

# IMUNOPATOGÊNESE DA MIELOPATIA ASSOCIADA AO HTLV-I

## IMMUNOPATHOGENESIS OF HTLV-I-ASSOCIATED MYELOPATHY/TROPICAL SPASTIC PARAPARESIS

Silvane B. Santos<sup>1, 2</sup>, André Luiz Muniz<sup>1</sup>, Edgar M. Carvalho<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Serviço de Imunologia, Hospital Universitário Professor Edgard Santos, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA;

<sup>2</sup>Laboratório de Análises Clínicas e Parasitológicas, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana, BA, Brasil

O vírus linfotrópico de células T humanas tipo 1 é o principal agente etiológico da mielopatia associada ao HTLV-I/paraparesia espástica tropical (*HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis*, HAM/TSP), condição que ocorre em somente 1 a 5% dos indivíduos infectados. A HAM/TSP é uma síndrome desmielinizante caracterizada por fraqueza progressiva dos membros inferiores, espasticidade e hiperreflexia. Três hipóteses tentam explicar o papel do HTLV-I no desenvolvimento da HAM/TSP: a primeira aponta para um mecanismo de citotoxicidade direta, a segunda sugere auto-imunidade e a última é a “bystander” ou dano circundante que envolveria os linfócitos T CD4+ infectados e os T CD8+ específicos para a proteína viral Tax, que juntos atravessariam a barreira hematoencefálica e produziriam grande quantidade de citocinas pró-inflamatórias levando a um processo de destruição tecidual. Os principais determinantes de risco para o desenvolvimento de HAM/TSP são fatores virais, o polimorfismo genético do hospedeiro, a carga proviral e a resposta imune do hospedeiro. Após infecção pelo HTLV-I as células T ficam hiperativadas e proliferam intensamente induzindo uma produção exagerada de citocinas pró-inflamatórias. Além do aumento de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas importantes no recrutamento de células Th1, observa-se também uma redução significativa das células T regulatórias (CD4+CD25+foxp3+). Estes dados sugerem que a produção exagerada de mediadores solúveis e a ausência de modulação da resposta imune contribuem de forma significativa para a resposta inflamatória observada na HAM/TSP. Como os mecanismos imunológicos são críticos na patogênese da HAM/TSP as estratégias terapêuticas que visam os efeitos imunomodulatórios constituem a melhor alternativa para controle da infecção.

**Palavras-chave:** HTLV-I, HAM/TSP, resposta imune e patogênese.

*Human T cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-I) is the etiologic agent of the HTLV-I associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP), condition that occurs in approximately 1 to 5% of infected individuals. HAM/TSP is a demyelination syndrome characterized by slow and progressive paraplegia of lower extremities, spasticity and hyperreflexia. There are three hypotheses to explain the role of HTLV-I in the development of HAM/TSP: the first hypothesis proposes a mechanism of direct cytotoxicity, the second is an auto-immune hypothesis and the last and the most accepted hypothesis is the “bystander” hypothesis. This hypothesis maintains that infected T CD4+ lymphocytes and Tax specific T CD8+ lymphocyte cross the blood-brain barrier together and produces high amounts of pro-inflammatory cytokines which cause tissue damage. The major determinants of HAM/TSP development are viral factors, host genetic polymorphisms, proviral load and host immune response. After HTLV-I infection, infected T cells are hiperactivated, proliferate intensely and induce to an exaggerated production of pro-inflammatory cytokines. Besides the increase in the levels of pro-inflammatory cytokines and chemokines able to recruit Th1 T cells, a great decrease in number of regulatory T cells (CD4+CD25+foxp3+) is also observed. These data suggest that the exaggerated production of soluble mediators and the absence of modulation contribute to the inflammatory response observed in HAM/TSP. Therefore, immunomodulators are the best alternative to control the infection.*

**Key words:** HTLV-I, HAM/TSP, immune response and pathogenesis.

O vírus linfotrópico de células T humanas tipo I (HTLV-I) é um retrovírus que infecta aproximadamente 15 a 20 milhões de pessoas em todo o mundo. A infecção pelo HTLV-I é endêmica no sudoeste do Japão, no Caribe, algumas regiões da América do Sul, África, Oriente Médio e Melanésia<sup>(10)</sup>. Tem sido observado que as taxas de prevalência diferem de acordo

com a área geográfica, a composição sócio-demográfica da população estudada e comportamentos individuais de risco<sup>(5)</sup>. No Brasil, estudos de prevalência em grupos específicos, confirmam a presença do HTLV-I em todas as regiões do país. Salvador registra uma das mais altas soroprevalência, com números que variam de 1,3% entre doadores de sangue<sup>(14)</sup> e 1,8%, na população geral<sup>(9)</sup>. Estes dados estimam que aproximadamente 40.000 pessoas estejam infectadas pelo HTLV-I na capital baiana.

O HTLV-I foi o primeiro retrovírus associado com doença em humanos. Foi descrito pela primeira vez no Japão em 1977 e inicialmente associado com quadros de leucemia/linfoma de células T do adulto (*Adult T cell leukemia/lymphoma, ATLL*), mas somente em 1980, nos Estados Unidos, foi isolado de

Recebido em 09/06/2009

Aceito em 14/10/2009

Endereço para correspondência: Dra. Silvane Braga Santos - Serviço de Imunologia, 5º. Andar, Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Rua João das Botas s/n, Canela, 40110-160, BA, Brasil. Telefone: (71) 3237 -7353. Fax: (71) 3245-7110. E-mail: imuno@ufba.br.

células T de paciente com linfoma cutâneo<sup>(48)</sup>. A partir de estudos soroepidemiológicos foi possível mostrar que o HTLV-I também estava associado a uma encefalomielopatia endêmica na região do Caribe, conhecida como paraparesia espástica tropical e a uma doença neurológica denominada de mielopatia associada ao HTLV-I<sup>(46)</sup>. Finalmente por verificar-se que se tratava de uma mesma enfermidade foi denominada de HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP).

