematológicas | 48 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---------------|---|
| CHCM | Concentração hemoglobínica corpuscular média |
| CTL | Linfócitos T Citotóxicos |
| DHL | Desidrogenase láctica |
| DIH | Dermatite infecciosa associada ao HTLV-1 |
| DNA | Ácido desoxirribonucleico |
| DSTs | Doenças Sexualmente Transmissíveis |
| EDTA | Ácido etilenodiamino tetra-acético |
| HCM | Hemoglobina corpuscular média |
| HIV | Vírus da imunodeficiência humana |
| HTLV | Vírus linfotrópico T humano |
| HTLV-1 | Vírus linfotrópico T humano tipo 1 |
| HTLV-2 | Vírus linfotrópico T humano tipo 2 |
| HTLV-3 | Vírus linfotrópico T humano tipo 3 |
| HTLV-4 | Vírus linfotrópico T humano tipo 4 |
| IFN- α | Interferons α |
| IFN- β | Interferons β |
| IL-2 | Interleucina2 |
| LBMC | Laboratório de Biologia Molecular e Celular |
| LLTA | Leucemia/linfoma de células T do adulto |
| LTR | Terminações longas repetidas |
| NMT | Núcleo de Medicina Tropical |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| PCR | Reação em cadeia mediada pela polimerase |
| PET/MAH | Paraparesia espástica tropical/mielopatia associada ao HTLV |
| PTLV | Vírus T linfotrópico de primatas |
| RDW | Amplitude de distribuição dos eritrócitos |
| RNA | Ácido Ribonucléico |
| STLV | Vírus linfotrópico T Símios |
| TCLE | Termo de Consentimento Livre e Esclarecido |
| TNF- α | Fator de necrose tumoral α |
| UFPA | Universidade Federal do Pará |
| VCM | Volume corpuscular médio |

Sumário

| | |
|---|-----------|
| 1- INTRODUÇÃO | 6 |
| 2- REVISÃO DA LITERATURA | 8 |
| 2.1- A descoberta do HTLV (Vírus Linfotrópico T Humano) | 8 |
| 2.2- Vias de transmissão do HTLV | 9 |
| 2.3- Epidemiologia do HTLV | 11 |
| 2.4- Morfologia e estrutura do HTLV | 13 |
| 2.5- Estrutura genômica do HTLV | 16 |
| 2.6- Ciclo de infecção e propagação do HTLV | 19 |
| 2.7- O HTLV e a resposta imune | 21 |
| 2.8- Doenças associadas ao HTLV | 25 |
| 2.9- Diagnóstico laboratorial do HTLV | 30 |
| 3- JUSTIFICATIVA | 31 |
| 4- OBJETIVOS | 33 |
| 4.1- Objetivo Geral | 33 |
| 4.2- Objetivos específicos | 33 |
| 5- MATERIAL E MÉTODOS | 34 |
| 5.1- Localização do estudo | 34 |
| 5.2- População, amostra e período do estudo | 34 |
| 5.2.1- Critérios de Inclusão | 34 |
| 5.2.2- Critérios de Exclusão | 35 |
| 5.3- Investigação epidemiológica | 35 |
| 5.4- Coleta de sangue e processamento das amostras | 35 |
| 5.5- Realização do hemograma | 35 |
| 5.6- Coloração do esfregaço sanguíneo e contagem diferencial dos leucócitos | 36 |
| 5.7- Pesquisa de células em flor (<i>Flower cells</i>) e outros linfócitos atípicos | 36 |
| 5.7.1 Recomendações do ICSH (Conselho Internacional de Padronização em Hematologia) para a Padronização da Nomenclatura e da Gradação das Alterações Morfológicas no Sangue Periférico. | 37 |

| | |
|--|-----------|
| 5.8- Ensaio imunoenzimático para HTLV | 37 |
| 5.9- Extração do DNA | 37 |
| 5.10- Amplificação do gene da β -globina humana | 38 |
| 5.11- Digestão enzimática para caracterização do tipo de HTLV | 38 |
| 5.12- Análises estatísticas | 39 |
| | |
| 6- RESULTADOS | 40 |
| | |
| 7- DISCUSSÃO | 49 |
| | |
| 8- CONCLUSÃO | 54 |
| | |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 55 |
| | |
| APÊNDICE 1- Termo de consentimento livre esclarecimento (TCLE) | 65 |
| APÊNDICE 2- Questionário ficha clínico- epidemiológico | 66 |
| ANEXO- Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa NMT/UFPA | 67 |

1 INTRODUÇÃO

O vírus linfotrófico T humano do tipo 1 (HTLV-1) é um retrovírus que altera funcionalmente células importantes do sistema imunológico. A infecção pelo HTLV-1 merece especial atenção em nosso país, particularmente no contexto das doenças emergentes.

O HTLV possui características epidemiológicas e patológicas específicas. HTLV tem características distintas da infecção pelo HIV/Aids e é um problema de saúde pública negligenciado pela comunidade acadêmica e pela sociedade civil, incluindo o poder público. Pouco se sabe sobre a real dimensão epidemiológica do HTLV, até porque pouco se estuda sobre o assunto (ZIHLMANN et al., 2012). Embora a maior parte dos indivíduos infectados por HTLV-1 ou HTLV-2 permaneça assintomática por toda a vida, sabe-se que o HTLV-1 é reconhecidamente o agente causal de pelo menos duas síndromes clínicas: a leucemia/linfoma de células T do adulto (LLTA) e uma mielopatia crônica, conhecida como paraparesia espástica tropical ou mielopatia associada ao HTLV-1 (PET/MAH) (PROIETTI, 2015).

O HTLV infecta os linfócitos, que são células de defesa do organismo. A forma de infecção acontece por meio de relação sexual desprotegida com pessoa infectada, contato sanguíneo e compartilhamento de agulhas durante o uso de drogas. Entretanto, em razão das características virológicas da infecção, considera-se que a principal forma de transmissão ocorra de mãe para filho, especialmente durante o aleitamento materno, conhecida como transmissão vertical. A importância de se adotar medidas para o melhor e mais precoce diagnóstico é devido à gravidade e possíveis consequências que as doenças supostamente causadas pelo HTLV-1 podem acarretar; tanto as doenças hematológicas quanto as neurológicas. Com o diagnóstico mais preciso e mais rápido, pode-se evitar complicações das mesmas ou até mesmo prevenir novas manifestações de outras origens (SATO e MATSUOKA, 2010).

O hemograma é um exame que avalia as células sanguíneas do paciente. Pode ajudar a identificar uma série de doenças como anemias, leucemias, alergias, infecções bacterianas e virais, entre outras. O hemograma fornece vários elementos que juntamente com outros exames, sintomas, esclarecem qual possível doença pode estar presente (LORENZI et al., 2003).

Dentro dos leucócitos encontram-se os linfócitos, células responsáveis pela produção de anticorpos para combater as infecções e os tumores. Quando o nível de

linfócitos atinge mais de 40% em um hemograma, sofremos de linfocitose. A linfocitose pode ocorrer devido a um processo inflamatório ou infeccioso, como por exemplo, a uma infecção viral (BAIN,2007).

Em resposta aos estímulos antigênicos, os linfócitos podem aumentar em tamanho e apresentar cromatina mais frouxa e citoplasma basofílico, evidenciando a produção de anticorpos. A maioria destas células se localiza em tecidos linfóides periféricos, mas algumas podem alcançar a circulação. Na infecção viral o exame de sangue muitas vezes revela uma contagem de leucócitos mais alta do que o normal e glóbulos brancos de aparência estranha, chamados de linfócitos atípicos, são vistos quando o sangue é examinado em um microscópio (HOFFBRAND; MOSS, 2013).

No sangue periférico de pacientes infectados pelo HTLV-1 pode-se encontrar elevado número de linfócitos atípicos, exibindo núcleos multilobulados. O exame morfológico das células linfóides muitas vezes é o primeiro sinal a despertar para o diagnóstico da LLTA. Os linfócitos atípicos são caracterizados por um acentuado pleomorfismo celular, irregularidades nucleares e condensação de cromatina nuclear variável. As células mais atípicas da LLTA são linfócitos de médio tamanho com núcleos polilobulados denominadas de *flower cell* (POMBO-DE-OLIVEIRA et al., 1995).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A descoberta do HTLV (Vírus Linfotrópico T Humano)

Os vírus linfotrópico T humano do tipo 1 (HTLV-1) e tipo 2 (HTLV-2), foram os primeiros retrovírus humanos descobertos, início da década de 1980, pertencem à família Retroviridae, à subfamília Orthoretrovirinae e ao gênero Deltaretrovirus (PROIETTI, 2015).

O HTLV-1 o primeiro retrovírus humano a ser isolado, pelo grupo liderado por Robert Gallo, a partir de uma linhagem de células linfoblastóides, obtida de um paciente com linfoma cutâneo de células T nos EUA, assim como em pacientes no Japão, com quadros de leucemia/linfoma de células T de adultos, LLTA (adult T-cell leukemia/lymphoma) (POIESZ et al., 1980; YOSHIDA et al., 1984).

No ano de 1982, foi isolado um segundo tipo de HTLV, a partir de um paciente com tricoleucemia (leucemia de células T pilosas) denominado de vírus linfotrópico de células T humano 2 (HTLV-2) (KALYANARAMAN et al., 1981).

Em 2005, foram descritos dois novos tipos, o HTLV-3 e HTLV-4, em populações do sul de Camarões que têm contatos com primatas não-humanos (WOLFE et al., 2005, CALATTINI et al., 2005). Ainda não se sabe se os HTLV-3 e 4 podem ser transmitidos entre seres humanos e se são capazes de desencadear doenças em seus portadores, como ocorre com os outros HTLV-1 e HTLV-2 (WOLFE et al., 2005).

Apesar das controvérsias em relação à origem e o tempo de circulação do HTLV na população, o isolamento de cepas mais divergentes do tipo 1 e tipo 2 de espécies símias, sugere que o vírus progenitor se originou de um primata não humano. Dada a importância desses vírus em produzir doenças (tanto em humanos quanto em símios, como a leucemia) o nome PTLV (vírus linfotrópico de células T de primatas) foi proposto para agrupar vírus relacionados que tem como hospedeiros primatas humanos (HTLV) e não humanos (STLV- Vírus linfotrópicos T de Símios). Alguns estudos sugerem que o HTLV tenha emergido do contato entre humanos e primatas não-humanos infectados (SONG et al., 1994; IMBRAHIM, DE THÊ e GESSAIN, 1994).

A África é o único continente onde todos os diferentes PTLVs têm sido encontrados (HTLV 1-4 e seus correspondentes símios STLV 1-3). Sendo assim, muitos advogam que um ancestral comum a todos os PTLVs se originou neste continente. SLATTERY e colaboradores em 1999, utilizando análises filogenéticas, sugerem que o

ancestral do HTLV-2 tenha origem africana, mas o do HTLV-1, entretanto, tenha surgido na Ásia (SLATTERYET et al., 1999).

No Brasil, o HTLV-1 foi primeiramente descrito por KITAGAWA et al. (1986) em uma comunidade japonesa residente em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, com soroprevalência de 13%, sendo a maioria dos indivíduos oriunda de Okinawa, sul do Japão. É possível que os vírus tenham chegado ao país principalmente pelo tráfico de escravos vindos da África (HTLV-1) (ALCÂNTARA, 2003); ainda, a imigração japonesa há algumas décadas pode ter contribuído para o aumento da prevalência.

No Pará foi observado uma soroprevalência para HTLV-1 de 0,8% em uma comunidade amazônica de origem africana relativamente isolada (ANDRADA-SERPA et al., 1988). Uma investigação sorológica para HTLV foi realizada em famílias, em três comunidades ribeirinhas do estado do Pará, atendidas entre fevereiro de 2009 e junho de 2010, sendo estas, as comunidade de São Pedro, comunidade de Santa Maria e a comunidade do Furo do Aurá, correspondendo a um total de 175 indivíduos. A presença de anticorpos anti-HTLV-1/2 foi identificada em duas das 175 amostras analisadas, caracterizando uma prevalência de 1,14%. Os dois indivíduos soropositivos tinham idade de 20 e 65 anos, sendo do sexo feminino e masculino, respectivamente (FERREIRA et al., 2010).

2.2 Vias de transmissão do HTLV

Suas formas de transmissão constituem em um problema de saúde pública, ocorrendo por três vias: horizontal, vertical e parenteral (MATSUOKA; YASUNAGA, 2013)

A transmissão horizontal, dada através da relação sexual desprotegida com uma pessoa infectada, ocorre, mais frequentemente, do homem para a mulher, de modo que a infecção revela-se mais elevada em mulheres (ISHIDA; YAMAMOTO; OMOTO, 1985). Pressupõe-se que a contaminação adquirida através da atividade sexual seja consequente dos linfócitos infectados presentes no sêmen ou no conteúdo vaginal (NAKANO et al., 1994).

O aleitamento materno é a principal via de infecção vertical, o risco está associado com variáveis individuais, como, por exemplo, o tempo de amamentação (FUJITO; NAGATA, 2000) (FIGURA 1). A transmissão intrauterina ou no período

periparto ocorre em menos de 5% dos casos (KINOSHITA et al 1984; ANDO et al., 2003).

Os altos níveis de linfócitos infectados pelo HTLV-1 e a expressão da proteína denominada tax são marcadores importantes na avaliação da transmissão materna. A proteína tax, que ativa o processo de transcrição do LTR viral, exerce papel importante na replicação do vírus e na transformação dos linfócitos T CD4+. Dessa forma, a tax ativa a expressão do HTLV-1 nos linfócitos do leite materno, propiciando a transmissão mãe-filho (TAKAHASHI et al., 1991; HINO et al., 1994).

A transmissão parenteral ocorre através da transfusão de sangue e seus derivados, e pela contaminação ou compartilhamento de agulhas ou seringas contaminadas com sangue (KINOSHITA et al 1984; ANDO et al., 1987).

Outra característica dessa infecção é o aumento da soroprevalência com o avanço da idade, possível explicação para esse fenômeno seria o acúmulo de indivíduos soroconvertidos às novas infecções pelo HTLV-1 ao longo do tempo (ERICHSEN et al., 2009).

FIGURA 1: Formas de transmissão do HTLV

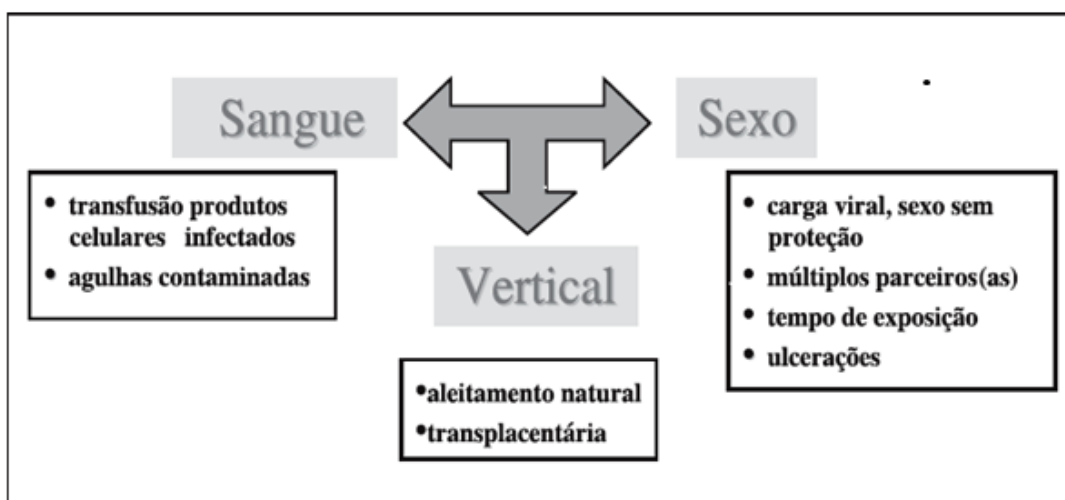


FIGURA 1- Forma de Transmissão do HTLV

Fonte: <http://www.novafisio.com.br>

2.3 Epidemiologia do HTLV

Grande parte dos trabalhos sobre a epidemiologia do HTLV consiste em estudos de soroprevalência em doadores de sangue ou grupos específicos (indivíduos com doenças hematológicas ou neurológicas, gestante, familiares de pessoas portadoras do vírus, usuários de drogas injetáveis e etc) principalmente nos países da América do sul, como o Brasil (EDLICH et al., 2003; PROIETTI et al., 2005).

Dados epidemiológicos mostram que a infecção pelo HTLV tem distribuição mundial (DE THE; KAZANJI, 1996). Estima-se que a infecção pelo vírus HTLV-1 representa uma epidemia global. As prevalências variam de acordo com a área geográfica estudada, com a composição sociodemográfica da população e com os comportamentos de risco individuais (CATALAN-SOARES et al., 2005). Estes fatores determinam uma variação espacial das taxas de prevalência dentro de cada área específica (MANNNS et al., 1999).

O número exato de infectados pelo HTLV no mundo não é conhecido, mas avalia-se que cerca de 20 milhões de pessoas estejam infectadas pelo HTLV no mundo (VIANA et al., 2014). As principais áreas endêmicas da infecção compreendem África, América do Sul e Central, Caribe, Japão, Melanésia e Oriente Médio. Na América do Sul e Central se destacam Argentina, Bolívia, Brasil, Chile Colômbia, Honduras, Panamá, Peru e Venezuela. A América do Sul, como um todo, representa a maior área endêmica para a infecção pelo HTLV-1. Alguns grupos de origem africana no Peru, Colômbia e Guiana Francesa têm uma prevalência elevada da infecção (GESSAIN; CASSAR, 2012).

A primeira área endêmica identificada para o vírus HTLV-1 foi o Sudeste e Sul do Japão (Kyushu, Shikoku e nas ilhas da cadeia Ryushu), onde a prevalência entre homens doadores de sangue foi de 1,4% e para mulheres de 2,2% (HINUMA et al., 2000; KAJIYAMA et al., 1986). O sudoeste do Japão tem uma prevalência elevada da infecção, com regiões onde a mesma atinge até 37% da população adulta (Goto et al., 1997). Estudo com dados mais atuais, realizado neste país, em doadores de sangue assintomáticos, apontou para uma queda na prevalência da infecção pelo HTLV-1. A taxa de prevalência estimada foi de 0,66% nos homens e 1,02% nas mulheres, com pico nos indivíduos com idade em torno de 70 anos (SATAKE et al., 2012).

O Caribe também é um foco endêmico, apresentando grande parte dos pacientes com LLTA (BLATTNER et al., 1990; EDLICH, 2000). Na Jamaica, Murphy

e colaboradores encontraram uma prevalência variável com a idade e sexo, crescendo de 1,7% nos homens entre 10-19 anos, para 9,1% naqueles com 70 anos ou mais, e de 1,9% nas mulheres entre 10-19 anos, para 17,4% nas que tinham mais de 70 anos de idade (MURPHY et al., 1996).

No oeste da África, uma prevalência de 1,5% foi encontrada na República do Benim, sendo maior entre as mulheres, comparado aos homens (2% contra 1%). A maior prevalência foi detectada na região nordeste do país, na província de Atakora (5,4%) (DUMAS et al., 1991). Na República do Gana, também no oeste africano, uma prevalência de 0,5% foi encontrada em doadores voluntários de sangue (SARKODIE et al., 2001). Nas ilhas da Melanésia também tem sido descrita uma prevalência elevada do vírus. No Iran, na região leste do país foi descrita uma prevalência elevada. Sorologia positiva foi detectada em 7,2% dos indivíduos testados (HEDAYATI-MOGHADDAM et al., 2011)

A Europa representa cerca de 400 milhões de pessoas infectadas pelo HTLV-1. Diversos estudos epidemiológicos têm sido realizados neste continente, principalmente em doadores de sangue e em mulheres grávidas (PLUMELLE et al., 1993 ; MARTIN et al., 2010 ; CEESAY et al., 2012). Na Europa, a Roménia parece representar uma região endêmica para o HTLV-1. A origem desta repartição geográfica ou melhor étnico intrigante não é bem compreendida, mas está provavelmente ligado a um efeito fundador, em alguns grupos, seguido pela persistência de uma elevada taxa de transmissão viral (PAUN et al., 1994; VEELKEN et al., 1996).

