



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
Faculdade de Medicina da Bahia
Fundada em 18 de fevereiro de 1808



Monografia

PREVALÊNCIA DE OSTEOPENIA E OSTEOPOROSE EM INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO HTLV-1 E ASSOCIAÇÃO COM ALTERAÇÕES IMUNOLÓGICAS

Marcelo Kirschbaum

Salvador (Bahia), 2013

UFBA/SIBI/Bibliotheca Gonçalo Moniz: Memória da Saúde Brasileira

Kirschbaum, Marcelo
K61 prevalência de osteopenia e osteoporose em indivíduos infectados pelo htlv-1 e associação com alterações imunológicas / Marcelo Kirschbaum. Salvador: 2013. 25 p.

Anexos.
Orientador: Prof. Dr. Edgar Marcelino de Carvalho..
Monografia (Conclusão de Curso) Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Medicina da Bahia, Salvador, 2013.

1. Infecção por HTLV 2. Osteoporose. 3. Imunologia. 4. Manifestações clínicas. I. Carvalho, Edgar Marcelino de . II. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Medicina da Bahia. III. Título.

CDU - 616.71-007.234:578.828



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
Faculdade de Medicina da Bahia
Fundada em 18 de fevereiro de 1808



Monografia

PREVALÊNCIA DE OSTEOPENIA E OSTEOPOROSE EM INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO HTLV-1 E ASSOCIAÇÃO COM ALTERAÇÕES IMUNOLÓGICAS

Marcelo Kirschbaum

Professor-Orientador: **Edgar Marcelino de Carvalho Filho**

Monografia de Conclusão do Componente Curricular MED-B60, pré-requisito obrigatório e parcial para conclusão do curso médico da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia, apresentada ao Colegiado do Curso de Graduação em Medicina.

Salvador (Bahia), 2013

Monografia: Associação entre HTLV-1e osteopenia/osteoporose

Professor orientador: **Edgar Marcelino de Carvalho**

COMISSÃO REVISORA

- Edgar Marcelino de Carvalho Filho, medico reumatologista, doutor em imunologia, professor titular de Clínica Médica da Universidade Federal da Bahia, professor titular de Imunologia da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, chefe do serviço de Imunologia do Hospital Universitário Professor Edgar Santos

Assinatura:



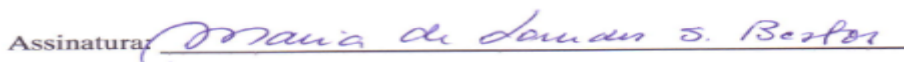
- Jamary Oliveira Filho, doutor em neurologia, Professor Adjunto da Universidade Federal da Bahia e Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPgCS) da Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA.

Assinatura:



- Maria de Lourdes Santana Bastos, doutora em Ciências da Saúde pelo PPgCS/UFBA, professor assistente da Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências, Diretora Científica da SOCIEDADE DE PNEUMOLOGIA DA BAHIA, preceptora da Residência Médica do HUPES da Universidade Federal da Bahia

Assinatura:



- Dione Tonheiro Palmeira Machado, doutoranda do PPgMS-FMB-UFBA

Assinatura:



Membro suplente

- Gildásio de Cerqueira Daltro, livre docente pela Universidade Federal da Bahia, Professor Associado II e Chefe do Departamento de Cirurgia Experimental e Especialidades Cirúrgicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia (FMB-UFBA) e Chefe do Serviço e do Programa de Residência Médica de Ortopedia e Traumatologia do Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgar Santos - Universidade Federal da Bahia (COMHUPES-UFBA)

TERMO DE REGISTRO ACADÊMICO: Monografia avaliada pela Comissão Revisora, e julgada apta à apresentação pública no Seminário Estudantil de Pesquisa da Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA, com posterior homologação do conceito final pela coordenação do Núcleo de Formação Científica e de MED-B60 (Monografia IV). Salvador (Bahia), em ___ de _____ de 20__

“Se o autor não se emociona com a sua própria criação, dificilmente pode esperar que os outros o façam. Com franqueza, divirto-me com as minhas comédias mais do que o público.”