### HTLV-I e Doenças Associadas

O HTLV-I está associado com infecções crônicas e persistentes das células T humanas que podem causar, no homem, doenças como tumores malignos, imunodeficiências e doenças neurológicas. É o principal agente etiológico da HAM/TSP e da ATLL, condições que ocorrem em somente 3-5% dos indivíduos infectados, enquanto a maioria dos indivíduos infectados não desenvolve doença e por isto são considerados portadores assintomáticos do vírus. Adicionalmente, o HTLV-I tem sido também associado a várias outras condições inflamatórias como polimiosite, poliartrite, uveíte, dermatite infectiva associada ao HTLV-I (DIH) e síndrome de Sjogren<sup>(30 31 44 28)</sup>.

### Características Gerais da HAM/TSP

A HAM/TSP foi descrita inicialmente em 1985, na Martinica, Jamaica e Colômbia, após a constatação da presença de anticorpos anti-HTLV-I no soro de mais de 60% dos pacientes com paraparesia espástica tropical – TSP<sup>(15)</sup>. Em 1986 foi descrita no Japão com a denominação de mielopatia associada ao HTLV-I – HAM<sup>(46)</sup>. Somente em 1988, por concluírem que se tratava de uma mesma doença, foi reconhecida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e denominada de HAM/TSP. Apresenta-se como uma síndrome de desmielinização de início insidioso, caracterizada por rigidez ou fraqueza progressiva dos membros inferiores, espasticidade e hiperreflexia. Nos indivíduos infectados observa-se uma alta frequência de dor lombar, leves sintomas sensitivos (perda ou redução da sensibilidade superficial e/ou profunda) e incontinência urinária. No processo de evolução da doença surge constipação intestinal, diminuição da libido e da potência sexual. Ocorre em cerca de 1 a 5% de indivíduos infectados pelo HTLV-I, afetando frequentemente mais as mulheres que os homens, na proporção 2,5:1 a 3:1. O período de latência para HAM/TSP é mais curto de que para ATLL. Acomete indivíduos predominantemente na 4ª e 5ª décadas de vida e raramente antes dos 20 ou após os 70 anos. Tem sido observado que aproximadamente dez anos após a instalação da doença, cerca de 30% dos pacientes estão paraplégicos e confinados ao leito<sup>(5)</sup>.

A HAM/TSP tem como característica marcante o comprometimento da medula torácica inferior. Estudos histopatológicos evidenciam uma intensa infiltração linfocitária, um processo de desmielinização, degeneração axonal e gliose. Tem sido descrito um processo de degeneração

da substância branca, caracterizada por intensa exsudação, e pouco envolvimento da substância cinzenta. Associado a este quadro observa-se um intenso processo inflamatório com predominância de células mononucleares, principalmente linfócitos T CD4+ e CD8+. Nos casos mais avançados ou de longa duração predominam o processo de degeneração sobre o processo inflamatório com a substituição do padrão celular por um padrão mais atrófico - atrofia medular de moderada à grave<sup>(61)</sup>.

Descrita como lentamente progressiva, a HAM/TSP é considerada uma doença de baixa letalidade. Apesar de alguns aspectos da fisiopatologia do vírus ainda serem desconhecidos, admitem-se três hipóteses para explicar o papel do HTLV-I no desenvolvimento da HAM/TSP: a primeira hipótese aponta para um mecanismo de citotoxicidade direta, onde células T citotóxicas CD8+, específicas para antígenos do HTLV-I, cruzariam a barreira hematoencefálica e destruiriam, por mecanismos citotóxicos diretos ou via produção de citocinas, as células da glia infectadas pelo HTLV-I<sup>(18 40 11)</sup>; a segunda hipótese, denominada de auto-imune, aponta para um processo de mimetismo molecular no qual a semelhança entre uma proteína neuronal (ribonucleoproteína nuclear heterogênea, hnRNP-A1) do hospedeiro e a mais importante proteína do vírus, o antígeno Tax, acarretaria um processo inflamatório de auto-imunidade com lesão neuronal<sup>(29)</sup>, a terceira e última hipótese, a mais aceita de todas, também denominada de dano circundante ou “*bystander*” envolveria os linfócitos T CD4+ infectados e os linfócitos T CD8+ específicos para a proteína viral Tax, que juntos atravessariam a barreira hematoencefálica e produziram grande quantidade de citocinas pró-inflamatórias levando a um processo de intensa inflamação e destruição tecidual<sup>(47 24 36)</sup>. Dando suporte a esta hipótese estão os estudos que mostram que mediadores potencialmente inflamatórios (citocinas, quimiocinas e metaloproteínas), quando produzidos em altas concentrações em locais como no tecido nervoso, podem ser altamente tóxicos<sup>(4)</sup>.

### Determinantes de Risco para Desenvolvimento da HAM/TSP

A elevada frequência de indivíduos soropositivos sadios em áreas endêmicas sugere que outros fatores em adição a infecção pelo HTLV-I tenham importância no desenvolvimento da HAM/TSP. Apesar dos grandes avanços no conhecimento da infecção pelo HTLV-I ainda não conseguimos responder o porquê de somente uma pequena percentagem (0,1% - 2%) de indivíduos infectados por este vírus, dentro dos 20 milhões de infectados no mundo, desenvolvem HAM/TSP. Estudos de associação desenvolvidos em diferentes populações sugerem que tanto fatores virais quanto fatores genéticos do hospedeiro influenciam na apresentação clínica da infecção. Entre estes fatores, estão sendo investigados: a expressão do gene viral (em particular, a expressão do gene transativador *tax* e a expressão da proteína Tax), o polimorfismo genético, a carga proviral e a resposta imune do hospedeiro.

### Fatores Virais

Alterações na estrutura do HTLV-I podem influenciar na apresentação clínica da infecção. Estudos moleculares mostram que o genoma do HTLV-I não sofre muitas mutações e que a proteína imunodominante Tax é naturalmente intolerante a mutações<sup>(43 25)</sup>. Considerada a mais importante proteína regulatória do vírus, Tax é essencial para a replicação viral e para a transformação celular. Alguns poucos estudos demonstraram a existência de variantes específicas do HTLV-I, onde substituições de nucleotídeos no gene tax do HTLV-I seriam consideradas como fatores de risco para o desenvolvimento da HAM/TSP<sup>(12)</sup>.