Estudos de prevalência em grupos específicos confirmam a presença do HTLV-1 e HTLV-2 em todo o Brasil, a taxa de prevalência do HTLV-1 é de 0,48% (CATALAN- SOARES et al., 2005).

Em sua última publicação em 2015 por um grupo de estudos da Fundação Hemominas, estima que o Brasil possua o maior número absoluto de indivíduos infectados no mundo, com cerca de 2,5 milhões de infectados. Em pesquisa realizada pelo mesmo grupo, sobre a prevalência em doadores de sangue de todo o país, já citada neste trabalho, o Pará foi posicionado entre os três primeiros estados de maior prevalência da infecção por HTLV nos relatos sobre a epidemiologia do vírus no Brasil com prevalência de 0,91 % (CATALAN-SOARES et al., 2005). A presença do HTLV-2 no Brasil contém a importância particular na Amazônia brasileira. O vírus é endêmico em inúmeras comunidades indígenas, principalmente entre índios da etnia Kayapó, Munduruku, Tyrió e Arara do Laranjal, em prevalências que variam entre 8 e 37%

(ISHAK et al., 1995). Apresentando também um subtipo molecular de HTLV-2 diferente dos demais já descritos (ISHAK et al., 1995; VALLINOTO et al., 2002)

Em doadores de sangue observa-se um gradiente de indivíduos infectados, com taxas mais elevadas nas regiões norte/nordeste e as mais baixas na região sul. Salvador e São Luiz são as cidades que apresentam as maiores prevalências em doadores de sangue no território Nacional (GALVÃO-CASTRO et al., 1997).

Na infância, a soropositividade para o HTLV-1 é muito baixa e aumenta a partir da adolescência e início da idade adulta. Esta infecção caracteriza-se, também, por ser mais frequente em mulheres e aumentar com a idade (DOURADO et al., 2003).

2.4 Morfologia e estrutura do HTLV

Todos os vírus mesmo os mais complexos, dependem da célula hospedeira para seu funcionamento e sua existência básica. Os Retrovírus são vírus RNA que contém a enzima transcriptase reversa, com a qual produz uma cópia de DNA a partir do seu genoma de RNA e assim, ao se incorporar ao genoma da célula, produz então, as proteínas virais estruturais. O HTLV-1 é um retrovírus que altera funcionalmente células que são importantes para a imunorregulação do sistema imunológico (JOHNSON et al. 2001, POIESZ et al. 2003).

O HTLV possui uma estrutura morfológica similar a de outros retrovírus. O vírus apresenta uma construção complexa que consiste de um envelope, um nucleocapsídeo (p15) e um capsídeo (p24) (FIGURA 2). A morfologia do vírus é esférica, medindo de 80 a 100 nanômetros (nm) de diâmetro (FRANCHINI et al., 1995). As partículas virais são constituídas de envelope lipoprotéico, capsídeo icosaédrico e genoma de RNA. O envelope viral é uma bicamada lipídica, derivada da membrana da célula hospedeira, com proteínas virais de superfície (gp46), transmembrana (gp21) e matriz (p19) (FIGURA 3). O complexo ribonucleoprotéico com as enzimas protease (PR), transcriptase reversa (RT) e integrase (IN) encontra-se associado ao capsídeo (VAN DOOREN, 2005).

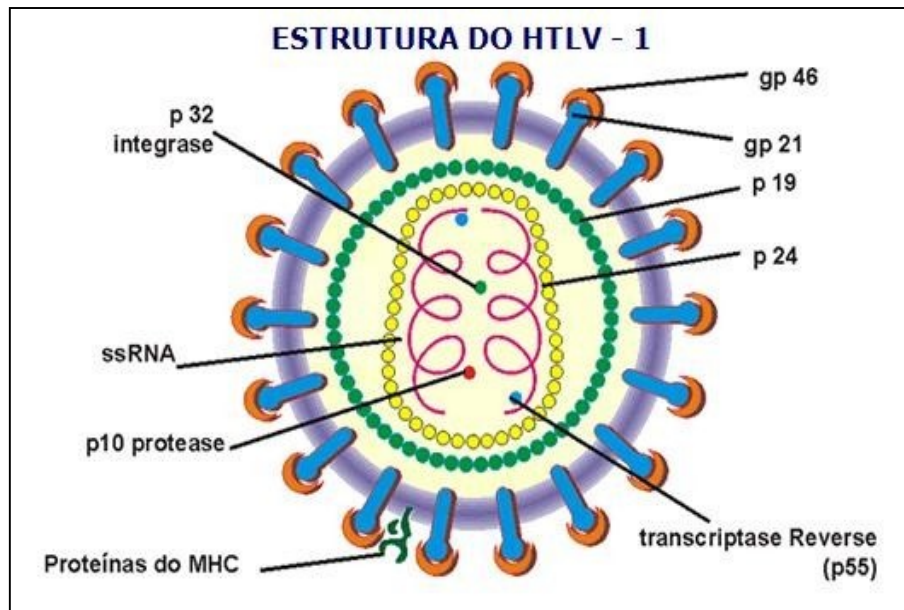


FIGURA 2 - Estrutura morfológica do HTLV-1

Fonte: <http://www.dstunifal.com>

FIGURA 3 – Proteínas do HTLV-1 e suas funções

| HTLV-1 proteínas e glicoproteínas | Funções |
|---|---|
| Proteínas Envelopadas (codificadas por <i>env</i>) | |
| Proteína de superfície (gp46) | Liga-se ao receptor da célula hospedeira. |
| Glicoproteína transmembrana (gp21) | Ancora glicoproteínas de superfície ao vírus |
| Proteínas estruturais (codificadas por <i>gag</i>) | |
| Proteína matriz (p19) | Organizam componentes virais na membrana celular interna. |
| Proteína Capsídea (p24) | Protege RNA viral e proteínas (cápside central) |
| Proteína Nucleocapsídica (p15) | Proteína que liga os ácidos nucleicos |
| Proteínas Funcionais (codificadas por <i>pol</i>) | |
| Protease (p14) | Cliva poliproteínas a componentes funcionais |
| Transcriptase reversa (p95) | Converte RNA de fita única em DNA de fita dupla |
| Integrase | Facilita a inserção do provírus no DNA da célula hospedeira |
| Proteínas reguladoras (codificadas por <i>pX</i>) | |
| Tax (p40) | Ativa a transcrição do provírus. Ativa a transcrição de uma ampla variedade de genes do hospedeiro. Desregula fatores reguladores do ciclo celular e imortaliza as células T. |
| Rex | Modula o transporte de RNA viral: exporta mRNAs do núcleo não combinados e combinados uma única vez |
| p12 | Replicação viral e ativação de células T |
| p27 | Desconhecida |
| p13 | Interfere na proliferação e transformação celular, promove apoptose e seu alvo é a mitocôndria. |
| p30 | Modula a transcrição |
| HBZ (transcrita por fita negativa) | Baixa regulação da transcrição viral e suporte à proliferação de células ATL |

Fonte: www.hemominas.mg.gov.br/doacao/aprenda/htlv-e-doencas-associadas

2.5 Estrutura genômica do HTLV

O genoma viral tem um tamanho de nove mil pares de bases (9kb) que consiste em uma estrutura dîmera de RNA fita simples com polaridade positiva e é dividido em várias regiões, como: LTR, gag, pol, env e pX . Em ambas as extremidades (5' e 3') se localizam as repetiçõe terminais longas (LTRs - long terminal repeats) que contêm a mesma organizaçõe estrutural de outros retrovírus, sendo subdivididas nas regiões U3, R e U5 que têm sequências idênticas e exercem função essencial na incorporaçõe do DNA proviral ao genoma da célula hospedeira, bem como na regulaçõe da transcriçõe de genes virais (GREEN & CHEN, 2001). As seqüências gag, pol e env representam genes que codificam as proteínas estruturais e enzimas importantes no processo de infecçõe da célula hospedeira e a regiõe pX, codifica as proteínas reguladoras do vírus (JOHNSON et al., 2001).

O HTLV-1 e o HTLV-2 diferenciam-se principalmente no gene pX, sendo, no entanto, semelhantes em cerca de 60% do genoma. Com propriedades biológicas semelhantes, agem infectando os linfócitos dos humanos, sendo que o tipo 1 tem tropismo preferencial por linfócitos T CD4+, enquanto o tipo 2 por linfócitos T CD8+. Ambos têm a capacidade de se integrar ao genoma da célula hospedeira e nesta forma recebem a denominaçõe de provírus (FRANCHINI, 1995).

O genoma do HTLV é constituído por 9323 nucleotídeos apresentando três regiões que são traduzidas: gag, pol e env (FIGURA 4). A regiõe pX não é encontrada em outros retrovírus e apresenta a capacidade de codificar duas proteínas regulatórias tax e rex. As duas extremidades do genoma são flanqueadas por terminaçõe longas repetidas (LTR), onde estão os promotores virais e outros elementos regulatórios que têm como principais funções, a transcriçõe reversa do RNA viral, a integraçõe do provírus no DNA celular e a regulaçõe de síntese do RNA viral (CANN; CHEN, 1996).

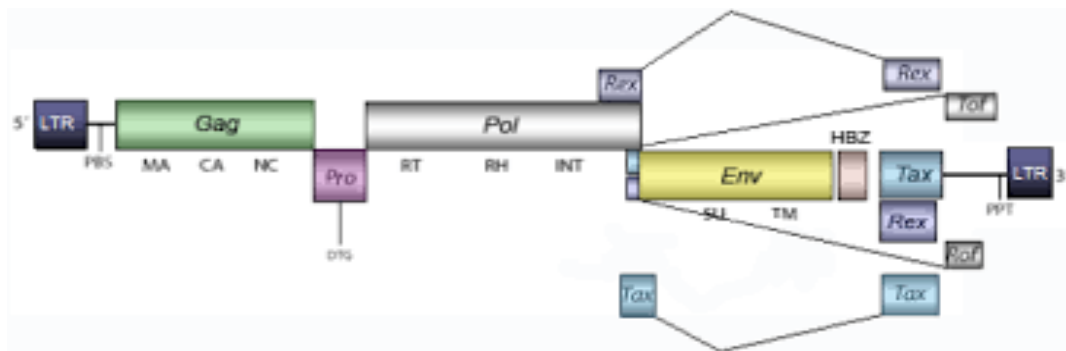


FIGURA 4- Representação esquemática do genoma do HTLV (modificada)

Fonte: <https://posstrictosensu.iptsp.ufg.br>

Entre a região env e 3'- LTR do genoma do HTLV -1 existe um gene denominado pX que codifica as proteínas Tax, Rex, HBZ, p12, p13, p30 e p21 relacionadas com a patogênese viral (KORALNIK et al., 1992; GAUDRAY et al., 2002; EDWARDS et al., 2011).

O vírus possui três regiões genômicas principais. A região gag, para proteínas estruturais, é produtora de um polipeptídeo que depois de clivado gera as proteínas p15, p24 e p19, que são proteínas do nucleocapsídeo, do capsídeo e da matriz, respectivamente. A região pol é codificadora de várias enzimas, como a protease, que cliva os polipeptídeos, a transcriptase reversa, que gera o DNA dupla fita a partir do RNA viral e a integrase, que integra o DNA viral no cromossoma da célula hospedeira. A região env, que codifica a glicoproteína de superfície gp46 e a glicoproteína transmembrana, gp21. A protease viral, é codificada pela região pro, localizada entre os genes gag e pol do genoma viral (NAM&HATANAKA 1986, HIRAMATSU et al., 1987).

Além dessas três regiões principais, existe ainda uma região adicional, a região pX, que contém quatro ORFs (Open Reading Frames), localizada entre a região env e a extremidade 3' do genoma, onde se encontram dois genes regulatórios, tax e rex (ORF IV e III, respectivamente). Estes genes são codificadores de duas proteínas regulatórias da transcrição, a proteína tax p40^{tax}, *Tof*, *Rofe* a proteína rex, p27^{rex} que são essenciais para a replicação viral (GOON et al., 2003). A proteína tax, através da interação com fatores da transcrição celular, ativa a transcrição não só do promotor viral, como também de vários elementos de genes celulares envolvidos na proliferação da célula hospedeira. A proteína rex é responsável pela exportação nuclear do RNA viral. Ainda na região pX (ORF I e II), quatro proteínas adicionais são codificadas: p12, p27, p13 e

p30 (FIGURA 5). Acreditava-se, inicialmente, que estas proteínas eram dispensáveis à replicação viral, porém, tem-se demonstrado que as mesmas são críticas para a infectividade viral e manutenção de altas cargas virais, ativação da célula hospedeira e regulação do gene da transcrição.

FIGURA 5 – Funções das proteínas regulatórias e acessórias do HTLV-1

| Proteínas virais | Função | Referência |
|--------------------------|--|--|
| Tax (p40) | Imortalização da célula Transativação da LTR Indução de vias de sinalização por NF- κ B, CREB, SRF e AP-1 Inativação de supressores de tumores Instabilidade cromossomal Indução de resposta imune por CTL | Akagi et al, 1995. Sodroski et al, 1994. Yao & Wigdahl, 2000; Jeang, 2001. Reid et al, 1993; Hangaishi et al, 1996. Jin et al, 1998. Kannagi et al, 2004. |
| Rex (p27) | Exportação nuclear de mRNAs unspliced ou single spliced | Hidaka et al, 1988. |
| p21^{Rex} | Ação antagonista contra Rex | Furukawa et al, 1991. |
| p30 | Inibição do transporte dos mRNAs Tax e Rex para o citoplasma Modulação transcricional viral pela interação com CBP e p300 | Nicot et al, 2004. Zhang et al, 2000. |
| p13 | Efeitos na mitocôndria e na proliferação celular | Ciminale et al, 1999; Nicot et al, 2004. |
| p12 | Aumento do cálcio no citoplasma Potencia produção de IL-2 Ação supressora de MHC-I | Ding et al, 2001. Johnson et al, 2001. |
| HBZ | Supressão da transativação mediada por Tax | Gaudray et al, 2002. Basbous et al, 2003. |

Fonte: www.hemominas.mg.gov.br/doacao/aprenda/htlv-e-doencas-associadas

2.6 Replicação e propagação do HTLV

A replicação viral do HTLV inicia quando ocorre a interação das glicoproteínas virais ao receptor presente na superfície da célula alvo (MANDELL et al., 2004). Após esta interação, ocorre a fusão do envelope com a membrana celular e penetração do vírus não revestido na célula. A entrada do vírus na célula alvo é mediada pelas glicoproteínas do envelope gp46, que se liga ao receptor celular e pela gp21 que funde o envelope viral com a membrana da célula alvo. Após a adsorção ocorre a penetração do core viral no citoplasma da célula, com posterior liberação do RNA viral (LEVINSON W e JAWETZ E, 2005). Depois da entrada do HTLV na célula, seu conteúdo é liberado no citoplasma e a enzima transcriptase reversa, presente dentro do capsídeo, inicia a síntese do DNA proviral utilizando o RNA genômico como modelo (FIGURA 6). O DNA é então transportado para dentro do núcleo da célula, integrando-se ao genoma celular do hospedeiro com o auxílio da enzima integrase (VARMUS, 1988).

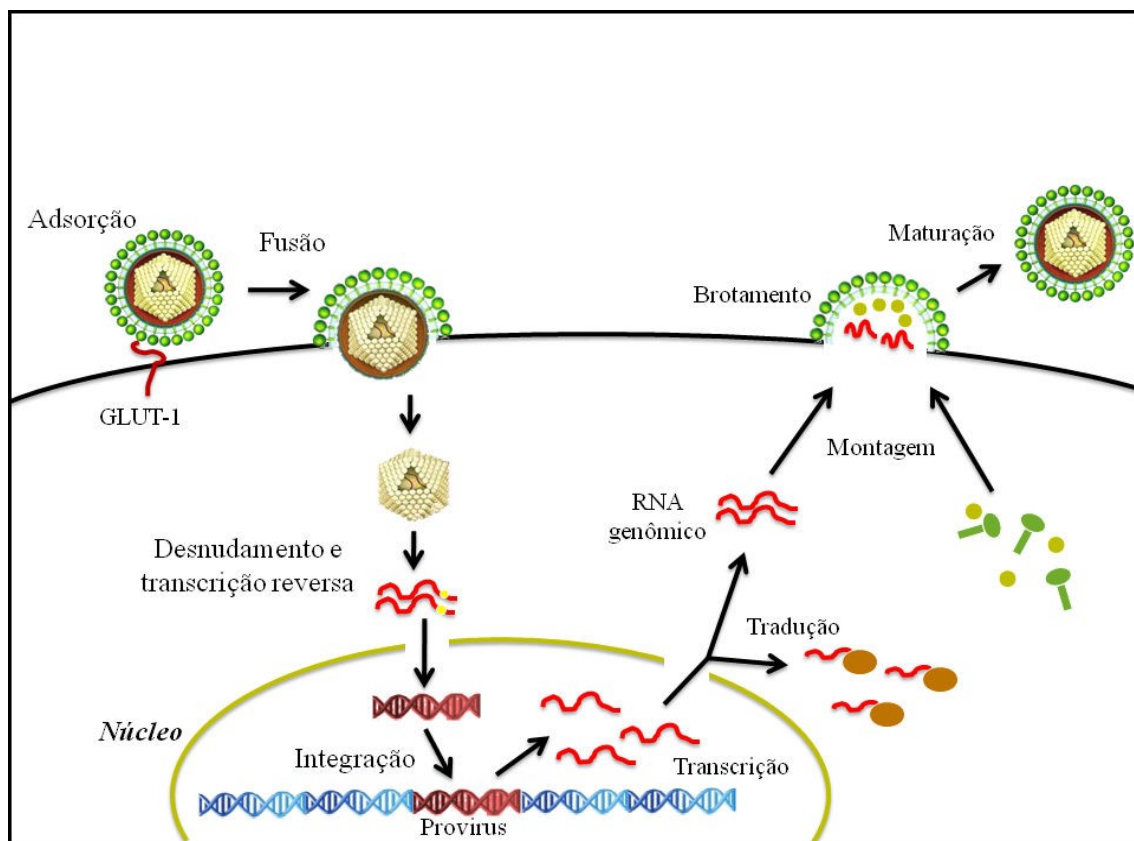


FIGURA 6- Replicação do HTLV

Fonte: Adaptado de Nisole & Saib, 2004

O HTLV apresenta uma forma pouco usual de replicação quando, após a penetração na célula, libera o RNA viral, que é transcrito em DNA complementar de dupla fita pela ação da enzima transcriptase reversa; este DNA penetra no núcleo onde se integra ao DNA celular, formando o DNA proviral (LEVINSON W & JAWETZE, 2005). Após a integração do DNA viral no genoma do hospedeiro, o seu ciclo de vida prossegue com a replicação do genoma, transcrição de genes, tradução de proteínas virais, montagem dos virions e liberação dos novos vírus diretamente para outras células. Todos esses processos requerem a participação da maquinaria celular de transcrição, tradução e transporte, assim como de outros fatores virais (CULLEN, 1992; TILLMANN et al., 1994).

A glicoproteína com peso molecular de 61 KDa (gp61), codificada pelo gene env, é precursora das glicoproteínas do envelope viral, denominadas de superfície (gp46) e transmembrana (gp21) (HATTORI et al., 1984). A glicoproteína de superfície é a mais externa, sendo responsável pela interação entre o envelope viral e a célula hospedeira, ao passo que a glicoproteína transmembrana possibilita a entrada do vírus na célula por fusão das membranas (PIQUE et al., 1992, DELAMARRE et al. 1996, LE BLANC et al., 2001).