### Genética do Hospedeiro

A resposta imune contra vírus é caracterizada por intensa resposta dos linfócitos T citotóxicos (LTC) CD8+ específicos para proteínas virais. Na infecção pelo HTLV-I observa-se uma intensa resposta dos LTC direcionada principalmente para a proteína viral Tax e tem sido sugerido que a eficiência da resposta destas células é um importante determinante da patogênese da HAM/TSP<sup>(20)</sup>. Adicionalmente tem sido descrito que uma alta carga proviral é um importante fator de risco para o desenvolvimento de HAM/TSP<sup>(38)</sup>. Como a resposta dos LTC específicos para antígenos do vírus apresenta uma variação individual, sugeriu-se que fatores genéticos (haplótipos do complexo principal de histocompatibilidade humana - *Human Leukocyte Antigen*, *HLA*) do hospedeiro poderiam estar implicados no controle da carga proviral do HTLV-I e, portanto, influenciariam na susceptibilidade ou resistência à HAM/TSP. Estudos imunogenéticos, realizados com populações específicas, no Japão, levantaram a hipótese de que uma forte resposta dos LTC restrita ao HLA classe I controlaria a carga proviral e contribuiria para diminuir o risco da HAM/TSP. Jeffery et al.<sup>(21 22)</sup> descreveram que alelos do HLA classe I (HLA-A\*-02 e HLA-Cw\*-08) estavam associados com uma redução da carga proviral em portadores assintomáticos e uma menor chance de desenvolvimento de HAM/TSP. Como os genes do HLA classe I determinam a especificidade dos LTCs, estas observações sugerem que estes alelos restringem os linfócitos T que são particularmente eficientes em destruir as células infectadas pelo HTLV-I, dando suporte a idéia de que a resposta dos LTCs é um importante determinante de risco para a HAM/TSP. A busca por genes candidatos, não pertencentes ao HLA, também foi descrita em estudos que mostraram que alelos específicos dos genes do TNF- $\alpha$ , IL-10 e IL-15 conferem proteção e diminuem o risco de HAM/TSP<sup>(59 55 51)</sup>. Para apoiar o envolvimento de fatores genéticos do hospedeiro no desfecho clínico da infecção pelo HTLV-I é necessário que sejam conduzidos estudos em outros grupos populacionais.

### Carga Proviral

Uma vez inserido no DNA da célula hospedeira, o HTLV-I se integra na forma de provírus de modo que, a medida da

carga viral é realizada pela quantificação do provírus do HTLV-I. Na infecção pelo HTLV-I, uma alta carga proviral tem sido proposta como o mais importante fator de risco para o desenvolvimento de HAM/TSP. É bem documentado que a carga proviral, tanto no sangue periférico quanto no líquor de pacientes com HAM/TSP, é significativamente mais elevada do que a carga proviral dos portadores assintomáticos do vírus, constituindo assim um importante pré-requisito para o desenvolvimento da HAM/TSP<sup>(37 39)</sup>. Nagai et al.<sup>(37)</sup> descreveram, na população japonesa, uma mediana da carga proviral aproximadamente 16 vezes maior nos pacientes com mielopatia do que nos portadores assintomáticos do vírus. Inicialmente flutuante, a carga proviral alcança um equilíbrio e na maioria dos casos esta permanece estável por muitos anos<sup>(31)</sup>.

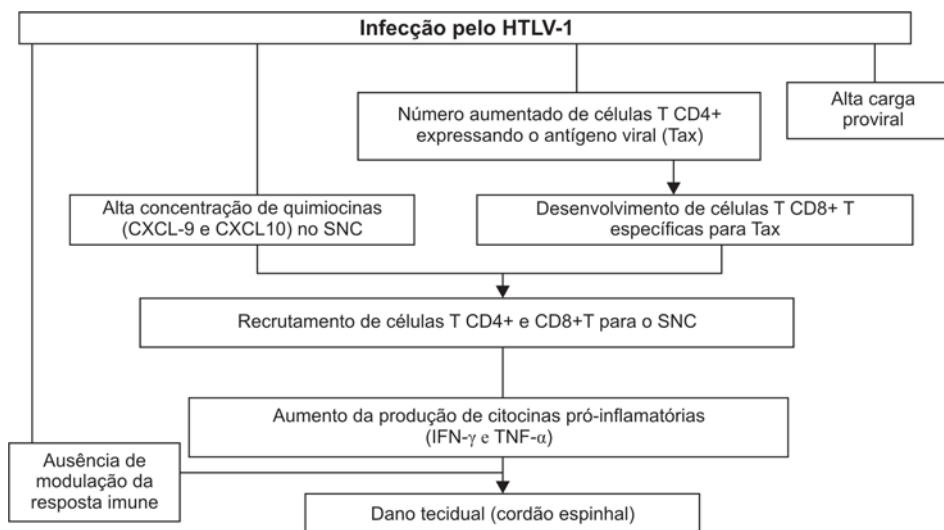
Estudos recentes mostram que a carga proviral do HTLV-I e o risco de desenvolver HAM/TSP são influenciados pela eficiência da resposta imune celular contra o vírus<sup>(2)</sup>. Indivíduos infectados pelo HTLV-I apresentando uma resposta eficiente dos LTC específicos contra Tax conseguem manter a população de células infectadas em equilíbrio, reduzindo a carga proviral, enquanto que em indivíduos com uma resposta pouco eficiente, a carga viral se manteria alta e os LTCs constantemente estimulados e produzindo um excesso de mediadores inflamatórios como IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ <sup>(3)</sup>.