Um importante elemento associado com a patogênese pelo HTLV-1 é a proteína Tax, esta proteína está envolvida com a replicação viral (por estimular a expressão de genes virais através de sua interação com fatores celulares e a região LTR da extremidade do genoma proviral (long terminal repeats) essenciais na integração do DNA proviral no DNA cromossômico do hospedeiro). Além disso, a proteína Tax associada a fatores transcricionais e moléculas de sinalização gera estímulo ou repressão de genes celulares, como exemplo, induz o aumento da expressão de várias citocinas e receptores envolvidos no crescimento e proliferação de células T (ITOYAMA et al., 1988; KIM et al., 1990). A proteína Tax também é capaz de inibir a expressão de genes celulares que atuam como inibidores do crescimento celular, promotores do reparo do DNA, e promotores de apoptose (FRANCHINI & STREICHER, 1995; FRANCHINI, 1995; FERREIRA et al., 1997; MESNARD & DEVAUX, 1999; YOSHIDA, 2001).

Sabe-se que esse vírus infecta preferencialmente linfócitos TCD4+, podendo também infectar linfócitos T CD8+ e células NK (*Natural Killer Cell*) (TAKAMOTO et al., 1997; NAGAI et al., 2001). Além disso, observou-se a possibilidade de ocorrerem infecções em células endoteliais e dendríticas in vitro (SOUTHERN; SOUTHERN, 1998; MAKINO et al., 2000; SHIMOKUBO et al., 2002). Diferente do vírus da

imunodeficiência humana (HIV) existe pouca ou nenhuma partícula do HTLV livre no plasma, de modo que a mensuração da carga viral na infecção pelo HTLV é, na verdade, a chamada carga proviral. Esta é o número de cópias de DNA proviral por um determinado conjunto de células, ou seja, a proporção de células infectadas que carregam um provírus (CARNEIRO-PROIETTI et al., 2006).

O fluxo de transmissibilidade do HTLV entre humanos, semelhante para HTLV-1 e HTLV-2, ocorre no sentido vertical principalmente através da amamentação natural. No sentido horizontal a mais importante via é a sexual, mais eficaz do homem para a mulher que da mulher para o homem, podendo ocorrer também pelo contato sexual entre homens e através de contaminação com sangue infectado, seja por transfusão ou pelo compartilhamento de seringas e agulhas (CATALAN-SOARES et al. 2004).

A transmissão vertical ou de mãe para filho, pode ocorrer por exposição perinatal e principalmente através da amamentação, sendo um evento raro a transmissão intra-uterina. O tempo de amamentação é diretamente proporcional à possibilidade de ocorrer transmissão do HTLV por esta via (GOTUZZO et al., 2000; CATALAN-SOARES et al. 2001). A transmissão do HTLV-1 da mãe para o filho, através do aleitamento materno, também tem como fator de risco a elevada carga proviral da mãe, assim como altos títulos de anticorpos anti-HTLV-1 (URETA-VIDAL et al., 1999). Trabalho avaliando esta transmissão vem mostrando que as meninas são mais frequentemente infectadas que os meninos, e ainda não se conhece a razão para tal tendência (CARNEIRO-PROIETTI, 2015).

2.7 O HTLV e a resposta imune

Para assimilarmos o meio de transmissão e os problemas que os retrovírus podem trazer para a sociedade, faz-se necessário compreender a resposta imune antiviral e entender alguns mecanismos, estratégias e habilidade das partículas virais e suas funções. Uma das primeiras dificuldades da resposta imune do hospedeiro aos vírus é sua variabilidade antigênica, devido à baixa fidelidade do RNA durante a replicação viral, levando ao surgimento de mutações. Assim, muitas viroses conseguem neutralizar os anticorpos específicos e se transformam em potentes microrganismos (ALCAMI; KOSZINOWSKI, 2000).

A resposta imune tem papel fundamental na defesa contra agentes infecciosos e se constitui no principal impedimento para a ocorrência de infecções disseminadas. Na fase inicial das infecções virais, o controle dessas infecções é feito pelos interferons tipo I (IFN- α e IFN- β), pelos macrófagos e pelas células NK (PAUL, 2008). A resposta mediada pelas células T é extremamente efetiva no mecanismo de defesa contra agentes intracelulares. As células T podem exercer sua função através da citotoxicidade mediada por células CD8⁺ ou através da secreção de citocinas que vão ativar macrófagos para destruir os agentes intracelulares. Há também ativação das células TCD4⁺, que vão colaborar com as células B na produção de anticorpos.

O HTLV-1 é um retrovírus que altera funcionalmente células importantes do sistema imunológico (NAGAI et al., 2001). A infecção pelo HTLV-1 induz ativação e intensa proliferação celular dos linfócitos infectados. Esse fenômeno relaciona-se principalmente com a função do gene Tax do vírus que tem a propriedade de transativar os genes da IL-2, e do receptor da IL-2. Essa proliferação anômala de células pode levar ao aparecimento da leucemia de células T do adulto. A proliferação indiscriminada de células pode provocar também a expansão de células T auto-reativas e secreção acentuada de citocinas pró-inflamatórias como o TNF α . Essas anormalidades podem associar-se com lesão tecidual cutânea e neurológica.

No processo de transformação maligna, um clone específico de células CD4⁺ se expande gradativamente entre as demais células, e esse clone tem o mesmo rearranjo do gene TCR, confirmando a origem monoclonal das células tumorais (YOSHIDA et al., 1984). Os Linfócitos T Citotóxicos (CTL) são células envolvidas na imunidade celular, antígeno- específicas e capazes de lisar células infectadas pelo HTLV-1. A resposta do CTL tem diferenças geneticamente determinadas, que impactam nas diferenças observadas dos riscos para desenvolvimento da doença inflamatória PET/MAH e no nível da carga proviral (BANGHAM et al., 1999; SABOURI et al., 2008).

A maioria dos pacientes infectados pelo HTLV-1/2 cursa assintomático ou oligossintomático por longo período de vida, porém sabe-se que esses agentes retrovirais são etiológicamente responsáveis por algumas síndromes clínicas de natureza neoplásica maligna, inflamatória ou mesmo degenerativas e complicações infecciosas (VERDONCK et al., 2007). Vários autores afirmam que 1% a 5% dos indivíduos infectados poderão desenvolver doença neoplásica relacionada ao HTLV-1 (MURPHY et al., 1989b; CLEGHORN et al., 1995).

Com o conhecimento atual da imunologia e da biologia molecular, podemos sumarizar a trajetória da infecção pelo HTLV-1 e os principais eventos moleculares da patogênese da infecção: O DNA proviral se insere de forma aleatória no genoma humano das células infectadas; O vírus permanece de forma latente por um período longo (duas a três décadas), mas, apesar dessa condição, pode também induzir proliferação celular por mecanismo direto ou indireto, através do estímulo de citocinas. Nesse processo, haverá então uma estimulação das próprias células infectadas (e/ou clone maligno) com consequente produção de novas células, replicação e multiplicação viral (FRANCHINI, 1995; FRANCHINI et al., 2005); Como consequência dessa “invasão” das células infectadas, o sistema imunológico mobiliza as células T citotóxicas para exercerem sua função de “*killer cells*”, bem como inicia a produção de anticorpos contra as proteínas virais. O clone maligno, referido acima, poderá surgir provavelmente devido a mutações oncogênicas adicionadas a co-fatores extrínsecos (FRANCHINI et al., 2005).

As viroses podem ser acompanhadas de leucocitose ou leucopenia, sendo que o aumento do número de linfócitos atípicos tende a ser a principal alteração nesses casos. Os linfócitos atípicos são na realidade linfócitos ativados ou reativos, que participam ativamente da resposta imune ao quadro infeccioso (CHABOT-RICHARDS; GEORGE, 2014).

Em um indivíduo normal, 80% dos linfócitos são células pequenas constituídas por um núcleo que corresponde a 9/10 do total da célula. A maior parte restante são linfócitos médios com um pouco mais de citoplasma às vezes com grânulos citoplasmáticos. Em algumas doenças, principalmente de origem viral, o número dessas células (linfócitos atípicos) aumenta bastante e quando presentes, devem ser relatados em porcentagem no hemograma (HOFFBRAND; MOSS, 2013).

O exame morfológico das células linfóides muitas vezes é o primeiro sinal a despertar para o diagnóstico da LLTA (POMBO-DE-OLIVEIRA et al., 1995). Os linfócitos de médio tamanho com núcleos polilobulados, cromatina homogênea e condensada, além de nucléolo pequeno ou ausente e citoplasma basófilos, são células típicas da LLTA, denominadas de células em flor, que podem aparecer no sangue periférico dos indivíduos portadores do vírus (SHIMOYAMA, 1991). Adicionalmente a estas células em flor (*flower cells*) (Figura 7), estão os linfócitos atípicos (*abnormal lymphocytes - Ably*), que apresentam também morfologias distintas ao linfócito comum (TSUKASAKI et al., 1999) (Figura 8). Células em flor também foram observadas em

alguns portadores assintomáticos (YAMAGUCHI et al., 1988), considerando estes de pré LLTA.

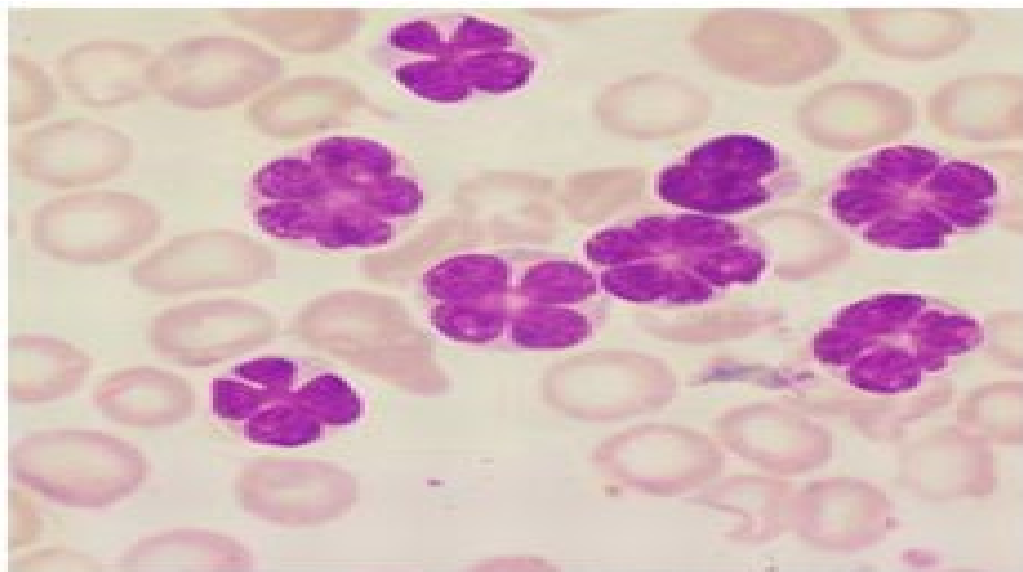


FIGURA 7- Linfócitos em flor: células leucêmicas com núcleos multilobulados.

Fonte: <https://retrovirology.biomedcentral.com/articles/.2005>

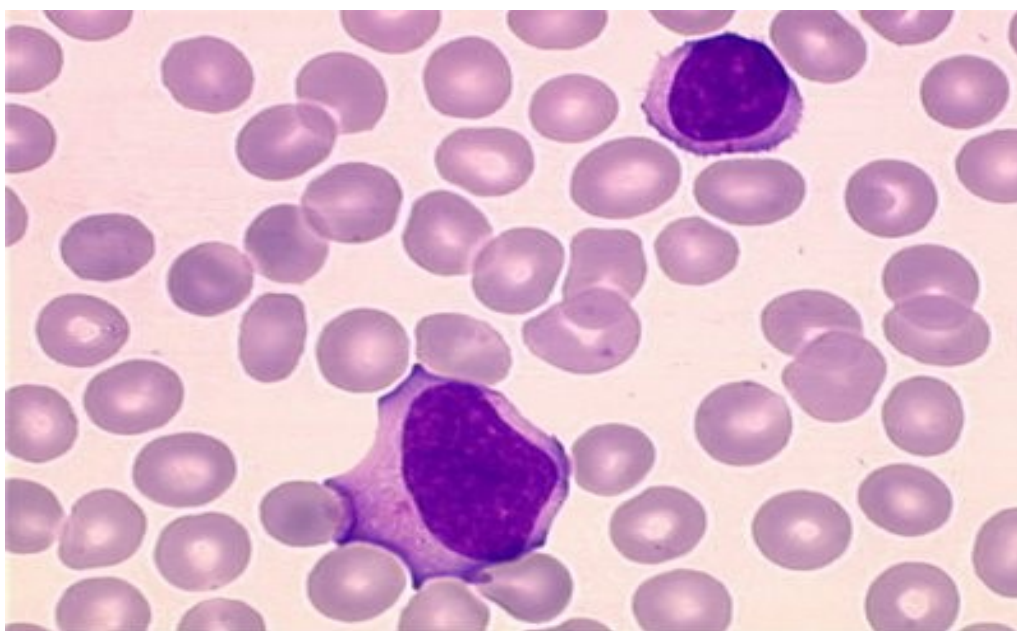


FIGURA 8- Os Linfócitos atípicos são células grandes, apresentam citoplasma amebóide que envolve parcialmente as células vizinhas exibindo coloração mais intensa nas margens.

Fonte: <https://www.flickr.com/photos/hematologia>

2.8 Doenças associadas ao HTLV

O HTLV-1 pertence à família dos retrovírus, a mesma do HIV. Apesar de ambos serem retrovírus, enquanto o HIV pode induzir a doença clínica na totalidade dos indivíduos infectados, o HTLV só leva ao aparecimento de sintomatologia clínica em uma minoria dos pacientes. Aproximadamente 3% à 5% dos indivíduos infectados desenvolvem algum tipo de manifestação clínica enquanto a maioria permanece assintomática durante toda vida. Existem basicamente dois tipos de HTLV, o HTLV-1 e o HTLV-2 que apesar de aparentemente semelhantes, esses dois vírus comportam-se de modo diferente no organismo, isto é, prioritariamente o HTLV-1 é sabidamente imputado como principal causador de doenças graves no hospedeiro infectado (COLINN et al., 2003).

Não só fatores biológicos podem influenciar o aparecimento de manifestações clínicas e desenvolvimento de doenças decorrentes da presença do HTLV-1, sendo que fatores socioeconômicos também são importantes, podendo estar associados a maior nível de coinfeções, tais como parasitárias, Doenças Sexualmente Transmissíveis (DSTs) e outras.

A prevenção da disseminação do vírus é fundamental e deve focar os portadores da infecção, orientando-os quanto às medidas de prevenção, tais como o uso de preservativos, a não-amamentação, a não-doação de sangue, sêmen ou órgãos.

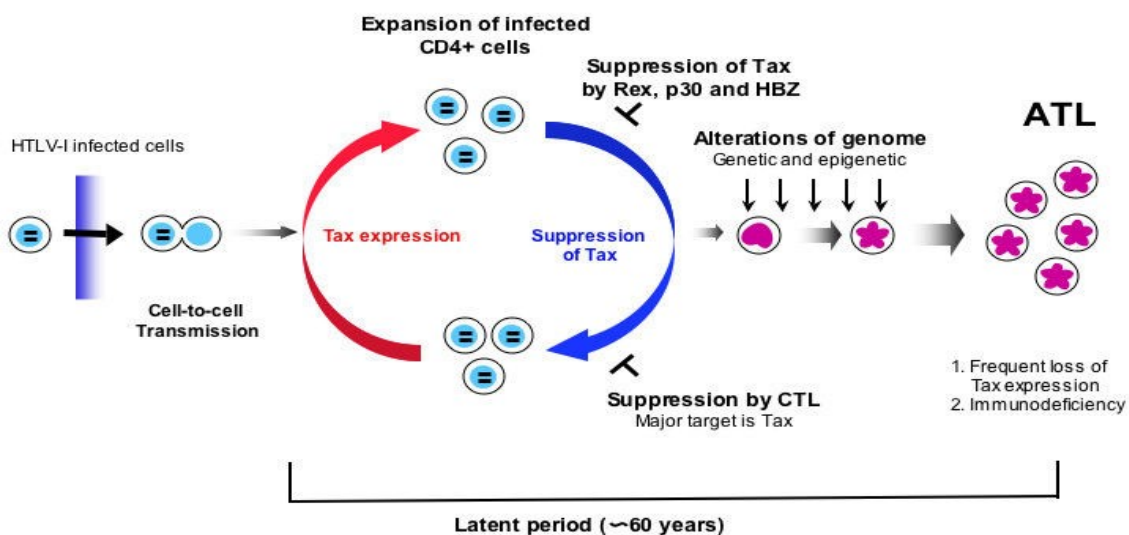
O vírus linfotrófico T humano tipo 1 (HTLV-1) é um retrovírus associado a patologias humanas como leucemia/linfoma de células T do adulto (LLTA) e paraparesia espástica tropical/mielopatia associada ao HTLV (PET/MAH) sendo elas as mais prevalentes. O HTLV-1 está também associado a manifestações oftalmológicas, dermatológicas e articulares, como nos casos de uveíte, dermatite infecciosa, polimiosite e poliartrite. As diversas manifestações clínicas variam de acordo com o tipo e magnitude da resposta imunológica do hospedeiro para os antígenos do HTLV (POIESZ et al., 2000).

A leucemia/linfoma de células T do adulto (LLTA) é uma forma muito agressiva de neoplasia das células T CD4⁺ resistente à quimioterapia e geralmente fatal. A LLTA foi descoberta no Japão em 1977 (UCHIYAMA et al., 1977) e existem quatro subtipos distintos, estes estão relacionados às características clínicas e se dividem em agudo, crônico, *smoldering* e tipo linfoma. Manifestações clínicas típicas são hipercalcemia, lesões de pele, crescimento de linfonodo, elevação de lactato e

desidrogenase (DHL), números de leucócitos aumentados. Ela ocorre predominantemente na idade adulta e em indivíduos afrodescendentes e desenvolve-se em aproximadamente 6,6% dos homens e 2,1% das mulheres portadores do HTLV-1 (ARISAWA et al., 2000).

Na forma aguda e ocasionalmente nas formas crônica e *smoldering* da LLTA, linfócitos com núcleo polilobulado com cromatina homogênea e condensada, além de nucléolo pequeno ou ausente e citoplasma basófilo, denominadas de células em flor (*flower cells*), podem aparecer no sangue periférico dos indivíduos portadores do vírus (SHIMOYAMA, 1991). Especula-se que as células em flor são o resultado da transformação neoplásica pela acumulação de alterações genéticas e epigenéticas na célula infectada, consequência da proliferação contínua e estimulada pelo provírus. as alterações no genoma do linfócito do hospedeiro se acumulam durante um longo período latente, finalmente levando ao início da LLTA (MATSUOKA, 2005); (FARRE et al., 2008). (Figura 9)

Figura 9- Curso natural de infecção por HTLV-I para o início da LLTA



Fonte: MATSUOKA, 2005

Adicionalmente a estas células, outros linfócitos atípicos com morfologias distintas sem características em células em flor também são observados (TSUKASAKI et al., 1999). Células em flor também foram notados em alguns portadores assintomáticos (YAMAGUCHI et al., 1988), considerando estes como casos de pré-LLTA. É importante ressaltar que não foram observadas células em flor em outros tipos de linfomas ou leucemias.

A patogênese da LLTA é pouco esclarecida, mas sabe-se que múltiplos fatores podem estar relacionados com o desenvolvimento da leucemia: aqueles associados ao vírus, como carga proviral elevada, e aqueles associados ao portador (MORTREUX; GABET; WATTEL, 2003); (PROIETTI et al., 2005). Assim como as outras formas de leucemia/linfoma, a LLTA é resultante da expansão clonal de uma única célula progenitora (OHSHIMA et al., 1998), ocorrendo proliferação monoclonal principalmente dos linfócitos T CD4+ e CD25+.