Nos indivíduos com HAM/TSP observa-se uma resposta cronicamente ativada dos LTC, indicando uma expressão persistente das proteínas do HTLV-I<sup>(8 19)</sup>. Vários trabalhos dão suporte aos estudos que mostram que a proliferação celular induzida por Tax é essencial para o estabelecimento de uma infecção crônica e que os LTC específicos para Tax são capazes de diminuir a persistência viral e apresentar um impacto significativo sobre a carga proviral do HTLV-I<sup>(3 17 27)</sup>. Como a HAM/TSP está associada com uma taxa de expressão alta e contínua de Tax, a carga proviral tende a aumentar porque a proliferação induzida por Tax excede a capacidade de lise dos LTC específicos. Usando uma combinação de modelos matemáticos e técnicas experimentais Asquith e Bangham sugerem que a expressão persistente do gene viral, *in vivo*, determina o risco para HAM/TSP<sup>(2)</sup>.

### Resposta Imune

Embora grandes avanços tenham ocorrido nestes quase 30 anos após a descoberta da HAM/TSP, sua imunopatogênese ainda não está completamente compreendida. Na interação vírus-hospedeiro dois aspectos são atualmente reconhecidos como importantes para o desenvolvimento da HAM/TSP: o primeiro é a eficiência da resposta imune celular e o segundo é a taxa de expressão espontânea do antígeno viral, ambos justificados pelas numerosas alterações imunológicas, mediadas principalmente pela expressão de Tax, observadas tanto no sangue periférico quanto no líquor dos pacientes com HAM/TSP.

O HTLV-I tem sido descrito como capaz de infectar, tanto *in vitro* como *in vivo*, um grande número de tipos celulares.

**Figura 1.** Esquema dos principais mecanismos envolvidos na patogênese d HAM/TSP.

OBS: Os danos neurológicos observados na mielopatia associada ao HTLV-I não devem ser resultantes de um único fator e sim determinados por um somatório de fatores.

Todavia os linfócitos T CD4+, e numa menor extensão os linfócitos T CD8+, são considerados como os principais alvos do HTLV-I<sup>(50,34)</sup>. Recentemente foi demonstrado que células dendríticas (pDC – célula dendrítica plasmocitóide; myDC – mielóide e a MDDC – derivada de monócitos) também são facilmente infectadas pelo HTLV-I e capazes, *in vitro*, de eficientemente transmitir o vírus para as células T<sup>(23)</sup>.

Uma vez infectadas pelo HTLV-I as células T proliferam, via ativação de fatores de transcrição celular estimulados pela proteína viral Tax, aumentam a expressão constitutiva de IL-2R e como consequência ocorre uma grande produção de citocinas envolvidas na manutenção e proliferação celular. Tax estimula e regula a expressão de genes virais e celulares interagindo com fatores de transcrição celular e moléculas de sinalização que induzem a proliferação espontânea dos linfócitos T e consequente produção de várias citocinas<sup>(60)</sup>. Como esta ativação é persistente, os linfócitos T infectados pelo vírus ficam hiperativados e proliferam intensamente, fenômeno este demonstrado, *in vitro*, pela linfoproliferação espontânea das células infectadas, mesmo na ausência de estímulos exógenos<sup>(49)</sup>. Avaliando o perfil da resposta imune, utilizando sobrenadante das células mononucleares do sangue periférico de portadores assintomáticos do HTLV-I e controles soronegativos, demonstramos que os indivíduos infectados apresentavam uma intensa produção espontânea de citocinas tanto do tipo 1 (IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ ) como do tipo 2 (IL-5 e IL-10), produzidas principalmente por células T CD4+<sup>(60)</sup>. O envolvimento das células T CD4+ infectadas, como células produtoras de citocinas do tipo 1, e participantes da imunopatogênese da HAM/TSP foi extensivamente publicado em estudos que mostravam um aumento da produção de IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , GM-CSF e IL-1 pelas células T CD4+ de pacientes com HAM/TSP<sup>(45,56)</sup>. Outro estudo desenvolvido pelo grupo

do Serviço de Imunologia mostrou que, quando comparamos a resposta imune de portadores assintomáticos do vírus e pacientes com mielopatia associada ao HTLV-I, apesar da grande variabilidade de produção individual de citocinas, os pacientes com HAM/TSP apresentavam concentrações significativamente mais elevadas de IFN- $\gamma$  do que os portadores assintomáticos do vírus, sugerindo a presença de uma intensa e exagerada resposta imune celular inflamatória nestes pacientes<sup>(53)</sup>. Este e outros achados sugerem que células T com perfil Th1, mais do que células Th2, predominam na população de células T CD4+ dos pacientes com HAM/TSP<sup>(11,45)</sup>.

Uma resposta imune celular é dependente tanto da geração de células T auxiliares CD4+ como também da ativação de LTC CD8+ específicos, com a finalidade de destruir células infectadas. É possível que os LTC específicos para o HTLV-I exerçam tanto efeitos protetores como inflamatórios. Na infecção pelo HTLV-I a resposta desencadeada por células T CD8+ específicas para o HTLV-I, é reconhecida como um evento importante no desenvolvimento da HAM/TSP. Estas células estão cronicamente ativadas e a maioria reconhece a proteína viral Tax<sup>(17,35)</sup>. A ativação dos linfócitos T CD8+ específicos para Tax induz uma intensa produção de citocinas pró-inflamatórias e este fenômeno parece estar diretamente envolvido no desenvolvimento da HAM/TSP<sup>(26,4)</sup>. Como já foi dito anteriormente a frequência dos LTC específicos para o HTLV-I tem uma correlação significativa com a carga proviral do HTLV-I de forma que, quanto maior a carga proviral, maior a frequência desta população de células efetoras<sup>(35)</sup>.

Linfócitos T CD4+ e CD8+ infectados pelo HTLV-I presentes no sangue periférico são capazes de infiltrar a medula espinhal e produzir citocinas pró-inflamatórias como IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-6, mediadores capazes de causar dano tecidual

como os observados na HAM/TSP<sup>(26-47)</sup>. A barreira hematoencefálica constitui a interface entre o sangue e o sistema nervoso central (SNC). Na HAM/TSP a perda da integridade desta barreira é descrita em estudos que evidenciam a infecção das células endoteliais pelo HTLV-I e a passagem de linfócitos infectados através do endotélio cerebral<sup>(1,7)</sup>. Estudos avaliando a capacidade das células T CD4+ de pacientes com HAM/TSP, de migrar e atravessar a barreira hematoencefálica demonstrou que estas células têm uma atividade transmigatória significativamente maior do que as células de portadores assintomáticos ou controles<sup>(13)</sup> e que apresentam uma função Th1 ativada, demonstrando o papel importante destas células no desenvolvimento do processo patológico que se desenvolve no cordão medular dos pacientes com HAM/TSP.