No início da infecção pelo HTLV-1, existem múltiplas populações de células infectadas cada uma contendo o DNA proviral integrado em um local diferente do genoma do hospedeiro (população policlonal). Uma dessas populações adquire vantagem levando à proliferação monoclonal exacerbada com um único local de integração do DNA proviral no genoma do hospedeiro. A integração monoclonal proviral do HTLV -1 no genoma da célula hospedeira parece ser randômica (SEIKI et al., 1984). Uma vez integrado o DNA proviral, proteínas virais como Tax, inicialmente, e HBZ, posteriormente, são expressas e induzem a proliferação e inibição da apoptose das células infectadas através da regulação com fatores celulares envolvidos nessas vias. O aumento do número de células infectadas promovida por esses mecanismos está relacionado com a elevação da carga proviral (MATSUOKA, 2005). Em resumo, a LLTA se manifesta quando acontece a expansão exacerbada de um único clone celular neoplásico que adquiriu maior capacidade proliferativa, o que se conhece como proliferação monoclonal (MATSUOKA; JEANG, 2007).

A mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical (MAH/PET) foi reconhecida em 1988, pela Organização Mundial de Saúde (OMS), como uma doença neurológica progressiva lenta com sinais piramidais e espasticidade associada a distúrbios sensitivos (formigamento e dormência nos membros) e esfínterianos (alterações urinárias, intestinais e sexuais) (WHO 1989). Os primeiros sintomas surgem usualmente de maneira insidiosa, após um período de latência muito variável, e que tende a ser mais curto se correlacionado com o contágio transfusional. A apresentação

da doença insidiosa e lenta, determina que o indivíduo só procure atendimento médico, somente após alguns anos de evolução da doença. A PET/MAH costuma acometer mais mulheres e adultos jovens; entretanto, nenhuma faixa etária encontra-se livre de adoecer. É caracterizada por acometimento insidioso e progressivo de fraqueza muscular nos membros inferiores e espasticidade, associada em grau variado a distúrbios esfínterianos e sensitivos (GESSAIN et al., 1985 ; OSAME et al., 1986). No caso específico da PET/MAH, os elementos inflamatórios celulares são, ao longo do tempo, substituídos por degeneração da substância branca e reação glió- mesenquimal, nesses casos, o sítio de maior acometimento é a medula torácica baixa, embora todo o neuroeixo possa estar envolvido.

A Uveíte é uma inflamação intra-ocular que compromete total ou parcialmente a íris, o corpo ciliar e a coroide, as uveítes podem ser de causa infecciosa (bactérias, fungos, vírus e protozoários), a uveíte pode ser anterior (irite, iridociclite), intermediária (pars planite) e posterior (coriorretinite, retinite e coroidite). A uveíte associada ao HTLV-1 é do tipo intermediária mas pode se apresentar também como uveíte anterior e uveíte posterior. Os sintomas mais comuns de uveíte são a dor ocular e peri-ocular (ao redor dos olhos), fotofobia, edema palpebral e vermelhidão próxima da córnea, a doença não apresenta secreção, mas a pupila fica contraída (miose), respondendo pouco ao estímulo da luz de uma lanterna, e a visão pode estar um pouco borrada. A uveíte associada ao HTLV-1 caracteriza-se por infiltração dos tecidos oculares, particularmente no corpo vítreo e vasculite retiniana moderada.

O vírus linfotrófico T humano está também relacionado a dermatite infecciosa (DIH) associada ao HTLV-1, um tipo de ecze recidivante que incide em crianças que adquirem verticalmente a infecção (PROIETTI, 2015).

As lesões são eritemato-descamativas, infectadas e frequentemente crostosas. Localizam-se, com maior frequência, no couro cabeludo, regiões retroauriculares, pescoço e região inguinal, mas podem ser generalizadas. Vêm-se também fissuras retroauriculares, pápulas eritemato-descamativas e foliculares. Prurido discreto a moderado, secreção nasal crônica e blefaroconjutivite podem ser observados. A doença está sempre associada à infecção pelo *Staphylococcus aureus* ou *Streptococcus beta hemolíticos*, com boa resposta a sulfametoxazol-trimetropim. Vários mecanismos são propostos para explicar as lesões da pele, seja pela presença direta do vírus em células, pela imunossupressão ou por resposta inflamatória que a infecção pelo vírus poderia desencadear. Não se sabe por que crianças infectadas desenvolvem doença, a maioria

permanecendo assintomática. Existe a possibilidade de que o desenvolvimento esteja ligado a fatores genéticos ou relacionados a interação do vírus com o portador.

A respeito da poliartrite e da polimiosite a causa viral desempenha um papel importante no desenvolvimento deste processo. A artrite relacionada com a leucemia de células T do adulto (LLTA) caracteriza-se por poliartrite envolvendo articulações interfalangianas proximais (IFP), punhos, joelhos e tornozelos que pode levar a deformidade e destruição das articulações em virtude de erosões ósseas e da cartilagem. Afeta mulheres duas a três vezes mais do que homens, e sua prevalência aumenta com a idade. Geralmente esta patologia acomete grandes e pequenas articulações em associação com manifestações sistêmicas como: rigidez matinal, fadiga e perda de peso. Quando envolve outros órgãos, a morbidade e a gravidade da doença são maiores, podendo diminuir a expectativa de vida em cinco a dez anos.

A polimiosite é uma doença crônica do tecido conjuntivo caracterizada por inflamação com dor e degenerescência dos músculos. Esta doença evolui até uma incapacidade muscular, fraqueza e deterioração. A debilidade manifesta-se tipicamente nos ombros e nas ancas, mas pode afetar simetricamente os músculos de todo o corpo. A polimiosite manifesta-se quase sempre em adultos entre os 40 e os 60 anos, ou em crianças dos 5 aos 15 anos de idade. As mulheres têm o dobro de probabilidades dos homens de contrair estas doenças. Nos adultos, estas doenças podem aparecer de forma isolada ou fazer parte de outros problemas do tecido conjuntivo, como a doença mista do tecido conjuntivo.

A disseminação da estrogiloidíase pode ocorrer em pacientes infestados pelo vírus linfotrópico T humano tipo 1 (HTLV-1). A estrogiloidíase é uma helmintíase predominantemente intestinal causada pelo *Strongyloide stercoralis*, sendo o homem, além de seu hospedeiro definitivo, a principal fonte de infecção. A forma disseminada da estrogiloidíase associada ao HTLV-1, ocorre em pacientes imunodeprimidos, em que se observa um grande número de larvas filarióides no intestino grosso, que uma vez alcançada a circulação, irão se disseminar por todo o organismo (BRITES et al., 2002). A auto-infecção pelo *S. stercoralis* pode estar associada a uma baixa da imunidade celular, sendo, portanto, de vital importância o diagnóstico precoce desta patologia nos pacientes imunodeprimidos (PORTO, NEVA et al., 2001).

2.9 Diagnóstico laboratorial do HTLV

O diagnóstico da infecção pelo vírus linfotrópico T humano requer tanto a habilidade de detectá-lo como a capacidade de diferenciar os tipos.

O diagnóstico da infecção pelo HTLV-1 e pelo HTLV-2 baseia-se na detecção de anticorpos específicos no soro ou plasma dos indivíduos e deverá ser realizado em duas etapas: a primeira, de triagem, permite identificar as amostras reagentes, indeterminadas e não reagentes. Cerca de dois meses após o início da infecção, há o aparecimento de anticorpos, cujos títulos são diretamente relacionados à carga viral (THORSTENSSON et al., 2002).

Os anticorpos anti-HTLV-1 e/ou anti-HTLV2 são detectados através do teste de ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) e os diagnósticos sorológicos, embora indiquem a infecção, não permitem identificar o subtipo envolvido. Este teste imunoenzimático é um teste de triagem que geralmente utiliza lisado de células infectadas com HTLV-1 purificado, podendo ser acrescido de proteínas recombinantes da região do envelope, o que aumenta a sensibilidade do teste (CARNEIRO-PROIETTI et al., 2002). Se um resultado é positivo no teste inicial, este é repetido, e as amostras com resultados repetidamente reativos são submetidas aos testes confirmatórios como técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR).

Esta técnica molecular apresenta alta sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da infecção por HTLV, além disso, a detecção do DNA pró-viral pode ser realizada precocemente, pois não depende da produção de anticorpos específicos, eliminando assim, resultados falso-negativos decorrentes do período de janela imunológica (POIESZ et al. 2000, CATALAN-SOARES et al. 2001). A PCR está indicada também, para pacientes com sorologia inconclusiva ou com Western blot indeterminado para HTLV-1 e/ou HTLV-2, técnica permite também a genotipagem entre os tipos 1 e 2.

A técnica da PCR em tempo real vem sendo empregada para determinação da carga proviral do HTLV-1 devido à sua rapidez, precisão e acurácia. Ela utiliza corantes fluorescentes como o SYBR Green, que, ao se ligar à dupla fita de DNA, aumenta sua emissão fluorescente.

3 JUSTIFICATIVA

São inúmeros os fatores que podem influenciar o quadro hematológico de indivíduos. Os dados fornecidos pelo hemograma são essenciais dentro da investigação das doenças hematológicas. A diversidade de informações que o hemograma pode fornecer, embora seja em geral bastante inespecífica, torna esse exame um dos mais solicitados nas práticas clínica e cirúrgica.

Durante as últimas décadas observou-se uma grande evolução tecnológica na realização do hemograma, e as técnicas manuais têm sido substituídas por sistemas automatizados que apresentam maior precisão nos resultados e em um menor intervalo de tempo. A importância da hematologia como meio de estudo para sinais de determinadas doenças é presencial, auxiliando profissionais estabelecer possíveis diagnósticos, firmar prognósticos e acompanhar pacientes em evolução.

O HTLV-1 está associado ao desenvolvimento de doenças graves como a LLTA e essa morbi-mortalidade pode ser maior do que tem sido considerada (POETKER et al. 2011). O exame morfológico através das lâminas hematológicas das células linfóides muitas vezes é o primeiro sinal a despertar para o diagnóstico do LLTA. Os linfócitos são caracterizados por um acentuado pleomorfismo celular, irregularidades nucleares e condensação da cromatina nuclear variável. As células mais típicas da LLTA são linfócitos de médio tamanho com núcleos polilobulados (*flower cell*). O citoplasma é frequentemente escasso e o núcleo irregular pode apresentar esboços de nucléolos (SILVA et al., 2002).

A infecção pelo HTLV-1 é endêmica em diferentes regiões geográficas, o Brasil é o país com o maior número de pessoas infectadas com mais de 2,5 milhões de indivíduos, o que torna o país com maior número absoluto de casos de HTLV-1 da América do sul (MOXOTÓ et al., 2007).

Apesar de ser um exame de acompanhamento de infectados, poucos trabalhos relatam resultados de estudos hematológicos de pessoas portadoras do HTLV-1. É importante ampliar o estudo do perfil hematológico com a infecção pelo HTLV-1, devido à sua relação com doenças onco-hematológicas, além possibilitar o melhor acompanhamento clínico-laboratorial e aconselhamento especializado dos indivíduos infectados pelo vírus.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Estabelecer o perfil hematológico dos portadores da infecção pelo HTLV-1 de Belém, Pará.

4.2 Objetivos Específicos

- Descrever os parâmetros hematológicos dos portadores de HTLV-1.
- Estimar a frequência de atipia linfocítica em portadores de HTLV-1.
- Descrever o perfil hematológico em pessoas com sinais, sintomas e doenças associadas ao HTLV-1.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Localização do estudo

O Núcleo de Medicina Tropical (NMT), uma unidade da Universidade Federal do Pará (UFPA), desenvolve diferentes projetos que beneficiam a população oferecendo atendimentos clínico-ambulatorial e laboratorial gratuitos nos diagnósticos das diferentes doenças tropicais.

O Laboratório de Biologia Molecular e Celular (LBMC) do NMT/UFPA desenvolve projetos de ensino, pesquisa e extensão, visando à formação e aprimoramento de seus recursos humanos. As linhas de pesquisas e extensão são voltadas para a prevenção e estudo de infecções/doenças sexualmente transmissíveis (IST/DST), mais especificamente o Papilomavírus humano (HPV), *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) e do vírus linfotrópico T humano (HTLV).

No LBMC são realizados exames sorológicos e moleculares para detecção e diagnóstico do vírus linfotrópico-T humano (HTLV).

5.2 População, amostra e período de estudo

Este estudo é voltado para todas as pessoas atendidas pelo Laboratório de Biologia Molecular e/ou pelo Núcleo de Medicina Tropical da UFPA, portadores ou não do vírus T-linfotrópico humano, no período de Setembro de 2015 a Agosto de 2016.

Participaram do estudo 202 indivíduos, dentre eles 87 pessoas infectadas com HTLV-1 (Grupo Caso) e 115 indivíduos negativos para HTLV-1 (Grupo Controle), em sua maioria parentes de portadores do vírus, devido ao trabalho de busca ativa de familiar infectado.

5.2.1 Critérios de Inclusão

Grupo Caso: Indivíduos com sorologia positiva para HTLV e confirmados pelo método de biologia molecular (PCR) para HTLV-1.

Grupo Controle: Indivíduos com sorologia e PCR negativos para HTLV.

Ambos os grupos: Indivíduos que aceitaram em participar do estudo através da assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE).

5.2.2 Critérios de Exclusão

Indivíduos com amostras inadequadas para análise laboratorial.

Indivíduos com sorologia positiva para HTLV e não confirmados por biologia molecular ou confirmados para HTLV-2 ou e casos indeterminados na sorologia e não confirmados por biologia molecular.

5.3 Investigação epidemiológica

Antes da entrevista e do preenchimento de um questionário com dados epidemiológicos, os indivíduos foram informados sobre o estudo e convidados a participar do mesmo, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) no caso de acordo. Em seguida foi coletado sangue para exame sorológico, molecular e hematológico.

5.4 Coleta de Sangue e processamento das amostras.

A coleta de sangue foi realizada em tubos de 5 ml contendo o anticoagulante EDTA, previamente identificados com os nomes dos pacientes e seu número de registro correspondente ao seu atendimento estipulado pelo laboratório. A coleta de sangue foi obtida através da punção venosa obedecendo às recomendações de segurança de coleta sanguínea. Após a coleta as amostras foram encaminhadas para a realização do hemograma e posteriormente para realização de outros testes.

5.5 Realização do Hemograma.

Todas as amostras de sangue coletadas dos pacientes foram submetidas à realização do hemograma. Essas amostras foram previamente homogeneizadas e processadas no equipamento hematológico de automação Humacount30^{TS} de 18 parâmetros com diferencial de 3 partes. O Contador hematológico se baseia na tecnologia de impedância elétrica e fotocolorimétrica e é composto pelos seguintes parâmetros: Contagem de eritrócitos, dosagem de hemoglobina, determinação do hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração hemoglobínica corpuscular média (CHCM) e amplitude de distribuição dos eritrócitos (RDW) que compõem o eritrograma; contagem de leucócitos e fórmula leucocitária que compõem o leucograma e a contagem de Plaquetas. De todas as amostras foram confeccionadas duas lâminas em esfregaços e coradas para a

contagem diferencial dos leucócitos e para pesquisa de *flower cell* e de outros linfócitos atípicos. Os parâmetros hematológicos analisados para o estudo foram os seguintes: a contagem de leucócitos, linfócitos, segmentados, eosinófilos, monócitos, hematócrito, hemácias, a concentração de hemoglobina e a contagem de plaquetas.

Em virtude dos diferentes valores de referência citados na literatura para os parâmetros hematológicos, com objetivo de adequar todos as variáveis em um único referencial foi adotado neste trabalho os valores de referência de acordo a literatura de HOFFMAN et al., 2013.

5.6 Coloração do esfregaço sanguíneo e contagem diferencial dos leucócitos.

O esfregaço de sangue foi usado para fazer uma diferenciação entre os leucócitos, isto é, fazer uma contagem do número de neutrófilos, linfócitos, monócitos e eosinófilos chegando-se a uma porcentagem de cada célula encontrada. A confecção foi feita com uma pequena gota de sangue posta sobre uma lâmina de vidro onde foi feito um esfregaço, arrastando a gota de sangue com outra lâmina para formar uma película. O sangue foi homogeneizado antes de se fazer o esfregaço para que as células fossem bem distribuídas. O esfregaço foi corado com o corante Leishman, um composto de eosina amarelada e produtos de oxidação do azul de metileno. Daí se deu a contagem diferencial de leucócitos, com a contagem de 100 leucócitos no esfregaço sanguíneo, diferenciando-os segundo suas variedades de coloração e morfológicas observadas em microscópio com a objetiva de 100x.

5.7 Pesquisa de células em flor (*Flower cells*) e outros linfócitos atípicos.

Após da confecção do esfregaço sanguíneo homogêneo e delgado em uma lâmina nova, desengordurada, limpa e seca, corada pelo corante Leishman foi realizado a pesquisa de *Flower cell* e outros linfócitos atípicos. A pesquisa foi realizada percorrendo a lâmina em toda sua extensão, usando em média 50 campos com a objetiva de imersão (40x) e quando necessário para melhor visualização também utilizada a objetiva de 100x.

5.7.1 Recomendações do ICSH (Conselho Internacional de Padronização em Hematologia) para a Padronização da Nomenclatura e da Graduação das Alterações Morfológicas no Sangue Periférico.

A diferenciação celular é um processo que envolve a identificação de características relativas ao tamanho e forma do núcleo, padrão de cromatina e tamanho e aspecto do citoplasma. Neste contexto segue os critérios para a classificação dos linfócitos atípicos:

- As anormalidades incluem o aumento do tamanho da célula.
- Imaturidade do núcleo com a presença de nucléolo e cromatina sem condensação.
- Contorno nuclear irregular ou lobulação.
- basofilia ou vacuolização do citoplasma e contorno irregular da célula.
- O citoplasma pode ser abundante com uma variação de cores desde o azul pálido até o azul intenso.

5.8 Ensaio imunoenzimático para HTLV

Para a identificação de anticorpos anti-HTLV-1/2 foi realizado um ensaio imunoenzimático qualitativo, ELISA (EnzymeLinkedImmunoSorbentAssay) com o kitGOLD ELISA HTLV-1/2, REM, de acordo com instruções do fabricante no Laboratório de Biologia Molecular e Celular do NMT/UFPA.

Este teste é usado para detecção de anticorpos IgM, IgG e IgA anti HTLV-1 e HTLV-2 em soro ou plasma humano pelo método de ELISA. Utiliza antígenos recombinantes (gp46 e gp21) fixados na microplaca. As amostras positivas e aquelas com o valor próximo ao do *cut off* foram analisadas em duplicata.

5.9 Extração do DNA

Todas as amostras de sangue total dos indivíduos foram submetidas à extração do DNA.

Foi utilizado o método de extração de DNA total a partir de células mononucleadas do sangue periférico, de acordo com o protocolo do kit *Wizard Genomic DNA Purification* (Promega). O procedimento seguiu as etapas de lise celular, de precipitação de proteínas, de precipitação do DNA e de hidratação do DNA.

5.10 Amplificação do gene da β -globina humana

Todo DNA genômico extraído foram submetidos à amplificação do gene da β -globina humana com os primers G73 (5'-GAAGAGCCAAGGACAGGTAC-3') e G74 (5'-CAACTTCATCCACGTTCCACC-3') (BELL et al., 1993), gerando um fragmento de 268 pb, cujo objetivo é avaliar a integridade do DNA e excluir a presença de inibidores de PCR.