Além das citocinas pró-inflamatórias, as quimiocinas, pequenas proteínas envolvidas no tráfego normal dos leucócitos e no recrutamento de leucócitos para sítios de lesão, têm sido reconhecidas por contribuir para a resposta inflamatória observada na HAM/TSP<sup>(42-32)</sup>. Estudos desenvolvidos pelo nosso grupo demonstraram que CXCL-9 e CXCL-10, quimiocinas reconhecidas como importantes no recrutamento de células Th1, estavam aumentadas no soro de pacientes com HAM/TSP quando comparadas com os portadores assintomáticos do HTLV-I ou controles. Estes sugerem que a presença destas moléculas pode levar a um aumento no recrutamento de fatores pró-inflamatórios para o tecido medular, contribuindo para os danos observados no desenvolvimento da HAM/TSP<sup>(16)</sup>. A Figura 1 apresenta um esquema dos principais mecanismos envolvidos na patogênese da HAM/TSP.

Em indivíduos sadios, sub-populações de células T CD4+CD25+, denominadas de células T regulatórias (*T reg cells*) são capazes, entre outras funções, de suprimir a proliferação e produção de citocinas tanto de células T CD4+ quanto de células T CD8+. Estas células são fenotipicamente similares a células ativadas e podem ser identificadas, *ex vivo*, pela expressão intracelular de Foxp3, um regulador de transcrição gênica. Estudos têm demonstrado uma redução significativa na expressão de Foxp3 e na função das células T regulatórias em várias doenças auto-imunes incluindo esclerose múltipla, miastenia graves e diabetes tipo 1<sup>(52)</sup>. Recentemente foi descrito que no sangue periférico, as células T com o fenótipo CD4+CD25+, são os principais reservatórios do HTLV-I. Quando comparados com portadores assintomáticos, células T CD4+CD25+ de pacientes com HAM/TSP apresentam uma expressão reduzida de Foxp3 e esta redução está associada com a perda da função supressora destas células. Adicionalmente, foi demonstrado que o aumento da expressão do gene tax, é capaz de reduzir a função supressora das células T CD4+CD25+ de controles sadios<sup>(58)</sup>. Yamano et al.<sup>(57)</sup> sugerem que na HAM/TSP, a ativação persistente da resposta imune induzida por Tax, estaria associada a uma diminuição da expressão de células T CD4+CD25+ Foxp3+ com função supressora e a um acúmulo

da população de células T CD4+CD25+Foxp3-, capazes de exacerbar o processo patogênico da HAM/TSP. Estes autores demonstram que nos pacientes com mielopatia associada ao HTLV-I ocorre um aumento da sub-população de células T com o fenótipo de CD4+CD25+CCR4+Foxp3- produtoras de IFN- $\gamma$ , que se correlacionam com severidade da HAM/TSP.

Os estudos acima citados mostram que a ausência de modulação da resposta imune faz com que a produção exagerada de mediadores solúveis produzidos tanto por células T CD4+ quanto CD8+, sejam fatores contribuintes para a patogênese da doença. Na tentativa de modular a resposta imune de pacientes infectados pelo HTLV-I, avaliamos a capacidade de citocinas regulatórias, como IL-10 e TGF- $\beta$  e antagonistas de citocinas (anti-IL-2, anti-IL-12 e anti-IL-15), de reduzir a alta produção espontânea de IFN- $\gamma$ , adicionando às culturas de células mononucleares do sangue periférico de portadores assintomáticos e de pacientes com HAM/TSP estas moléculas. Observamos que a adição de IL-10 e a combinação de anti-IL-2 e anti-IL-15 foi capaz de reduzir significativamente a produção de IFN- $\gamma$  em culturas de células dos portadores assintomáticos, mais não foi capaz de modular a intensa produção de IFN- $\gamma$  pelas células de pacientes com HAM/TSP. Este estudo confirma a descrição de que a ausência de mecanismos regulatórios capazes de diminuir a proliferação celular e a secreção de citocinas produzidas pelas células dos pacientes com HAM/TSP são fatores contribuintes para o desenvolvimento da HAM/TSP<sup>(54)</sup>.

### Considerações Finais

Embora no processo de desenvolvimento da HAM/TSP, a interação das células infectadas pelo HTLV-I, produzindo mediadores solúveis capazes de causar destruição tecidual, seja considerada importante na patogênese da HAM/TSP, o processo molecular induzido por estes mecanismos ainda não está totalmente esclarecido. Grandes avanços foram alcançados nestas últimas décadas, mas infelizmente estes ainda não foram traduzidos na utilização de estratégias terapêuticas capazes de controlar a infecção. As principais estratégias terapêuticas dirigidas para o controle do HTLV-I visam bloquear o vírus (anti-retrovirais) ou controlar a resposta imune (imunomodulatórios)<sup>(41)</sup>. Como os mecanismos imunológicos são críticos na patogênese da HAM/TSP, as estratégias terapêuticas que visam efeitos imunomodulatórios (supressão da ativação imune das células infectadas pelo HTLV-I, inibição da atividade transmigatória das células infectadas para a medula espinhal e a redução do processo inflamatório crônico que se instala na medula), parecem constituir a melhor alternativa. Inúmeros estudos utilizando corticosteróides, inibidores do TNF- $\alpha$  como a pentoxifilina, gamaglobulina ou o uso contínuo de altas doses de vitamina C, foram conduzidos, mas infelizmente, a eficácia destes tratamentos ainda é controversa. Estratégias adicionais incluindo a administração de ácido valpróico (VPA), um inibidor de histonas deacetilases combinado com AZT, de minociclina, um antibiótico que inibe a ativação de monócitos

e macrófagos, de mikb1, um anticorpo monoclonal produzido contra CD122 (IL-2R), a sub-unidade b compartilhada pela IL-2 e IL-15 como também a administração de ciclosporina, um inibidor de proliferação de células T, foram recentemente apresentadas na 14<sup>a</sup>. Conferência Internacional sobre Retrovíruses Humanas: HTLV e Retrovíruses relacionadas (Salvador - julho de 2009) e têm sido utilizadas para tratamento da HAM/TSP. Na ausência de tratamentos eficientes para controlar o processo inflamatório observado na mielopatia associada ao HTLV-I, todas estas estratégias devem ser avaliadas e comprovadas com novos ensaios clínicos.