Neste procedimento foi utilizado 3,5 μ L de GoTaq® Green Master Mix, 2,0 μ L de Água destilada autoclavada, 10 pmol/ μ L de cada primer e 1 μ L de DNA, para um volume final de 7 μ L. O protocolo para amplificação seguiu a temperatura de desnaturação 94°C por 5 minutos, seguida de 30 ciclos, de 94°C por 45 segundos, de 55°C durante 45 segundos e 72°C por 45 segundos, seguidas da temperatura de extensão final de 72°C por 10 minutos e 10°C por 10 minutos. A amplificação dos segmentos citados anteriormente foi realizada no termo-ciclador da Biocycler MJ96+/MJ96G.

Os produtos da amplificação foram visualizados após eletroforese (100 V/60 minutos) em gel de agarose a 1%, corados com brometo de etídio em tampão TAE 1x (TAE 50x estoque – Tris-Base 1,6 M, Acetato de Na 0,8 M e EDTA-Na₂ 40 mM/1000 mL de água deionizada), mediante a utilização de um transiluminador com fonte de luz ultravioleta.

5.11 Digestão enzimática para caracterização do tipo de HTLV

Após a identificação dos casos com resultados de PCR positivos, através do gel de agarose a 1%, foi feita a digestão enzimática (RFLP - polimorfismos do comprimento de fragmentos de restrição) do produto amplificado, para identificar o tipo de HTLV-1/2 presente nas amostras.

A reação de RFLP deste produto do gene *pX* (159pb) foi realizada misturando-se 6,0 μ L do produto amplificado, 7 μ L de H₂O, 1,5 μ L de tampão E (Promega, Madison WI, USA) e 0,5 μ L da enzima de restrição *TaqI* (10 U/ μ L, Promega, Madison WI, USA), com posterior incubação a 65°C por 2 horas.

A presença do sítio de restrição (T/CGA), gera três fragmentos (21 pb, 53 pb e 85 pb), no HTLV-2 e dois fragmentos (21pb, 138pb) no HTLV-1.

Os produtos de digestão enzimática foram visualizados em gel de agarose de 3% a 100 V durante 45 minutos em tampão TAE 1x (TAE 50x estoque-TrisBase 1,6 M,

Acetato de Na 0,8 M e EDTA-Na₂40 Mm/1000 ml de água deionizada), mediante a utilização de transiluminador com fonte de luz ultra-violeta.

5.12 Análises estatísticas

Todos os dados dos parâmetros hematológicos assim como todas as informações coletadas na entrevista e nos prontuários foram inseridas em planilha eletrônica utilizando o programa Microsoft Office Excel[®] 2010.

Os testes estatísticos foram realizados com auxílio do programa BioEstat versão 5.0 (AYRES et al., 2007), para a identificação das frequências e confecção dos gráficos e tabelas.

Inicialmente foram feitas as análises estatísticas descritivas, ou seja, através de gráficos e tabelas de frequência das variáveis analisadas, estimativa de média, desvio-padrão, máximo e mínimo das variáveis numéricas. O nível de significância para se rejeitar a hipótese de nulidade foi de 5%, ou seja, considerou-se como estatisticamente significante um valor de $p < 0,05$.

Para os parâmetros hematológicos foi utilizando o teste Z e Mann-Whitney para avaliar a diferença relevante e avaliar a significância entre as populações em estudo

O teste do Qui-quadrado (χ^2) foi utilizado para comparação dos fatores significantes entre as frequências dos portadores e não portadores dos HTLV-1.

6 RESULTADOS

Foram investigados 202 indivíduos, entre eles, 87 positivos para HTLV-1 (43,1%) e 115 indivíduos negativos para HTLV-1 (56,9%), entre Setembro de 2015 e Agosto de 2016.

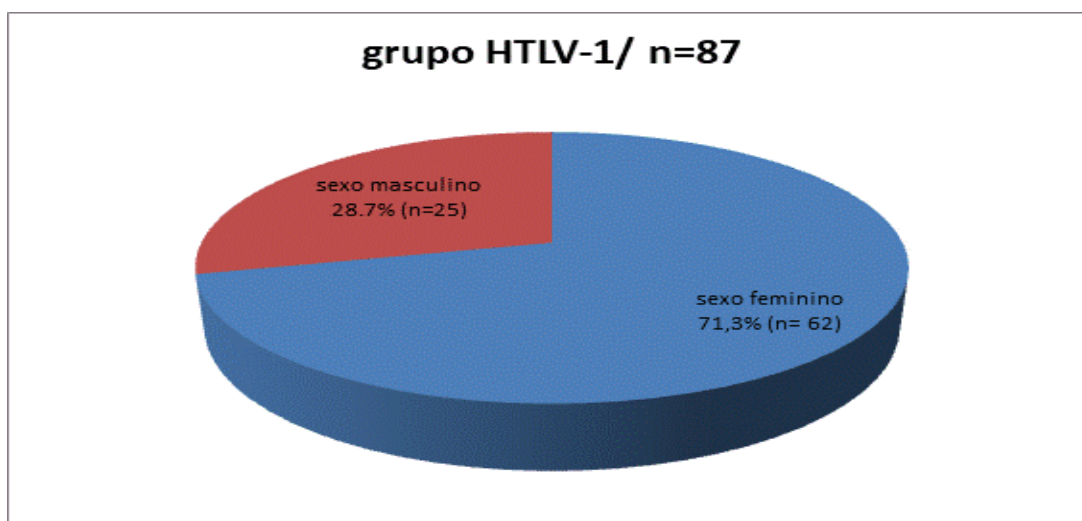
Dentre as amostras do estudo 72 indivíduos pertenciam ao sexo masculino (35,6%), enquanto 130 pertenciam ao sexo feminino (64,4%). Quando observada a frequência de indivíduos negativos para infecção pelos HTLV-1, verificou-se que 40,9% destes eram indivíduos do sexo masculino, enquanto 59,1% eram de indivíduos do sexo feminino. Quando analisados somente indivíduos positivos para infecção pelo HTLV-1, a frequência de infectados do sexo masculino foi de 28,7%, correspondendo 25 casos, enquanto a do sexo feminino correspondia a 71,3%, correspondendo 62 casos (Tabela 1), demonstrando maior frequência da infecção em indivíduos deste sexo ($p=0,009$) (Figura 10).

A média das idades dos pacientes positivos para HTLV-1 foi de 46,5 anos com desvio padrão (DP) de 16,08 anos variando as idades entre 17 e 81 anos. Nos casos negativos a média foi de 40,3 anos, com desvio padrão de 17,60 variando entre 2 e 73 anos de idade.

Tabela 1. Distribuição da infecção do HTLV-1 quanto ao sexo

| Sexo | Total n (%) | Negativo n (%) | Positivo n (%) | p-valor |
|------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|----------------|
| Masculino | 72 (35.6) | 47 (40.9) | 25 (28.7) | 0.009 |
| Feminino | 130 (64.4) | 68 (59.1) | 62 (71.3) | |

Figura 10. Distribuição entre o sexo pacientes positivos para HTLV-1



A contagem mínima, máxima, média e desvio padrão é apresentada em relação à idade e aos parâmetros hematológicos (número de leucócitos, contagem de linfócitos, concentração de hemoglobina e de outros parâmetros do hemograma) na população em estudo (tabela 2). Nesta tabela, destacou-se com importância os dados apresentados na contagem de eosinófilos ($p=0,0092$) mostrando a relação eosinofílica aumentada em pacientes HTLV-1 positivos (Figura 11) e também uma diminuição na presença de neutrófilos nesses pacientes positivos para HTLV-1 ($p=0,0303$) (Figura 12).

Tabela 2. Perfil: Idade e Parâmetros hematológicos

| Variáveis | Negativo n=115 | | | | Positivo n=87 | | | | p-valor |
|------------------------------------|----------------|-------|-------|------|---------------|-------|-------|-------|---------|
| | Mín | Máx | Média | DP | Mín | Máx | Média | DP | |
| Idade | 2 | 73 | 40,2 | 17,6 | 17 | 81 | 46,5 | 16,08 | 0,0090 |
| Leucócito | 3400 | 15100 | 7527 | 2142 | 1700 | 11400 | 7054 | 1738 | 0,8290 |
| Linfócito | 9 | 56 | 34 | 9 | 10 | 58 | 35 | 9 | 0,3781 |
| Segmentado | 35 | 84 | 57 | 10 | 32 | 83 | 54 | 9 | 0,0303 |
| Eosinófilo | 1 | 18 | 3 | 3 | 1 | 20 | 4 | 3,5 | 0,0092 |
| Monócito | 3 | 8 | 6 | 1 | 3 | 10 | 6 | 1 | 0,7721 |
| Hemácia | 3,00 | 6,10 | 4,65 | 0,5 | 1,85 | 5,82 | 4,50 | 0,6 | 0,1693 |
| Hemoglobina | 9,0 | 16,6 | 13,2 | 1,6 | 4,9 | 15,7 | 12,8 | 1,7 | 0,1490 |
| Hematócrito | 27,4 | 54,0 | 41,2 | 5,2 | 16,8 | 50,7 | 40,4 | 5,6 | 0,3127 |
| Plaqueta(10^3) | 107 | 602 | 252 | 80,8 | 19 | 604 | 243 | 87,4 | 0,4686 |

DP: Desvio padrão, Mín: mínimo, Máx: máximo

Figura 11. Distribuição de eosinófilos em pacientes negativos e positivos para HTLV-1

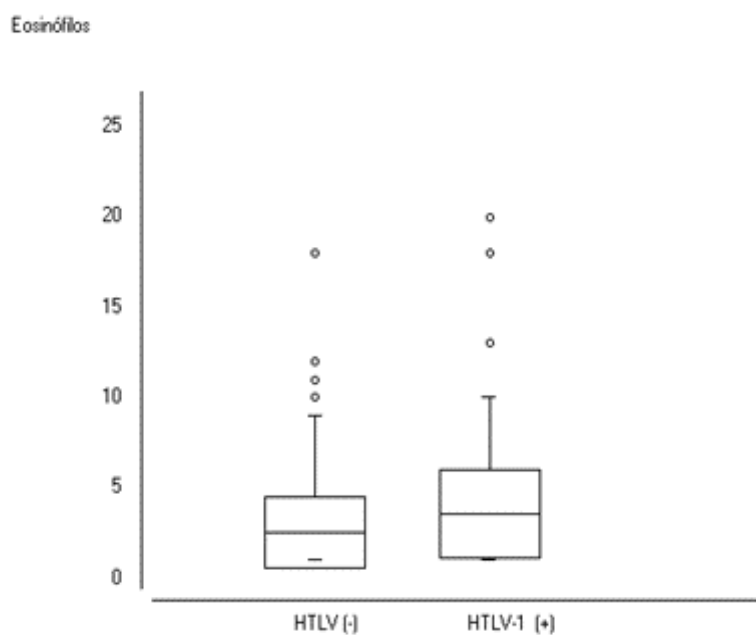
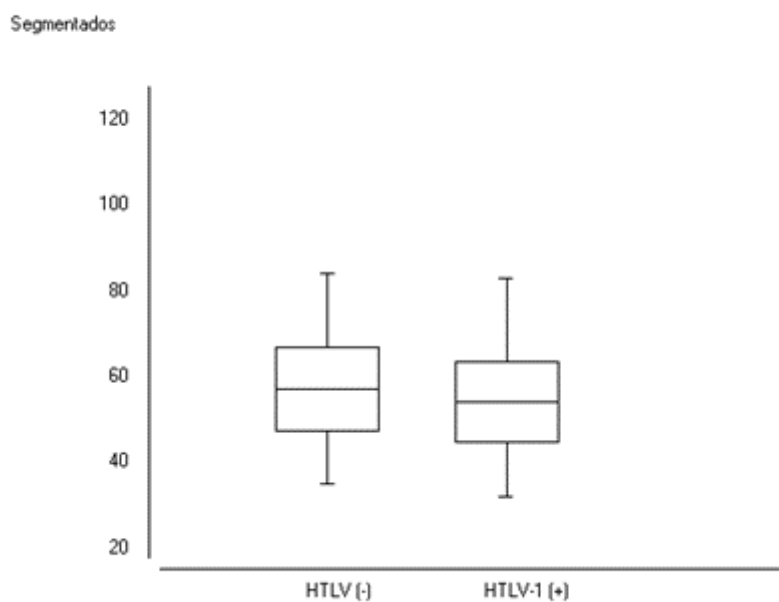


Figura 12. Distribuição de segmentados em pacientes negativos e positivos para HTLV-1

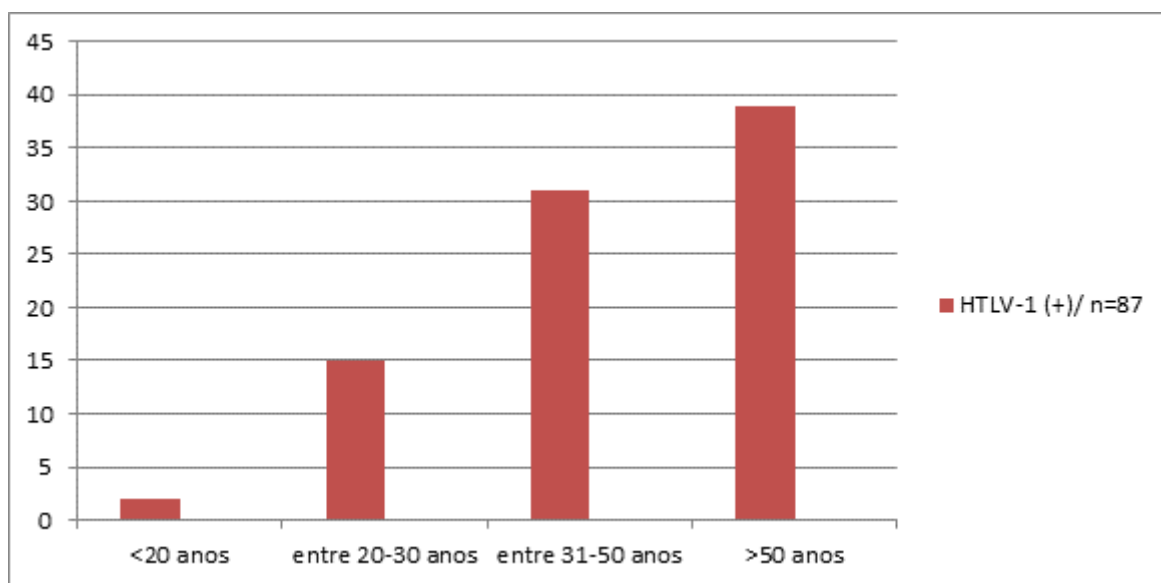


Os dados mostram a presença de indivíduos positivos para HTLV-1 com predominância de idade acima de 50 anos. A tabela 3 demonstra a distribuição da frequência dos indivíduos positivos e negativos entre as idades mencionadas; abaixo de 20 anos, entre 20 e 30 anos, entre 31 e 50 anos e acima de 50 anos de idade. (Figura 13).

Tabela 3. Distribuição das idades na população em estudo por faixa etária de acordo com a presença da infecção por HTLV-1 e o gênero.

| Idade | Negativos n (%) n= 115 | Positivos n (%) n= 87 | Positivos n (%) (Feminino) | Positivos n (%) (Masculino) |
|--------------------|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|--|
| < 20 | 15 (13,1) | 2 (2,3) | 1 (2,6) | 1 (4) |
| Entre 20-30 | 23 (20,0) | 15 (17,2) | 13 (21,0) | 2 (8) |
| Entre 31-50 | 41 (35,6) | 31 (35,6) | 25 (40,3) | 6 (24) |
| > 50 | 36 (31,3) | 39 (44,8) | 23 (37,1) | 16 (64) |

Figura 13. Distribuição das idades entre indivíduos HTLV-1 positivos



Em relação ao número de leucócitos os dados mostraram que 12 pacientes HTLV-1 positivos (13,8%) apresentaram uma alteração no número de leucócitos, levando-se em consideração o intervalo de referência de 5.000 a 10.000/mm³ (HOFFMAN et al., 2012), sendo 4 pacientes com leucocitose e 8 pacientes com leucopenia (Tabela 4). A infecção por HTLV-1 não teve papel significativo para um aumento de casos de indivíduos com leucócitos alterados.

Tabela 4. Análise quanto ao número de leucócitos de casos com e sem infecção por HTLV-1.

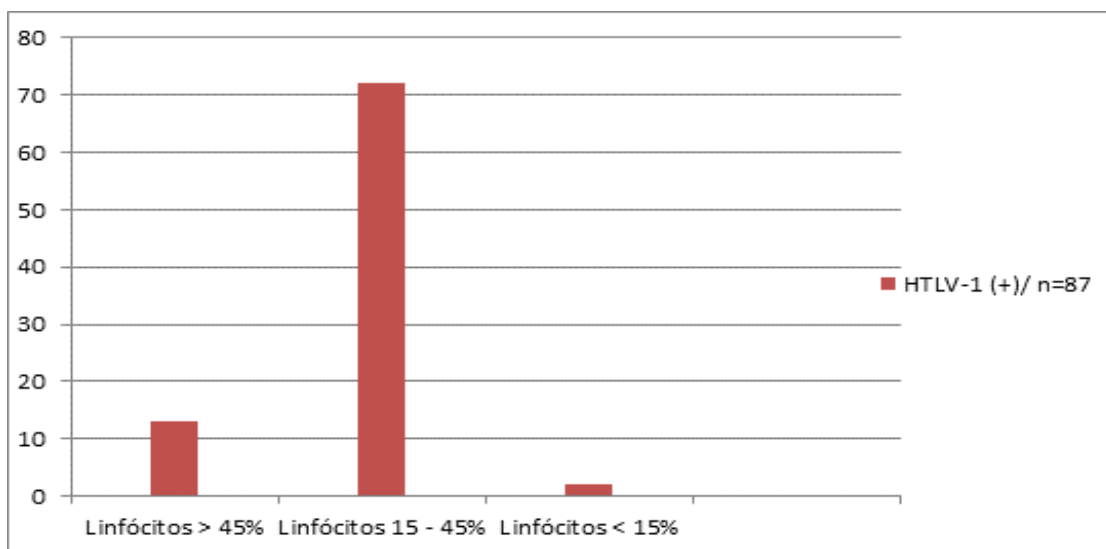
| | Negativos n (%) | Positivos n (%) | p-valor |
|---------------------|-----------------|-----------------|---------|
| Valor normal | 92 (80,0) | 75 (86,2) | |
| Leucocitose | 14 (12,2) | 4 (4,6) | 0,1593 |
| Leucopenia | 9 (7,8) | 8 (9,2) | |

A tabela 5 e a Figura 14 apresentam as frequências de pacientes positivos e negativos para HTLV-1, de acordo com suas contagens de linfócitos. A maioria dos indivíduos positivos para HTLV-1, assim como os não infectados, apresentou contagem normal de linfócitos ($p=0,6191$).

Tabela 5. Análise da frequência na contagem de linfócitos na população em estudo

| | Negativos n (%) | Positivos n (%) | p-valor |
|----------------------------------|-----------------|-----------------|---------|
| Linfócitos > 45% | 12 (10,5) | 13 (14,9) | |
| Linfócitos entre 15 e 45% | 101 (87,8) | 72 (82,8) | 0,6191 |
| Linfócitos < 15% | 2 (1,7) | 2 (2,3) | |

Figura 14. Distribuição de linfocitose entre indivíduos negativos e positivos na população em estudo.



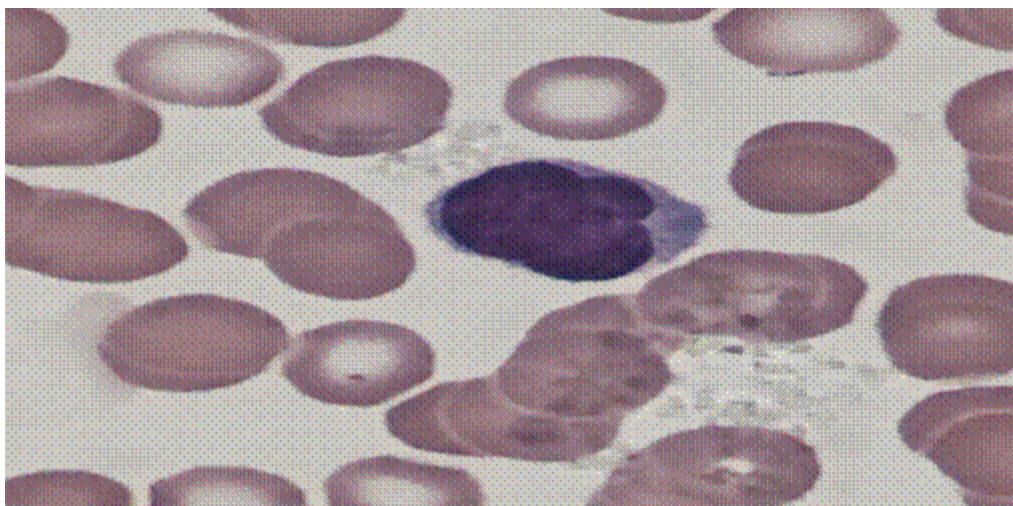
Os linfócitos atípicos foram identificados apenas no sangue periférico dos portadores de HTLV-1, no caso, em 20,7% ($n=18$) e nenhum dos casos negativos

apresentou atipia linfocítica ($p= 0,0001$) (Tabela 6.). Nas figuras 15,16 e 17 estão representados alguns linfócitos atípicos.

Tabela 6. Análise da frequência da população em estudo em relação a ausência ou presença de linfócitos atípicos.

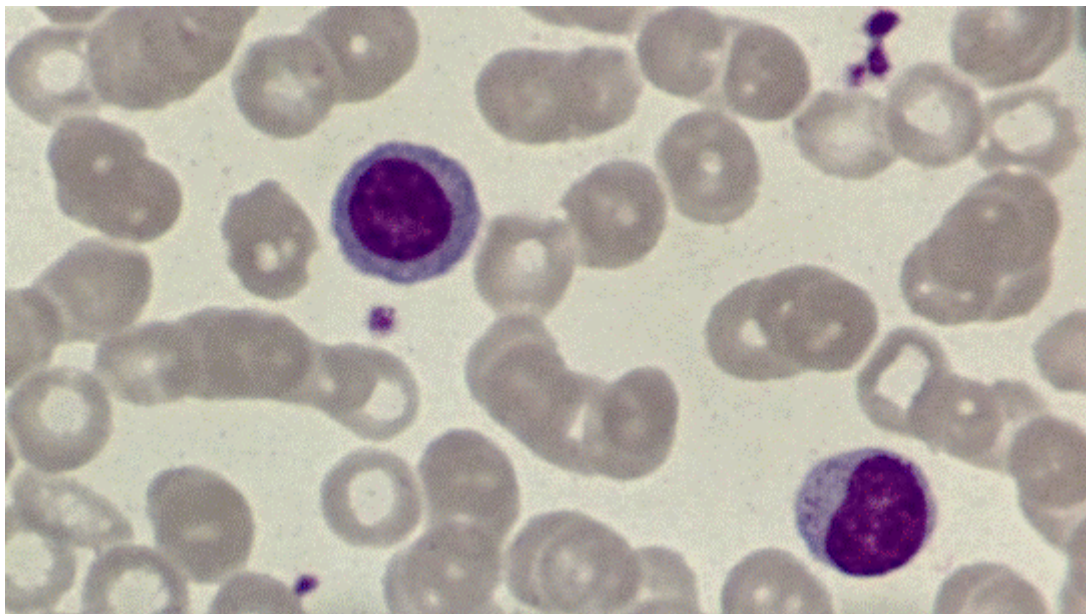
| | Negativos n (%) | Positivos n (%) | p-valor |
|--|------------------------|------------------------|----------------|
| Ausência de linfócitos atípicos | 115 (100) | 69 (79,3) | < 0.0001 |
| Presença de linfócitos atípicos | 0 | 18 (20,7) | |

Figura 15. Linfócito atípico trilobulado, imagem obtida através da visualização microscópica, paciente positivo para HTLV-1



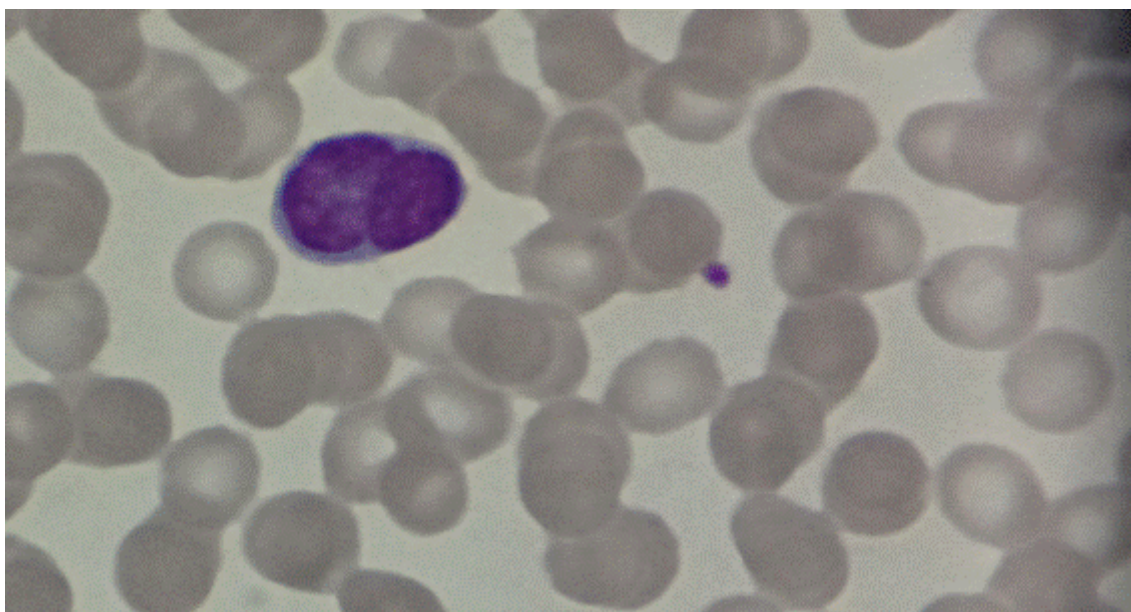
Fonte: Foto elaborada pelo autor, Objetiva 100x.

Figura 16. Linfócito atípico com diâmetro grande e citoplasma abundante (superior esquerda).



Fonte: Foto elaborada pelo autor, Objetiva 100x.

Figura 17. Linfócito atípico bilobulado



Fonte: Foto elaborada pelo autor. Objetiva 100x.

Verificou-se na contagem de eosinófilos que a eosinofilia acima de 15% esteve presente em frequência de 2,3% (n=2) nos portadores de HTLV-1. A maioria desta dos infectados apresentou contagem abaixo de 7% de eosinófilos em seus hemogramas (Tabela 7).

Tabela 7. Análise da frequência de indivíduos negativos e positivos para HTLV1 com presença de eosinófilos.

| | Negativos n (%) | Positivos n (%) | p-valor |
|--|------------------------|------------------------|----------------|
| Eosinófilos \geq 15% | 1 (0.9) | 2 (2.3) | |
| Eosinófilos entre 7 e 14% | 11 (9.5) | 13 (14.9) | 0.3780 |
| Eosinófilos $<$ 7% | 103 (89.6) | 72 (82.8) | |

Em relação à concentração de hemoglobina verificou-se um percentual de 18,4% (n=16) de pacientes abaixo do referencial de corte (12 g/dL à 16g/dL) podendo ser evidenciado uma anemia a estes pacientes, sendo que a maioria dos indivíduos positivos para HTLV-1 apresentaram uma concentração de hemoglobina acima ou igual a 12 g/dL (Tabela 8).

Tabela 8. Análise da concentração de hemoglobina na população em estudo

| | Negativos n (%) | Positivos n (%) | p-valor |
|--|------------------------|------------------------|----------------|
| Hemoglobina g/dL $<$ 10 | 3 (2.6) | 4 (4.6) | 0.6245 |
| Hemoglobina g/dL entre 10-11,9 | 20 (17.4) | 12 (13.8) | |
| Hemoglobina g/dL \geq 12,0 | 92 (80.0) | 71 (81.6) | |

A contagem de plaquetas entre os casos com e sem infecção pelo HTLV-1 se mostrou dentro do padrão aceitável com um referencial mínimo de 150.000/mm³. A contagem de plaquetas não foi relevante em relação à infecção pelo HTLV-1, onde 6 pacientes (6,9%) dos infectados pelo HTLV-1 apresentaram uma plaquetopenia, com valor abaixo de 150.000/mm³(Tabela 9).

Tabela 9. Análise da frequência de pacientes em relação a contagem de plaquetas.

| | Negativos n (%) | Positivos n(%) | p-valor |
|---|------------------------|-----------------------|----------------|
| Contagem \geq150 mil | 109 (94.8) | 81 (93.1) | |
| Contagem entre 100 mil e 149 mil | 6 (5.2) | 4 (4.6) | 0.2269 |
| Contagem $<$ 100 mil | 0 | 2 (2.3) | |

Entre os pacientes HTLV-1 positivos (n=87) estudou-se 22 casos que apresentasse algum sinal, sintoma ou diagnóstico clínico relacionado à infecção. Desses 22 estudados, dois tinham como diagnóstico a mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP) e dois apresentaram furunculose, sendo que nenhum apresentou alguma alteração hematológica. Um paciente foi identificado com Strongilodíase com alteração em seu perfil na série vermelha do sangue, com hemácias, hematócrito e hemoglobinas alteradas. Outro indivíduo positivo apresentou uma fadiga associada com anemia com uma concentração de hemoglobina abaixo de 7,9 g/dL.

Tabela 10. Achados clínicos dos pacientes positivos para HTLV-1 associados a alterações hematológicas.

| | HAM/TSP | Strongilodíase | Furunculose | Anemia/Fadiga |
|---|----------------|--------------------------------|--------------------|----------------------|
| | n (%) | n (%) | n (%) | n(%) |
| HTLV-1(+) | 2 (9,1) | 1(4,5) | 2(9,1) | 1 (4,5) |
| Alteração hematológica | S/A | HC: 2,81 Hb: 4,9 Ht: 1,8 | S/A | Hb <7,9 |
| S/A: sem alteração hematológica, HC: hemácia, Hb: hemoglobina, Ht: Hematócrito | | | | |

7 DISCUSSÃO

Estes dados apresentados sobre o estudo do perfil hematológico de indivíduos infectados pelo HTLV-1 em pacientes atendidos no Núcleo de Medicina tropical na Região metropolitana de Belém do Pará contribuem para o conhecimento sobre a distribuição e a apresentação da característica desta população em relação aos parâmetros hematológicos. Os dados aqui apresentados através desse trabalho, podem demonstrar um perfil hematológicos de pacientes positivos para HTLV-1 e mostrar alterações que possam ajudar em uma investigação de um possível desencadeamento de um agravante desta doença viral, bem como podendo possibilitar em um melhor acompanhamento e aconselhamento dos pacientes infectados.

O hemograma dos indivíduos portadores do HTLV-1 representa uma coleção de testes, que analisam quantitativamente e qualitativamente da morfologia dos elementos figurados sanguíneos. Portanto, o conhecimento das características hematológicas para a população estudada neste experimento torna-se fundamental, uma vez que há poucos padrões hematológicos referenciais nesta população.

Com relação ao perfil sociodemográfico, verificou-se uma maior frequência de indivíduos positivos para HTLV-1 do sexo feminino (71.3%), com idade entre trinta e um e cinquenta anos (40.3%), características semelhantes às encontradas em um estudo realizado em Belém sobre o perfil clínico-epidemiológico de pacientes infectados pelo HTLV-1 (GLÓRIA et al.,2015) que mostraram predominância do sexo feminino pra HTLV-1. A faixa etária predominante no estudo entre os sexos masculino e feminino para pacientes HTLV-1 foi acima de 50 (44.8%).

A existência de uma maior tendência da infecção em indivíduos do sexo feminino pode sugerir que estes sejam mais suscetíveis à infecção pelos HTLV, em função de uma possível transmissão sexual mais eficiente do homem para mulher, possivelmente associado à maior quantidade de linfócitos infectados e viáveis liberados durante a ejaculação masculina como descrito por outros autores (CATALAN-SOARES et al., 2004; MORIUCHI & MORIUCHI, 2004). Na infância, a soropositividade para o HTLV-1 é muito baixa e aumenta a partir da adolescência e início da idade adulta. Nas mulheres esse aumento é mais acentuado e continua após os 40 anos, enquanto que nos homens a positividade é menor e atinge um platô após os 40 anos (ROMANELLI et al., 2010).

Os resultados dos parâmetros do hemograma encontrados neste estudo foram apresentados em tabelas, evidenciando-se os valores pontuais para cada parâmetro do hemograma referente para a população positiva e negativa para HTLV-1 e assim como seus valores mínimos, máximos, médias e desvios-padrão (Tabela 2). Onde através do teste z para amostras independentes a tabela indica dois parâmetros com anormalidades em sua distribuição nas concentrações dentre a população estudada; os segmentados e os eosinófilos.

O aumento de eosinófilos pode estar relacionado à presença de co-infecção, especialmente a *estrongiloidíase* ou de outras parasitoses ou ao próprio processo de leucemogênese. PLUMELLE et al. (1997) sugeriram que hipereosinofilia afeta o prognóstico da leucemia associada ao HTLV-1. A eosinofilia persistente e sem causa definida pode ser um indicador de progressão de doença neoplásica maligna, a LLTA (UTSUNOMIYA et al., 2007). Esse perfil do indivíduo infectado pelo HTLV-1 tem quanto sua resposta imunológica uma média eosinofílica aumentada em comparação aos indivíduos negativos para HTLV-1.

Estudos sugerem que a infecção pelo HTLV-1 está associada a imunossupressão, o HTLV-1 é um vírus de progressão lenta e com baixa virulência (PROIETTI et al. 2005). deste modo fazendo com que não aconteça um aumento significativo dos leucócitos nestes pacientes infectados. A análise conjunta dos dados leucocitários, sem diferenciar por gênero e faixa etária, permite uma visão geral deste perfil hematológico da população. Todavia, em virtude da variação normal que apresentamos na contagem leucocitária foi observado de modo geral que indivíduos com infecção pelo HTLV-1 não provocaram uma diferenciação significativa na contagem total dos leucócitos, seja ela abaixo da referência estipulada (valor de referência 5000 a 10.000 mil/mm³) ou acima desta referência.

Quando temos um processo viral, é comum que o número de linfócitos aumente. Porém o HTLV-1 tem como resposta a infecção preferencialmente células T periféricas, predominantemente linfócitos T CD4⁺ (XIE; GREEN 2005) e agindo de forma latente na maioria das células T, esta resposta imune do hospedeiro frente à infecção viral é um evento crucial, determinando o rumo da resposta imune e um perfil da resposta dos linfócitos influenciando na sua contagem hematológica. Entre a contagem de linfócitos para os positivos HTLV-1 somente 13 no total da população de 87 apresentaram linfocitose (14,9%) ou seja linfócitos acima de 45%. A comparação de linfócitos e leucócitos através de sua contagem não mostrou uma relação a confirmar

estatisticamente direta entre o aumento de leucócitos à custa de linfócitos, não demonstrando uma variação significativa na contagem geral de leucócitos.

A linfocitose acompanhada de leucocitose requer uma maior atenção podendo ter a presença de linfócitos atípicos e podendo corresponder até mais que 10% dos linfócitos circulantes. Os linfócitos atípicos são altamente pleomórficos, muitos deles são grandes com diâmetro entre 15-30 μ m, com citoplasma abundante, intensamente basofílico. Alguns apresentam grandes nucléolos centrais, os núcleos podem ser redondos, ovais, reniformes, lobulados ou ocasionalmente em formato de trevo. A morfologia dos linfócitos pode ser o primeiro sinal para o diagnóstico de LLTA (SHUH & BEILKE, 2005) essas células podem aparecer com anormalidades nucleares significantes como o núcleo multilobulado denominadas *flower cells*. Tendo em vista que a LLTA apresenta formas clínicas distintas, Shimoyama (1991) a classificou em quatro tipos, baseados na extensão da doença, tempo de evolução, alterações linfocitárias e bioquímicas. A forma aguda apresenta linfócitos circulantes anormais e células em forma de flor (*flower cell*), com infiltração de linfonodos e vísceras, além de manifestações tumorais. Os sintomas são geralmente inespecíficos, que podem aparecer em qualquer doença linfoproliferativa.

As formas crônica e latente apresentam melhor prognóstico, porém podem evoluir para a forma aguda a qualquer momento e tem ausência de linfocitose. O genoma do HTLV-1 é integrado, aleatoriamente, ao material genético celular (IWANAGA et al., 2010). Na infecção pelo HTLV-1 há pouco ou nenhum vírion no plasma do indivíduo infectado, refletindo a principal via de replicação viral, a sinapse viral (IGAKURA et al., 2003).

Estudos demonstram que linfócitos T CD4⁺ infectados pelo HTLV-1 persistem durante cerca de 7 anos no mesmo indivíduo, sugerindo que o vírus participe no processo de transformação e imortalização destes linfócitos (BANGHAM et al., 2003). Após a infecção pelo HTLV-1, o período de latência é longo (cerca de 50 anos), indicando que no desenvolvimento da LLTA são necessários múltiplos passos, acumulando-se mutações genéticas nas células infectadas (BANGHAM et al., 2003).

A probabilidade de um portador do HTLV-1 desenvolver LLTA no decorrer de uma latência prolongada mostra que o processo de transformação celular e de leucemogênese devem envolver muitos eventos complexos dentro da célula T do hospedeiro (SHUH & BEILKE, 2005).

Linfócitos com morfologia diferente, que podem ser encontrados no sangue periférico de pacientes saudáveis em uma pequena porcentagem (1 a 4%) denominados de linfócitos atípicos, foram também encontrados nos pacientes positivos para HTLV-1 onde 18 deles (20,7%) apresentaram pelo menos um destes linfócitos, sendo que em 2 pacientes apresentaram um contagem acima do intervalo de referência, um com 5% de linfócitos atípicos e outro com 7% de linfócitos atípicos, a população negativa não apresentou nem uma contagem destes linfócitos. Não foram encontrados nem um linfócito com núcleo em forma de flor dos pacientes positivos.

Em relação aos eosinófilos 9,5% (n=11) dos pacientes negativos apresentaram uma eosinofilia entre 7% e 14%, e entre os positivos 14,9% (n=13) apresentaram uma eosinofilia entre 7% e 14%, alteração esta não relacionada a nem um processo alérgico ou a alguma parasitose, e não houve diferença em relação a frequência entre as populações.

Quanto à concentração de hemoglobina, especificamente, os dados mostraram que, dos 87 pacientes positivos para HTLV-1, 12 (13,8%) apresentavam anemia, com hemoglobina variando de 10,0 a 11,9 g/dL, tomando-se como ponto de corte 12,0 g/dL, em destaque 4 pacientes HTLV-1 (4,6%) apresentando uma hemoglobina abaixo de 10 g/dL e de modo geral uma distribuição normal dentro a população (Valor p = 0.6245).

Avaliando também a contagem de plaquetas na população, com um valor de corte de 150.000 plaquetas/ mm³, obtendo-se um percentual de 5,2% (n=6) abaixo deste perfil para pacientes negativos e 4,6% (n=6) entre positivos dentre os 8 pacientes com concentração de plaquetas abaixo do normal positivos para HTLV-1 tivemos 2 deles com contagem abaixo de 100 mil/mm³, pacientes estes sem apresentar problemas de sangramento intenso. Verificou-se uma normalidade quanto à distribuição das concentrações de plaquetas dentre a população estudada.