## Referências

- Afonso PV, Ozden S, Cumont MC, Seilhean D, Cartier L, Rezaie P, Mason S, Lambert S, Huerre M, Gessain A, Couraud PO, Pique C, Ceccaldi PE, Romero IA. Alteration of blood-brain barrier integrity by retroviral infection. *PLoS Pathog* 4: e1000205, 2008.
- Asquith B, Bangham CR. How does HTLV-I persist despite a strong cell-mediated immune response? *Trends Immunol* 29: 4 - 11, 2008.
- Bangham CR. The immune response to HTLV-I. *Curr Opin Immunol* 12: 397 - 402, 2000.
- Biddison WE, Kubota R, Kawanishi T, Taub DD, Cruikshank WW, Center DM, Connor EW, Utz U, Jacobson S. Human T cell leukemia virus type I (HTLV-I)-specific CD8<sup>+</sup> CTL clones from patients with HTLV-I-associated neurologic disease secrete proinflammatory cytokines, chemokines, and matrix metalloproteinase. *J Immunol* 159:2018 - 25, 1997.
- Carneiro-Proietti AB, Ribas JG, Catalan-Soares BC, Martins ML, Brito-Melo GE, Martins-Filho OA, Pinheiro SR, Araujo Ade Q, Galvao-Castro B, de Oliveira MS, Guedes AC, Proietti FA. [Infection and disease caused by the human T cell lymphotropic viruses type I and II in Brazil]. *Rev Soc Bras Med Trop* 35: 499 - 508, 2002.
- Carvalho EM, Bacellar O, Porto AF, Braga S, Galvao-Castro B, Neva F. Cytokine profile and immunomodulation in asymptomatic human T-lymphotropic virus type I-infected blood donors. *J Acquir Immune Defic Syndr* 27: 1 - 6, 2001.
- Cavrois M, Gessain A, Gout O, Wain-Hobson S, Wattel E. Common human T cell leukemia virus type I (HTLV-I) integration sites in cerebrospinal fluid and blood lymphocytes of patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis indicate that HTLV-I crosses the blood-brain barrier via clonal HTLV-I-infected cells. *J Infect Dis* 182: 1044 - 50, 2000.
- Daenke S, Kermodé AG, Hall SE, Taylor G, Weber J, Nightingale S, Bangham CR. High activated and memory cytotoxic T-cell responses to HTLV-I in healthy carriers and patients with tropical spastic paraparesis. *Virology* 217: 139 - 46, 1996.
- Dourado I, Alcantara LC, Barreto ML, da Gloria Teixeira M, Galvao-Castro B. HTLV-I in the general population of Salvador, Brazil: a city with African ethnic and sociodemographic characteristics. *J Acquir Immune Defic Syndr* 34: 527 - 31, 2003.
- Edlich RF, Hill LG, Williams FM. Global epidemic of human T-cell lymphotropic virus type-I (HTLV-I): an update. *J Long Term Eff Med Implants* 13: 127 - 40, 2003.
- Furukawa Y, Saito M, Matsumoto W, Usuku K, Tanaka Y, Izumo S, Osame M. Different cytokine production in tax-expressing cells between patients with human T cell lymphotropic virus type I (HTLV-I)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis and asymptomatic HTLV-I carriers. *J Infect Dis* 187: 1116 - 25, 2003.
- Furukawa Y, Yamashita M, Usuku K, Izumo S, Nakagawa M, Osame M. Phylogenetic subgroups of human T cell lymphotropic virus (HTLV) type I in the tax gene and their association with different risks for HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Infect Dis* 182: 1343 - 9, 2000.
- Furuya T, Nakamura T, Shirabe S, Nishiura Y, Tsujino A, Goto H, Nakane S, Eguchi K, Nakamura H, Nagataki S. Heightened transmigration activity of CD4-positive T cells through reconstituted basement membrane in patients with human T-lymphotropic virus type I-associated myelopathy. *Proc Assoc Am Physicians* 109: 228 - 36, 1997.
- Galvao-Castro B, Loures L, Rodrigues LG, Sereno A, Ferreira Junior OC, Franco LG, Muller M, Sampaio DA, Santana A, Passos LM, Proietti F. Distribution of human T-lymphotropic virus type I among blood donors: a nationwide Brazilian study. *Transfusion* 37: 242 - 3, 1997.
- Gessain A, Barin F, Vernant JC, Gout O, Maurs L, Calender A, de Thé G. Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. *Lancet* 2: 407 - 10, 1985.
- Guerreiro JB, Santos SB, Morgan DJ, Porto AF, Muniz AL, Ho JL, Teixeira AL, Jr., Teixeira MM, Carvalho EM. Levels of serum chemokines discriminate clinical myelopathy associated with human T lymphotropic virus type I (HTLV-I)/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) disease from HTLV-I carrier state. *Clin Exp Immunol* 145: 296 - 301, 2006.
- Hanon E, Hall S, Taylor GP, Saito M, Davis R, Tanaka Y, Usuku K, Osame M, Weber JN, Bangham CR. Abundant tax protein expression in CD4<sup>+</sup> T cells infected with human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) is prevented by cytotoxic T lymphocytes. *Blood* 95: 1386 - 92, 2000.
- Ijichi S, Osame M. Human T lymphotropic virus type I (HTLV-I)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP): recent perspectives. *Intern Med* 34: 713 - 21, 1995.
- Jacobson S, Shida H, McFarlin DE, Fauci AS, Koenig S. Circulating CD8<sup>+</sup> cytotoxic T lymphocytes specific for HTLV-I pX in patients with HTLV-I associated neurological disease. *Nature* 348: 245 - 8, 1990.
- Jacobson S. Immunopathogenesis of human T cell lymphotropic virus type I-associated neurological disease. *J Infect Dis* 186 Suppl 2: 187 - 92, 2002.
- Jeffery KJ, Siddiqui AA, Bunce M, Lloyd AL, Vine AM, Witkover AD, Izumo S, Usuku K, Welsh KI, Osame M, Bangham CR. The influence of HLA class I alleles and heterozygosity on the outcome of human T cell lymphotropic virus type I infection. *J Immunol* 165: 7278 - 84, 2000.
- Jeffery KJ, Usuku K, Hall SE, Matsumoto W, Taylor GP, Procter J, Bunce M, Ogg GS, Welsh KI, Weber JN, Lloyd AL, Nowak MA, Nagai M, Kodama D, Izumo S, Osame M, Bangham CR. HLA alleles determine human T-lymphotropic virus-I (HTLV-I) proviral load and the risk of HTLV-I-associated myelopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 3848 - 53, 1999.
- Jones KS, Petrow-Sadowski C, Huang YK, Bertolette DC, Ruscetti FW. Cell-free HTLV-I infects dendritic cells leading to transmission and transformation of CD4<sup>(+)</sup> T cells. *Nat Med* 14: 429 - 36, 2008.
- Kubota R, Furukawa Y, Izumo S, Usuku K, Osame M. Degenerate specificity of HTLV-I-specific CD8<sup>+</sup> T cells during viral replication in patients with HTLV-I-associated myelopathy (HAM/TSP). *Blood* 101:3074 - 81, 2003.
- Kubota R, Hanada K, Furukawa Y, Arimura K, Osame M, Gojobori T, Izumo S. Genetic stability of human T lymphotropic virus type I despite antiviral pressures by CTLs. *J Immunol* 178: 5966 - 72, 2007.
- Kubota R, Kawanishi T, Matsubara H, Manns A, Jacobson S. Demonstration of human T lymphotropic virus type I (HTLV-I) tax-specific CD8<sup>+</sup> lymphocytes directly in peripheral blood of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis patients by intracellular cytokine detection. *J Immunol* 161: 482 - 8, 1998.
- Kubota R, Nagai M, Kawanishi T, Osame M, Jacobson S. Increased HTLV type 1 tax specific CD8<sup>+</sup> cells in HTLV type 1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis: correlation with HTLV type 1 proviral load. *AIDS Res Hum Retroviruses* 16: 1705 - 9, 2000.