A infecção pelo HTLV-1 pode levar a inúmeras alterações do ponto de vista imunológico, oncológico-hematológico, neurológico, reumatológico, infeccioso e oftalmológico. O HTLV causa infecções persistentes ao longo da vida e esse vírus está associado a doenças graves como LLTA. A maioria dos indivíduos infectados permanece assintomática por toda a vida, e cerca de 5% desenvolvem essas doenças. (POETKER et al. 2011). O HTLV-1 é um retrovírus que altera funcionalmente células importantes do sistema imunológico. Ao contrário de outras infecções virais, os indivíduos contaminados pelo HTLV-1 não recebem tratamento antirretroviral devido à

ineficiência destes medicamentos frente ao HTLV-1, portanto, o tratamento do HTLV-1 é restrito às doenças associadas.

Analisando os parâmetros hematológicos, foi encontrada uma correlação com a positividade do vírus e a presença de alguns sintomas e diagnósticos clínicos determinados a estes pacientes positivos, mostrando que 2 pacientes com o diagnóstico confirmado de HAM/TSP segundo critérios clínicos de avaliação realizados nestes pacientes (COSTA, 2016) que não apresentaram alterações dos parâmetros hematológicos em seus hemogramas. Um dos pacientes entre os positivos apresentou strongilodíase, uma parasitose intestinal que provoca uma diminuição do ferro no organismo causando sua deficiência e provocando uma anemia ferropriva. Este paciente teve como alteração significativa a contagem das hemácias ($2.81 \cdot 10^6/\text{mm}^3$), hemoglobina (4.9 g/dL) e hematócrito (16.8%) valores abaixo do referencial (HOFFMAN et al., 2012). Em um destes pacientes foi constatado furunculose sem alteração hematológica e três apresentando anemia com sintoma de fadiga identificados com hemoglobina abaixo de 7.9 g/dL o que explica tal sintoma apresentado já que redução da hemoglobina no sangue pode causar sintomas como fadiga.

8 CONCLUSÃO

Foi detectado que a maior frequência do HTLV-1 se apresentou entre as mulheres, acometendo principalmente aquelas com mais de 50 anos.

Entre os parâmetros hematológicos destacaram-se, o perfil eosinofílico e neutrofílico dos pacientes infectados pelo HTLV-1, havendo relevante associação destes com a infecção.

Não houve alteração significativa no total de leucócitos e dos linfócitos nos infectados pelo HTLV-1.

A presença de linfócitos atípicos nos infectados com HTLV-1 foi significativamente maior que nos não infectados e estas anormalidades nos linfócitos devem ser sempre monitoradas através do hemograma.

Pacientes infectados pelo HTLV-1 apresentam alterações sintomáticas em diferentes graus e devem ser sempre avaliados e monitorados através de exames como o hemograma.

Os resultados deste trabalho indicam a necessidade de mais estudos dos parâmetros hematológicos para uma descrição mais abrangente de casos de infecção pelo HTLV-1.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCAMI, A. & KOSZINOWSKI, U. H. Viral mechanisms of immune evasion. **Trends Microbiol.** Vol. 8, n.9, p. 410-418, 2000.

ANDO, Y. *et al.* Long-term follow-up study of vertical HTLV-I infection in children breast-fed by seropositive mothers. **J infect**, vol. 46, n. 3, p. 177-9, 2003.

ANDRADA-SERPA, M. J. *et al.* Incidence of retroviruses in some Brazilian groups. **Immunol. Lett.** Vol. 18, p. 15-18, 1988.

ARISAWA, K. *et al.* Evaluation of adult T-cell leukemia/lymphoma incidence and its impact on non Hodgkin lymphoma incidence in southwestern Japan. **Int J Cancer.** p. 319-324, 2000.

BAIN, B.J. **Células sanguíneas: um guia prático.** 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007. 488p.

BANGHAM, C.R. *et al.* Genetic control and dynamics of the cellular immune response to the human T-cell leukaemia virus, HTLV-I. **PhilosTrans R SocLond B Biol Sci.** 354, p. 691-700, 1999.

BANGHAM, C.R.M *et al.* Spread of HTLV-I between lymphocytes by virus-induced polarization of the cytoskeleton. **Science**, 2003.

BLATTNER, W. A. Epidemiology of HTLV-1 and associated diseases. Ed. **Human Retrovirology: HTLV.** New York, p. 251-265, 1990.

BRITES, C. *et al.* Severe and Norwegian scabies are strongly associated with retroviral (HIV-1/HTLV-1) infection in Bahia, Brazil. **Aids**, vol.16, n.9, Jun 14, p.1292-3. 2002.

CANN, A.J. and CHEN I.S.Y. Human T-cell leukemia virus types 1. Ed. **Fields Virology.** Chapter 59. Lippincott-raven Publisher, Philadelphia. p.1849-1879, 1996.

CALLATINI, S. *et al.* Discovery of a new human T-cell lymphotropic virus (HTLV-3) in Central Africa. **Retrovirology**, vol. 2, p. 2-30, 2005.

COSTA, C.A. **Diversidade Clínica e Peculiaridades da Transmissão do Vírus Linfotrópico-T Humano em Famílias da Região Metropolitana de Belém-Pará,** 2016.

CATALAN-SOARES, B. C.; PROIETTI, F. A.; CARNEIRO-PROIETTI, A. B. F. Human T-cell lymphotropicviruses (HTLV) in the last decade: epidemiological aspects. **Revista Brasileira de Epidemiologia.** São Paulo, vol. 4, n. 2, 2001.

CATALAN-SOARES, B.; CARNEIRO-PROIETTI, A.; PROIETTI, F.; GRUPO INTERDISCIPLINAR DE PESQUISAS EM HTLV. Vírus-T linfotrópico humano em familiares de candidatos a doação de sangue soropositivos: disseminação silenciosa. **Revista Panamericana de Saúde Pública**, vol. 16, n. 6, p. 387-394, 2004.

CATALAN-SOARES, B.; CARNEIRO-PROIETTI, A.B.; PROIETTI, F.A.; Interdisciplinary HTLV Research Group. Heterogeneous geographic distribution of human T-cell lymphotropic viruses I and II (HTLV-I/II): serological screening prevalence rates in blood donors from large urban areas in Brazil. **Cad. Saúde Pública.** p. 21-31, 2005.

CEESAY, M.M. et al. Phase II study on combination therapy with CHOP-Zenapax for HTLV-I associated adult T-cell leukaemia/lymphoma (ATLL). **Leukemia Research international journal** vol. 36, p. 857-861, 2012.

CHABOT-RICHARDS, D.S.; GEORGE, T.I. **Leukocytosis.** Int. Jnl. Lab. Hem. vol. 36, p. 279–288, 2014.

CLEGHORN, F.R. et al. Effect of Human T-Lymphotropic Virus Type I Infection on Non-Hodgkin's Lymphoma Incidence. **Journal of the National Cancer Institute.** Vol. 87, p. 1009–1014, 1995.

COLIN, D.D. et al. Prevalência da infecção pelo vírus linfotrópico humano de células T e fatores de risco associados à soropositividade em doadores de sangue da cidade de Rio Branco, AC, Brasil (1998-2001). **Revista Brasileira da Sociedade de Medicina Tropical.** Vol. 36, p. 677-683, 2003.

CULLEN, B.R., Mechanism of action of regulatory proteins encoded by complex retroviruses. **Microbiological Reviews.** Vol. 56, n. 3, p. 375-394, 1992.

DELAMARE, L. et al. The HTLV-1 envelope glycoproteins: structure and functions. **Journal of acquired immune deficiency syndromes and human retrovirology,** vol. 13, p. 85-91, 1996.

DE THE G.; KAZANJI M. An HTLV-I/II vaccine: from animal models to clinical trials? **J. Acq. Immun. Def. Synd. Hum. Retrovirol.** Vol. 13, p. 191-198, 1996.

DOURADO, I. et al. HTLV-I in the general population of Salvador, Brazil: a city with African ethnic and socio demographic characteristics. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes,** vol. 34, p. 527-531, 2003.

DUMAS, M. et al. Seroepidemiology of human T-cell lymphotropic virus type I/II in Benin (West Africa). **AIDS research and human retroviruses.** p. 447–451, 1991.

EDLICH R.F.; ARNETTE J.A.; WILLIAMS F.M. Global epidemic of human T-cell lymphotropic virus type-I (HTLV-I). **The Journal of emergency medicine.** Vol. 18, p. 109-119, 2000.

EDLICH, R.F.; HILL L.G.; WILLIAMS F.M. Global epidemic of human T-cell lymphotropic virus type-I (HTLV-I). **The Journal of emergency medicine.** Vol. 13, p. 127–140, 2003.

EDWARDS, D. et al. Orf-I and orf-II-encoded proteins in HTLV-1 infection and persistence. **Viruses.** Vol. 3, p. 861-885, 2001.

ERICHSEN, E.S. et al. **Medicina Laboratorial para o Clínico**, 1 ed. p. 577-586, 2009.

FARRE, L. et al. Early sequential development of infective dermatitis, human T cell lymphotropic virus type 1-associated myelopathy, and adult T cell leukemia/lymphoma. **Clinical Infectious Diseases**. Vol. 46, p. 440-442, 2008.

FERREIRA, L.S.C. et al. Soroprevalência do vírus linfotrópico de células T humanas em comunidades ribeirinhas da região nordeste do Estado do Pará, Brasil. *Revista Pan-Amazônica Saude*. Vol. 1, n. 3, p. 103-108, 2010.

FERREIRA, O.C. JR.; PLANELLES, V.; ROSENBLATT, J.D. Human T-cell leukemia viruses: **epidemiology, biology, and pathogenesis** *Blood Rev* 1997; vol. 11, p. 91-104, 1997.

FRANCHINI, G. Molecular mechanisms of human T-cell leukemia/lymphotropic virus type I infection. **Blood**. vol. 86, P. 3619-3639, 1995.

FRANCHINI, G.; STREICHER, H. Human T-cell leukemia virus. **Baillière's Clinical Haematology**. vol. 8, p. 131-148, 1995.

FUJITO, T.; NAGATA, Y. HTLV-I transmission from mother to child. **Journal of Reproductive Immunology, Limerick**, vol. 47, p. 197-206, Jul. 2000.

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**. vol. 76, p. 12813-12822, 2002.

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

GESSAIN, A. et al. Phylogenetic study of ten new HTLV-I strains from the Americas. **AIDS Res Hum Retroviruses**. Vol. 10, n.1, p. 103-106, 1994.

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

GLÓRIA et al., Perfil clínico-epidemiológico de pacientes infectados pelo HTLV-1 em Belém/Pará, **Cadernos Saúde Coletiva**, p.157-162, 2015.

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

GOTO, K. et al. The seroprevalence of human T-cell leukaemia/lymphoma virus type I in patients with ocular diseases, pregnant women and healthy volunteers in Kanto district, central Japan. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**. Vol. 29, p. 219 - 221, 1997.

GOTUZZO, E. Risk of transfusion-transmitted human T-cell lymphotropic virus-type I in Latin America. **International journal of infectious diseases**. Vol. 4, p. 59-61, 2000.

GREEN, P.L.; CHEN, S.Y. Human T-cell leukemia virus types 1 and 2. In DM Knipe, PM Howley (eds), **Fields Virology**, 4th ed., Lippincott Williams &Wilkins, Philadelphia, PA, 2001.

HATTORI, S. et al. Identification of gag and env gene products of human T-cell leukemia virus (HTLV). **Virology**. vol. 136, p. 338-347, 1984.

HINO, S. et al. Intervention of maternal transmission of HTLV-1 in Nagasaki, Japan. **Leukemia**. Vol. 8, p. 68-70, 1994.

HINUMA, Y. et al. Epidemiology of adult T-cell leukemia virus (HTLV-1/ATLV): origin of virus carriers in Japan. **AIDS Research and Human Retroviruses**. vol. 16, p. 1929-2066, 2000.

HIRAMATSU K, NISHIDA J, NAITO A, YOSHIKURA H. Molecular cloning of the closed circular provirus of human T cell leukaemia virus type I: a new open reading frame in the gag-pol region. **Journal of General Virology**, vol.68, p. 213-218, 1987.

HOFFBRAND, A. V.; MOSS, P. A. H. Fundamentos em hematologia. 6° ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

IGAKURA, T., STINCHCOMBE, J.C., GOON, P.K., TAYLOR, G.P., WEBER, J.N., GRIFFITHS, G.M., TANAKA, Y., OSAME, M., BANGHAM, C.R. Spread of HTLV-I between lymphocytes by virus-induced polarization of the cytoskeleton. *Science*, 299 p.1713-1716, 2003.

ISHIDA, T. et al. Prevalence of a human retrovirus in native Japanese: evidence for a possible ancient origin. **The Journal of infection**, vol.11, p. 153-157, 1985.

ISHAK, R. et al. Identification of human T cell lymphotropic virus type IIa infection in the Kayapo, an indigenous population of Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v.11, n. 7, p. 813-821, 1995.

ITOYAMA Y. et al. Spontaneous proliferation of peripheral blood lymphocytes increased in patients with HTLV-I associated myelopathy. **Neurology**, vol. 38, p.1302-1307, 1988.

IWANAGA, M. et al. Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-1) proviral load and disease progression in asymptomatic HTLV-1 carriers: a nationwide prospective study in Japan. **BLOOD**, v. 116, n. 8, 2010.

JOHNSON, J.M. et al. Molecular biology and pathogenesis of the human T-cell leukaemia/lymphotropic virus Type-1 (HTLV-1). **International Journal of Experimental Pathology**. Vol. 82, p. 135-147, 2001.

KAJIYAMA, W.; KASHIWAGI, S.; IKEMATSU, H.; HAYASHI, J.; NOMURA, H.; OKOCHI, K. Intrafamilial transmission of adult T cell leukemia virus. **Journal of Infectious Diseases**, vol.154, n. 5, p. 851-857, 1986.

KALYANARAMAN, V.S. et al. Immunological properties of a type C retrovirus isolated from cultured human T-lymphoma cells and comparison to other mammalian retroviruses. **Journal of virology**, vol. 38 p. 906-915, 1981.

KIM, S.J. et al. Transactivation of the transforming growth factor b1 (TGF- b1) gene by human T lymphotropic virus type 1 Tax: a potential mechanism for the increased production of TGF-b1 in adult T-cell leukemia. **The Journal of experimental medicine**, vol. 172, p.121-129, 1990.

KINOSHITA, K. et al. Demonstration of adult T-cell leukemia virus antigen in milk from three sero-positive mothers. **Gann**, vol. 75, p. 103-105, 1984.

KITAGAWA, T. et al. Antibodies to HTLV-I in Japanese immigrants in Brazil. **JAMA**, vol. 256, n. 17, p. 2342, 1986.

KORALNIK, I.J.; LEMP, J.F.JR; GALLO, R.C.; FRANCHINI, G. In vitro infection of human macrophages by human T-cell leukemia/lymphotropic virus type I (HTLV-I). **AIDS Research and Human Retroviruses**, vol. 8, p.1845-1849, 1992.

LE BLANC, I. et al. HTLV-1 structural proteins. **Virus research**, vol. 78, p. 5-16, 2001.

LEVINSON, W.; JAWETZ, E. *Microbiologia Médica e Imunologia*. 7. ed. p. 205, 2005.

LORENZI, T.F. et al – *Manual de Hematologia. Propedêutica e clínica*. 3ª edição, Editora Médica Científica, São Paulo, 2003.

MAKINO, M.; WAKAMATSU, S.; SHIMOKUBO, S. ARIMA, N.; BABA, M. Production of functionally deficient dendritic cells from HTLV-I-infected monocytes: implications for the dendritic cell defect in adult T cell leukemia. **Virology**. Vol. 274, p. 140-148, 2000.

MANDELL, G.L.; BENNETT, J.E.; DOLIN, R. Human T-Cell Lymphotropic Virus Types I and II. **Principles and Practice of Infectious Disease**. p. 2098-2118, 2004.

MANNS, A.; HISADA, M.; LA, G.L. Human T-lymphotropic virus type I infection. **Lancet** , vol. 353, p. 1951-1958, 1999.

MARTIN, F.; FEDINA, A.; YOUSHYA, S.; TAYLOR, G.P. A 15-year prospective longitudinal study of disease progression in patients with HTLV-1 associated myelopathy in the UK. **Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry**. Vol. 81, p. 1336-1340, 2010.

MATSUOKA, M. Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I) infection and the onset of adult T-cell leukemia (ATL). **Retrovirology**, vol. 2, p. 27, 2005.

MATSUOKA, M. & JEANG, K.T. Jeang Human T-cell leukaemia virus type 1 (HTLV-1) infectivity and cellular transformation. **Nature Reviews Cancer**. Vol. 7, n. 4, p. 270-280, 2007.

MATSUOKA, M.; YASUNAGA, J. Human T-cell leukemia virus type 1: replication, proliferation and propagation by Tax and HTLV-1 bZIP factor. **Current Opinion in Virology**, vol 3, p. 684-691, 2013.

MESNARD, J-M & DEVAUX, C. Multiple control levels of cell proliferation by human T-cell leukemia virus type 1 Tax protein. **Virology**, vol. 257, p. 277-284, 1999.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Infecção pelo vírus T-linfotópico humano (HTLV). 2006. <http://www.aids.gov.br/assistencia/manualdst/item13.htm>. Acesso em 08/01/2016.

MORIUCHI M, MORIUCHI H. Seminal Fluid Enhances Replication of Human T-Cell Leukemia Virus Type 1: Implications for Sexual Transmission. *J Virol*, 2004; v.78, p. 12709-12711, 2004.

MORTREUX, F.; GABET, A.S.; WATTEL, E. Molecular and cellular aspects of HTLV-1 associated leukemogenesis in vivo. **Leukemia**, vol. 17: p. 26-38, 2003.

MOXOTO, I. et al. Perfil sociodemográfico, epidemiológico e comportamental de mulheres infectadas pelo HTLV-1 em Salvador-Bahia, uma área endêmica para o HTLV. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, vol. 40, p. 37-41, 2007.

MURPHY, E. L. et al. Sexual transmission of human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I). **Annals of internal medicine**, vol. 111, p. 555-560, 1989.

MURPHY, E. L. The clinical epidemiology of human T-lymphotropic virus type II (HTLV-II). **Journal of acquired immune deficiency syndromes and human retrovirology**, vol. 13, p. 215-219, 1996.

NAGAI, M.; YAMANO, Y.; BRENNAN, M.B.; MORA, C.A.; JACOBSON, S. Increased HTLV-I proviral load and preferential expansion of HTLV-I Tax-specific CD8+ T-cells in cerebrospinal fluid from patients with HAM/TSP. **Annals of neurology**. Vol. 50, p. 807-812, 2001.

NAM, S.H.; HATANAKA, M. Identification of a protease gene of human T-cell Leukemia virus type I (HTLV-I) and its structural comparison. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, vol. 139, p. 129-135, 1986.

NAKANO, S.; ANDO, Y.; ICHIJO, M.; MORIYAMA, I.; SAITO, S.; SUGAMURA, K.; HINUMA, Y. Search for possible routes of vertical and horizontal transmission of adult T-cell leukemia virus. **Gan**. Vol. 75, n.12, p. 1044-1045, 1984.

OHSHIMA, K.; OHGAMI, A.; MATSUOKA, M.; ETOH, K.; UTSUNOMIYA, A.; MAKINO, T.; ISHIGURO, M.; SUZUMIYA, J.; KIKUCHI, M. Random integration of HTLV-1 provirus: increasing chromosomal instability. **Cancer letters**. Vol p. 203-212, 1998.

OSAME, M.; USUKU, K.; IZUMO, S. HTLV-I associated myelopathy, a new clinical entity. **Lancet**. Vol. 1, n. 8488, p. 1031-1032, 1986.

PAUN, L.; ISPAS, O.; DEL MISTRO, A.; CHIECO-BIANCHI, L. HTLV-I in Romania. **European journal of haematology**. Vol. 52, n. 2, p.117-118, 1994.

PAUL, W.E. **Fundamental immunology**. 6^a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2008.

PIQUE, C.; PHAM, D.; TURSZ, T.; DOKHELAR, M.C. Human T-cell leukemia virus type I envelope protein maturation process: requirements for syncytium formation. **Journal of virology**. Vol. 66, n. 2, p. 906-913, 1992.

POETKER, S.K.; PORTO A.F.; GIOZZA, S.P.; MUNIZ, A.L.; CASKEY, M.F.; CARVALHO, E.M.; GLESBY, M.J. Clinical manifestations in individuals with recent diagnosis of HTLV type I infection. **Journal of clinical virology**, vol. 51, n. 1, p. 54-58, 2011.

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

POIESZ, B.J.; POIESZ, M.J. & CHOI, D. The Human T-Cell Lymphoma/Leukemia Viruses. **Cancer investigation**, vol. 21, n. 2, p. 253-277, 2003.

POMBO-DE-OLIVEIRA, M. S. et al. T-cell malignancies in Brazil. Clinico-pathological and molecular studies of HTLV-1 positive and negative cases. **International Journal of Cancer**, vol. 60, p. 823-827, 1995.

PLUMELLE, Y. et al. Adult T-cell leukemia-lymphoma: a clinico-pathologic study of twenty-six patients from Martinique. **Hematologic Pathology Journal**. Vol. 7, n. 4, p.251-262, 1993.

PORTO, A. F. et al. HTLV-1 decreases Th2 type of immune response in patients with strongyloidiasis. **Parasite immunology**, v.23, n. 9, p.503-507, 2001.

POULIQUEN, J.F.; DE THÉ, G.; MOREAU, J.P.; GESSAIN, A. Mother-to-child transmission of human T-cell-leukemia/lymphoma virus type I: implication of high antiviral antibody titer and high proviral load in carrier mothers. **International Journal of Cancer**. v. 82, n. 6, p.832-836, 1999.

PROIETTI, F.A.; CARNEIRO-PROIETTI, A.B.; CATALAN-SOARES, B.C.; MURPHY, E.L. Global epidemiology of HTLV-I infection and associated diseases. **Oncogene**, vol. 24, n. 39, p. 6058-6068, 2005.

PROIETTI, A.B.F.C. HTLV, 6^a ed. Belo Horizonte: **Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais**, (Cadernos Hemominas), vol. 16, 2015.

ROMANELLI, L.C.F.; CARAMELLI, P.; CARNEIRO-PROIETTI, A.B.F. O vírus linfotrópico de células T humanos tipo 1 (HTLV-1): QUANDO SUSPEITAR DA INFECÇÃO? **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 3, p. 340-347, 2010.

SABOURI, A.H.; USUKU, K.; HAYASHI, D.; IZUMO S.; OHARA, Y.; OSAME, M. Impaired function of human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-specific CD8+ T cells in HTLV-1-associated neurologic disease. **Blood**. Vol. 112, n. 6, p. 2411-2420, 2008.

SARKODIE, F.; ADARKWA, M.; ADU-SARKODIE, Y.; CANDOTTI, D.; ACHEAMPONG, J.W.; ALLAIN, J.P. Screening for viral markers in volunteer and replacement blood donors in West Africa. **Vox sanguinis**. Vol. 80, n. 3, p. 142-147, 2001.

SATAKE, M.; YAMAGUCHI, K.; TADOKORO, K. Current prevalence of HTLV-1 in Japan as determined by screening of blood donors. **Journal of medical virology**. vol. 84, p. 327-335, 2012.

SATOU, Y.; MATSUOKA, M. HTLV-1 and the host immune system: how the virus disrupts immune regulation, leading to HTLV-1 associated diseases. **Journal of clinical and experimental hematopathology**. Vol. 50, n. 1, p. 1-8, 2010.

SHIMOKUBO, S.; WAKAMATSU, S.; MAEDA, Y.; BABA, M.; MAKINO, M. Fusion of mature dendritic cells and human T-lymphotropic virus type I infected T cells: its efficiency as an antigen-presenting cell. **Virology**, vol. 301, n. 1, p. 13-20, 2002.

SHIMOYAMA, M. Diagnostic criteria and classification of clinical subtypes of adult T-cell leukaemia-lymphoma. A report from the Lymphoma Study Group (1984-87). **British journal of haematology**. Vol. 79, n. 3, p. 428-437, 1991.

SILVA, F.A.; MEIS, E.; DOBBIN, J.A.; OLIVEIRA, M.S.P. Leucemia-linfoma de células T do adulto no Brasil: epidemiologia, tratamento e aspectos controversos. **Revista Brasileira de Cancerologia**, vol. 4, n. 48, p. 585-595, 2002.

SLATTERY, J.P.; FRANCHINI, G.; GESSAIN, A. Genomic evolution, patterns of global dissemination, and interspecies transmission of human and simian T-cell leukemia/lymphotropic viruses. **Genome research**, vol. 9, n. 6, p. 525-540, 1999.

SONG, K. J. et al. Sequence and phylogenetic analyses of human T cell lymphotropic virus type I from a Brazilian woman with adult T cell leukemia: comparison with virus strains from South America and the Caribbean basin. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 52, n. 1, p. 101-108, 1995.

SOUTHERN, S. O.; SOUTHERN, P. J. Persistent HTLV-1 infection of breast luminal epithelial cells: role in HTLV-1 transmission?, **Virology**, New York, v. 241, n. 2, p. 200-214, 1998.

SHUH, S.; BEILKE, M. The Human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1): new insights into the clinical aspects and molecular pathogenesis of adult T-cell

leukemia/lymphoma (ATLL) and tropical spastic paraparesis/HTLV associated myelopathy (TSP/HAM). **Microscopy Research and Technique**, v.68, p. 176-196, 2005.

TAKAHASHI, K.; TAKEZAKI, T.; OKI, T.; KAWAKAMI, K.; YASHIKI, S.; FUJIYOSHI T. Inhibitory effect of maternal antibody on mother-to-child transmission of human T-lymphotropic virus type I. The Mother-to-Child Transmission Study Group . **International journal of cancer**, vol. 49, n. 5, p. 673-677, 1991.

TAKAMOTO, T.; MAKINO, M.; AZUMA, M.; KANZAKI, T.; BABA, M.; SONODA, S. HTLV I infected T cells activate autologous CD4+ T cells susceptible to HTLV-I infection in a costimulatory molecule-dependent fashion. **European Journal of Immunology**, vol. 27, n. 6, p. 1427-1432, 1997.

TILLMANN, M.; WESSNER, R.; WIGDAHL, B. Identification of human T-cell lymphotropic virus type I 21-base-pair repeat-specific and glial cell-specific DNA-protein complexes. **Journal of Virology**. v. 68, n. 7, p. 4597-4608, 1994.

THORSTENSSON, R.; ALBERT, J.; ANDERSSON, S. Strategies for diagnosis of HTLV-I and -II. **Transfusion**, vol. 42, n. 6, p. 780-791, 2002.

TSUKASAKI, K.; MAEDA, T.; ARIMURA, K.; TAGUCHI, J.; FUKUSHIMA, T.; MIYAZAKI, Y. Poor outcome of autologous stem cell transplantation for adult T cell leukemia/lymphoma: a case report and review of the literature. **Bone Marrow Transplant**. vol. 23, n. 1, p. 87-89, 1999.

TSUKASAKI, K.; HERMINE, O.; BAZARBACHI, A.; RATNER, L; RAMOS, J.C.; HARRINGTON, W. JR. Definition, prognostic factors, treatment, and response criteria of adult T-cell leukemia-lymphoma: a proposal from an international consensus meeting. **Journal of clinical oncology** , vol. 27, n. 3, p. 453-459, 2009.

UCHIYAMA, T.; YODOI, J.; SAGAWA, K.; TAKATSUKI, K.; UCHINO, H. Adult T-cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases. **Blood**. Vol. 50, n.3, p. 481-492, 1977.

URETA-VIDAL, A.; ANGELIN-DUCLOS, C.; TORTEVOYE, P.; MURPHY, E.; LEPÈRE, J.F.; BUIGUES, R.P.; JOLLY, N.; JOUBERT. M.; CARLES, G.;

VALLINOTO A.C.R.; ISHAK M.O.G.; AZEVEDO V.N.; VICENTE A.C.P.; OTSUKI K.; HALL W.W.; ISHAK R. Molecular epidemiology of human T-lymphotropic virus type II infection in Amerindian and urban populations of the Amazon region of Brazil. **Human Biology**, vol. 74, n. 5, p. 633-644, 2002.

VAN DOOREN, S.J.A . Molecular investigation of the evolutionary history and diversity of primate Tlymphotropic virus types 1 and 3, 2005.

VARMUS, H. Regulation of HIV and HTLV gene expression. **Genes & Development**. Vol. 2, n.9, p. 1055-1062, 1988.

VIANA, G.M.; NASCIMENTO, M. D.; OLIVEIRA R.A; SANTOS, A.C.; GALVÃO C.S.; SILVA, M.A. Seroprevalence of HTLV-1/2 among blood donors in the state of Maranhão, Brazil. *Revista brasileira de hematologia e hemoterapia*. Vol. 36, n. 1, p. 50-53, 2014.

VEELKEN, H. et al. HTLV-I-associated adult T cell leukemia/lymphoma in two patients from Bucharest, Romania . **Leukemia**, vol.10, n. 8, p. 1366-1369, 1996.

VERDONCK, K.; GONZALEZ, E.; VAN DOREEN, S.; VANDAMME, A.M.; VANHAM, G.; GOTTUZZO, E. Human T-lymphotropic virus 1: recent knowledge about an ancient infection. **The Lancet. Infectious diseases**, vol. 7, n. 4, p. 266-281, 2007.

XIE, L; GREEN, P.L. Envelope is a major viral determinant of the distinct in vitro cellular transformation tropism of human t cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) e HTLV-2. **Journal Virol.** vol. 23, n. 79, p. 1453-1454, 2005.

WHO. Virus diseases: Human T-lymphotropic virus type I, HTLV-I. **The Weekly Epidemiological Record**, vol. 49, p.382-383, 1989

WOLFE, N.D.; HENEINE, W.; CARR, J.K.; GARCIA, A.D.; SHANMUGAM, V.; TAMOUFE, U.; TORIMIRO, J.N.; PROSSER, A.T.; LEBRETON, M.; MPOUDINGOLE, E.; MCCUTCHAN, F.E.; BIRX, D.L.; FOLKS, T.M.; BURKE, D.S.; SWITZER, W.M. Emergence of unique primate Tlymphotropic viruses among central African bushmeat hunters. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, vol. 102, n. 22, p. 7994-7999, 2005

YAMAGUSHI, K.; KIYOKAWA, T.; NAKADA, K.; YUL L.S.; ASOU, N.; TAKATSUKI, K. Polyclonal integration of human Tcell leukaemia/lymphoma virus type I proviral DNA in lymphocytes from human T-cell leukaemia/lymphoma virus type I and type II seropositive individuals; an intermediate state between the healthy carrier state and smoldering adult T-cell leukaemia/linfhoma. **British Journal of Haematology**, vol. 68, p. 169-174, 1988

YOSHIDA, M. et al. Monoclonal integration of human T-cell leukemia provirus in all primary tumors of adult T-cell leukemia suggests causative role of human T-cell leukemia virus in the disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, vol. 81, p. 2534-2537, 1984.

YOSHIDA, M. Multiple viral strategies of HTLV-1 for dysregulation of cell growth control. **Annual review of immunology**, vol. 19, p. 475-496, 2001.

YASUNAGA, J.I.; MATSUOKA, M. HTLV-I and leukemogenesis. **Uirusu**. Vol. 56, n. 2, p. 241-249, 2006

ZIHLMANN, K.F.; ALVARENGA, A.T.; CASSEB, J. Living invisible: HTLV-1-infected persons and the lack of care in public health. **Plos Neglected Tropical Diseases**, vol. 6, n. 6, p. 770-773, 2012.

<https://retrovirology.biomedcentral.com/articles/> Acesso em 17/09/2017

APÊNDICE 1- Termo de consentimento livre esclarecimento (TCLE)



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE

Título: Pesquisando Infecções e doenças infecciosas na Extensão Universitária

O Vírus Linfotrófico T Humano 1 e 2 (HTLV 1 e 2) pode provocar doenças no sistema nervoso que podem levar a paralisia nas pernas, impotência, perdas no controle urinário, entre outros sintomas, além de estar associado a casos de Leucemia/Linfoma (tipo raro de câncer). A transmissão familiar se dá através do contato sexual (homem e mulher) ou aleitamento materno (da mãe para o filho). Esta pesquisa tem como objetivo investigar as infecções e doenças infecciosas durante a extensão universitária minimizando os riscos das doenças associadas ao HTLV.

Caso você aceite participar, será coletado um pouco de sangue por profissionais treinados para este tipo de trabalho, para que não ocorra nenhum problema durante a coleta.

Posteriormente, nessa amostra de sangue, será investigada a presença do vírus, que será realizada em laboratório especializado da Universidade Federal do Pará (UFPA). Os exames realizados pela pesquisa serão gratuitos, não necessitando nenhum custo por parte do sujeito da pesquisa.

Os casos positivos para a infecção serão orientados e convidados para o acompanhamento clínico-ambulatorial e laboratorial no Núcleo de Medicina Tropical/UFPA, onde serão esclarecidos sobre as formas de se evitar a transmissão do HTLV e sobre as principais doenças relacionadas.

Todas as informações coletadas serão mantidas em sigilo, assegurando o anonimato dos participantes, para evitar qualquer dano moral, uma vez que serão utilizados apenas pelos pesquisadores.

Fica claro que o sujeito da pesquisa ou o seu responsável legal, pode a qualquer momento, retirar seu consentimento, que esta pesquisa não apresenta nenhum tipo de ônus para o sujeito da pesquisa e que sua desistência em nada comprometerá o atendimento deste sujeito aos serviços oferecidos pela equipe do projeto.

Consentimento:

Declaro que li e compreendi as informações sobre a pesquisa, que me sinto perfeitamente esclarecido sobre o conteúdo da mesma, assim como os seus riscos e benefícios. Declaro ainda que, por minha livre vontade, aceito participar da pesquisa cooperando com a coleta de material para exame.

Belém, _____ / _____ /201__

Assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável

Laboratório de Biologia Celular e Molecular do Núcleo de Medicina Tropical

Av. generalíssimo Deodoro, nº 92, Umarizal; Fone: 3201-0960

Coordenadora: Profª Dra. Máisa Silva de Sousa / maisasousa@ufpa.br

APÊNDICE 2- Questionário ficha clínico- epidemiológico



PROJETO DE PESQUISA/EXTENSÃO – HTLV

LABMOL: _____ DATA DA COLETA: ____/____/____

MATERIAIS COLETADOS: _____

INFORMAÇÕES CADASTRAIS

NOME: _____ IDADE: ____ SEXO: ____

ESTADO CIVIL: () Solteiro(a) () Casado(a)/Vive junto () Separado(a)/divorciado(a)
() Viúvo(a)

ETNIA: () Branco () Negro () Indígena () Asiático () Pardo

PROFISSÃO/ OCUPAÇÃO: _____

ENDEREÇO: _____ BAIRRO: ____

CIDADE: _____ ESTADO: _____ TELEFONES: _____

Resid. Anterior 1: _____ Resid. Anterior 2: _____

DATA DE NASC.: ____/____/____

INFORMAÇÕES CLÍNICAS E EPIDEMIOLÓGICAS (Sim e Não)

TRANSFUSÃO DE SANGUE: () Sim () Não Quando (ano): _____

MÃE VIVA: () Sim () Não

Nº IRMÃOS: _____ Nº FILHOS: _____

FOI AMAMENTADO NO PEITO: () Sim () Não Tempo: _____

RELAÇÃO SEXUAL:

() HOMOSSEXUAL () HETEROSSEXUAL () RELAÇÃO ESTÁVEL: TEMPO ____

TEVE MAIS DE UM PARCEIRO NA VIDA: () Sim () Não

Nº PARCEIROS NA VIDA: _____ Nº PARCEIROS NO ÚLTIMO ANO: ____

AMAMENTOU OS FILHOS: () Sim () Não Tempo: _____

INFORMAÇÕES SÓCIO-EPIDEMIOLÓGICAS

RENDA FAMILIAR: () <1 MÍNIMO () 1 A 1,9 MÍNIMOS () DE 2 A 4,9
MÍNIMOS () DE 5 A 10 MÍNIMOS () > 10 MÍNIMOS

ESCOLARIDADE: () NÃO ALFABETIZADO () ENSINO FUNDAMENTAL ()
ENSINO MÉDIO () ENSINO SUPERIOR



ANEXO- Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa NMT/UFPA



NÚCLEO DE MEDICINA

TROPICAL-NMT/

UNIVERSIDADE FEDERAL DO

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PESQUISANDO INFECÇÕES E DOENÇAS INFECCIOSAS NA EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA

Pesquisador: MAISA SILVA DE SOUSA

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 38202214.6.0000.5172

Instituição Proponente: Núcleo de Medicina Tropical-NMT/ Universidade Federal do Pará - UFPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.218.417

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo transversal analítico que vai investigar infecções e prevenir doenças sexualmente transmissíveis, a partir de demanda proveniente de ações de extensão universitária, visando não só conhecer os indicadores relacionados, mas também direcionar para o tratamento, quando necessário, e orientar sobre as vias de transmissão, doenças associadas e modos de prevenção de novas infecções.

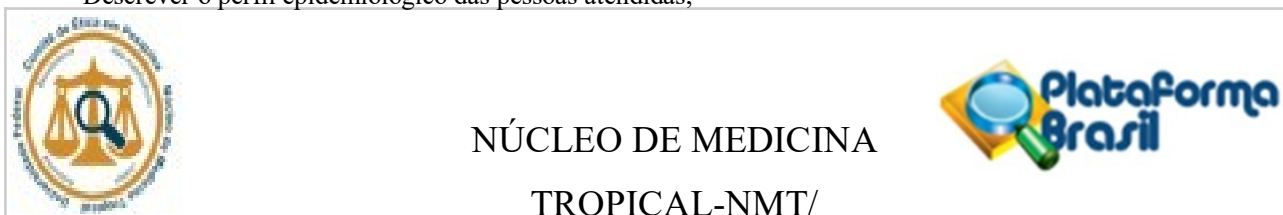
Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Identificar a prevalência de infecções e doenças causadas por transmissão sexual em pessoas atendidas durante as ações de extensão universitária.

Objetivo Secundário:

- Descrever o perfil epidemiológico das pessoas atendidas;



UNIVERSIDADE FEDERAL DO

Continuação do Parecer: 1.218.417

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situaçã |
|--|--|------------------------|-------|---------|
| Projeto Detalhado / Brochura | Projeto CEP Extesão Universitária e Infeções.docx | 29/10/2014 14:18:43 | | Aceito |
| Folha de Rosto | Folha de rosto projeto IST.pdf | 03/11/2014 17:43:53 | | Aceito |
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_380242.pdf | 03/11/2014 17:43:40 | | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de | TCLE PCCU_IST_UFPA_modificado.docx | 11/03/2015 08:49:02 | | Aceito |
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_380242.pdf | 11/03/2015 08:51:42 | | Aceito |
| Outros | Declaração Ricardo LAC.jpg | 29/06/2015 19:22:35 | | Aceito |
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_380242.pdf | 29/06/2015 19:30:18 | | Aceito |

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BELEM, 08 de Setembro de 2015

Assinado por:

ANDERSON RAIOL RODRIGUES

(Coordenador)