28. LaGrenade L, Hanchard B, Fletcher V, Cranston B, Blattner W. Infective dermatitis of Jamaican children: a marker for HTLV-I infection. *Lancet* 336: 1345 - 7, 1990.
29. Levin MC, Lee SM, Kalume F, Morcos Y, Dohan FC, Jr., Hasty KA, Callaway JC, Zunt J, Desiderio D, Stuart JM. Autoimmunity due to molecular mimicry as a cause of neurological disease. *Nat Med* 8: 509 - 13, 2002.
30. Mariette X, Agbalika F, Zucker-Franklin D, Clerc D, Janin A, Cherot P, Brouet JC. Detection of the tax gene of HTLV-I in labial salivary glands from patients with Sjogren's syndrome and other diseases of the oral cavity. *Clin Exp Rheumatol* 18: 341 - 7, 2000.
31. Matsuzaki T, Nakagawa M, Nagai M, Usuku K, Higuchi I, Arimura K, Kubota H, Izumo S, Akiba S, Osame M. HTLV-I proviral load correlates with progression of motor disability in HAM/TSP: analysis of 239 HAM/TSP patients including 64 patients followed up for 10 years. *J Neurovirol* 7:228 -34, 2001.
32. Montanheiro P, Vergara MP, Smid J, da Silva Duarte AJ, de Oliveira AC, Casseb J. High production of RANTES and MIP-1alpha in the tropical spastic paraparesis/HTLV-I-associated myelopathy (TSP/HAM). *J Neuroimmunol* 188:138 - 42, 2007.
33. Motokawa S, Hasunuma T, Tajima K, Krieg AM, Ito S, Iwasaki K, Nishioka K. High prevalence of arthropathy in HTLV-I carriers on a Japanese island. *Ann Rheum Dis* 55: 193 - 5, 1996.
34. Nagai M, Brennan MB, Sakai JA, Mora CA, Jacobson S. CD8(+) T cells are an in vivo reservoir for human T-cell lymphotropic virus type I. *Blood* 98: 1858 - 61, 2001.
35. Nagai M, Kubota R, Greten TF, Schneck JP, Leist TP, Jacobson S. Increased activated human T cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) Tax11-19-specific memory and effector CD8+ cells in patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis: correlation with HTLV-I provirus load. *J Infect Dis* 183: 197 - 205, 2001.
36. Nagai M, Osame M. Human T-cell lymphotropic virus type I and neurological diseases. *J Neurovirol* 9: 228 - 35, 2003.
37. Nagai M, Usuku K, Matsumoto W, Kodama D, Takenouchi N, Moritoyo T, Hashiguchi S, Ichinose M, Bangham CR, Izumo S, Osame M. Analysis of HTLV-I proviral load in 202 HAM/TSP patients and 243 asymptomatic HTLV-I carriers: high proviral load strongly predisposes to HAM/TSP. *J Neurovirol* 4 : 586 - 93, 1998.
38. Nagai M, Utsunomiya T, Takenouchi N, Izumo S, Osame M. Failure to detect HTLV type I DNA from HTLV type I-seronegative patients with chronic progressive spastic paraparesis in Kagoshima. *AIDS Res Hum Retroviruses* 18: 1089 - 90, 2002.
39. Nagai M, Yamano Y, Brennan MB, Mora CA, 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. *Ann Neurol* 50: 807 - 12, 2001.
40. Nakamura S, Nagano I, Yoshioka M, Shimazaki S, Onodera J, Kogure K. Detection of tumor necrosis factor-alpha-positive cells in cerebrospinal fluid of patients with HTLV-I-associated myelopathy. *J Neuroimmunol* 42: 127 - 30, 1993.
41. Nakamura T. HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP): the role of HTLV-I-infected Th1 cells in the pathogenesis, and therapeutic strategy. *Folia Neuropathol* 47: 182 - 94, 2009.
42. Narikawa K, Fujihara K, Mitsu T, Feng J, Fujimori J, Nakashima I, Miyazawa I, Saito H, Sato S, Itoyama Y. CSF-chemokines in HTLV-I-associated myelopathy: CXCL10 up-regulation and therapeutic effect of interferon-alpha. *J Neuroimmunol* 159: 177 - 82, 2005.
43. Niewiesk S, Daenke S, Parker CE, Taylor G, Weber J, Nightingale S, Bangham CR. The transactivator gene of human T-cell leukemia virus type I is more variable within and between healthy carriers than patients with tropical spastic paraparesis. *J Virol* 68: 6778 - 81, 1994.
44. Nishioka K, Maruyama I, Sato K, Kitajima I, Nakajima Y, Osame M. Chronic inflammatory arthropathy associated with HTLV-I. *Lancet* 1: 441, 1989.
45. Nishiura Y, Nakamura T, Ichinose K, Shirabe S, Tsujino A, Goto H, Furuya T, Nagataki S. Increased production of inflammatory cytokines in cultured CD4+ cells from patients with HTLV-I-associated myelopathy. *Tohoku J Exp Med* 179: 227 - 33, 1996.
46. Osame M, Usuku K, Izumo S, Ijichi N, Amitani H, Igata A, Matsumoto M, Tara M. HTLV-I associated myelopathy, a new clinical entity. *Lancet* 1:1031 - 2, 1986.
47. Osame M. Pathological mechanisms of human T-cell lymphotropic virus type I-associated myelopathy (HAM/TSP). *J Neurovirol* 8: 359 - 64, 2002.
48. Poiesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, Bunn PA, Minna JD, Gallo RC. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 77: 7415 - 9, 1980.
49. Prince H, Kleinman S, Doyle M, Lee H, Swanson P. Spontaneous lymphocyte proliferation in vitro characterizes both HTLV-I and HTLV-II infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 3: 1199 - 200, 1990.
50. Richardson JH, Edwards AJ, Cruickshank JK, Rudge P, Dalgleish AG. In vivo cellular tropism of human T-cell leukemia virus type 1. *J Virol* 64: 5682 - 7, 1990.
51. Sabouri AH, Saito M, Lloyd AL, Vine AM, Witkover AW, Furukawa Y, Izumo S, Arimura K, Marshall SE, Usuku K, Bangham CR, Osame M. Polymorphism in the interleukin-10 promoter affects both provirus load and the risk of human T lymphotropic virus type I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Infect Dis* 190: 1279 - 85, 2004.
52. Sakaguchi S, Ono M, Setoguchi R, Yagi H, Hori S, Fehervari Z, Shimizu J, Takahashi T, Nomura T. Foxp3+ CD25+ CD4+ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. *Immunol Rev* 212: 8 - 27, 2006.
53. Santos SB, Porto AF, Muniz AL, de Jesus AR, Magalhaes E, Melo A, Dutra WO, Gollob KJ, Carvalho EM. Exacerbated inflammatory cellular immune response characteristics of HAM/TSP is observed in a large proportion of HTLV-I asymptomatic carriers. *BMC Infect Dis* 4: 7, 2004.
54. Santos SB, Porto AF, Muniz AL, Luna T, Nascimento MC, Guerreiro JB, Oliveira-Filho J, Morgan DJ, Carvalho EM. Modulation of T cell responses in HTLV-I carriers and in patients with myelopathy associated with HTLV-I. *Neuroimmunomodulation* 13: 145 - 51, 2006.
55. Vine AM, Witkover AD, Lloyd AL, Jeffery KJ, Siddiqui A, Marshall SE, Bunce M, Eiraku N, Izumo S, Usuku K, Osame M, Bangham CR. Polygenic control of human T lymphotropic virus type I (HTLV-I) provirus load and the risk of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Infect Dis* 186: 932 - 9, 2002.
56. Watanabe H, Nakamura T, Nagasato K, Shirabe S, Ohishi K, Ichinose K, Nishiura Y, Chiyoda S, Tsujihata M, Nagataki S. Exaggerated messenger RNA expression of inflammatory cytokines in human T-cell lymphotropic virus type I-associated myelopathy. *Arch Neurol* 52: 276 - 80, 1995.
57. Yamano Y, Araya N, Sato T, Utsunomiya A, Azakami K, Hasegawa D, Izumi T, Fujita H, Aratani S, Yagishita N, Fujii R, Nishioka K, Jacobson S, Nakajima T. Abnormally high levels of virus-infected IFN-gamma+ CCR4+ CD4+ CD25+ T cells in a retrovirus-associated neuroinflammatory disorder. *PLoS One* 4: e6517, 2009.
58. Yamano Y, Takenouchi N, Li HC, Tomaru U, Yao K, Grant CW, Maric DA, Jacobson S. Virus-induced dysfunction of CD4+CD25+ T cells in patients with HTLV-I-associated neuroimmunological disease. *J Clin Invest* 115: 1361 - 8, 2005.
59. Yoshida M, Inoue J, Fujisawa J, Seiki M. Molecular mechanisms of regulation of HTLV-I gene expression and its association with leukemogenesis. *Genome* 31: 662 - 7, 1989.
60. Yoshida M. Multiple viral strategies of HTLV-I for dysregulation of cell growth control. *Annu Rev Immunol* 19: 475 - 96, 2001.
61. Yoshioka A, Hirose G, Ueda Y, Nishimura Y, Sakai K. Neuropathological studies of the spinal cord in early stage HTLV-I-associated myelopathy (HAM). *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 56: 1004 - 7, 1993.