Charles Chaplin

EQUIPE

- Marcelo Kirschbaum, estudante da graduação de medicina da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia;
- Edgar Marcelino de Carvalho Filho, doutor em medicina, médico reumatologista e imunologista, chefe do Serviço de Imunologia do Hospital Universitário Professor Edgard Santos.
- Erich Vater, médico radiologista da clínica Pró-cura.
- Valeria Gusmão Bittencourt, médica reumatologista, mestranda do Serviço de Imunologia do Hospital Universitário Professor Edgard Santos
- Natália Barbosa Carvalho, doutora em Imunologia, pós-doutoranda do Serviço de Imunologia do Hospital Universitário Professor Edgard Santos.
- Silvane Braga Santos, doutora em imunologia, pesquisadora associada do Serviço de Imunologia do Hospital Universitário Professor Edgard Santos.

INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

- Faculdade de Medicina da Bahia

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PROFESSOR EDGAR SANTOS

- Serviço de Imunologia

FONTES DE FINANCIAMENTO

1. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)
2. National Institute of Health (NIH)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a fundamental colaboração do meu professor orientador, Dr. Edgar Marcelino de Carvalho Filho, exímio mestre, sempre presente, auxiliando desde a escolha do tema do trabalho até os momentos finais da confecção do mesmo, sempre disponível e solícito para tirar todas as dúvidas, fornecendo conselhos valiosos. Ao meu colega Yuri Costa Sarno Neves por ter ajudado na confecção deste trabalho e a todo momento na realização da pesquisa. Agradeço também ao Dr. Erich Vater que realizou os exames de densitometria óssea necessários para a conclusão deste trabalho. A Dra. Valéria Gusmão Bittencourt meus agradecimentos pela ajuda no atendimento aos pacientes selecionados para esta pesquisa no Ambulatório Multidisciplinar de HTLV-1. Agradeço também a Cristiano, funcionário do Serviço de Imunologia do HUPES, pelo auxílio as revisões do texto, e a Natalia Borges Carvalho e Silvane Braga Santos por terem fornecido os dados laboratoriais imunológicos, imprescindíveis para as análises estatísticas realizadas. Por fim, agradeço ao apoio e carinho de minha família, sem o qual jamais conseguiria realizar este trabalho.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABELAS E GRÁFICOS	2
I. RESUMO	3
II. OBJETIVOS	4
III. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	5
IV. METODOLOGIA	7
V. RESULTADOS	12
VI. DISCUSSÃO	18
VII. CONCLUSÕES	20
VIII. SUMMARY	21
IX. REFERÊNCIAS	22
X. ANEXOS	
•ANEXO I. Questionário do estudo	26
•ANEXO II. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	28
•ANEXO III. Parecer do Conselho de Ética em Pesquisa	30

ÍNDICE DE TABELAS E GRÁFICOS

TABELA 1.	12
TABELA 2.	13
TABELA 3.	13
FIGURA 1	14
FIGURA 2	15
FIGURA 3	17

I. RESUMO

ASSOCIAÇÃO ENTRE HTLV-I E OSTEOPENIA/OSTEOPOROSE. Introdução: O vírus linfotrópico das células T humanas tipo 1 (HTLV-1) está relacionado a diversas manifestações clínicas e a alterações imunológicas. A osteoporose é uma doença caracterizada pela perda de massa óssea. Existem alterações imunológicas relacionadas à osteoporose, fazendo-se necessário avaliar se existe alguma associação entre a infecção pelo HTLV-1 e osteoporose. Objetivo: Avaliar a frequência de diminuição do índice de massa óssea em indivíduos infectados pelo vírus linfotrópico das células T humanas tipo 1 (HTLV-1) sem mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP). Metodologia: Estudo de corte transversal comparando a frequência de osteopenia e osteoporose em portadores de HTLV-1 separados em dois grupos de acordo com a produção de IFN- γ em sobrenadante de células mononucleares: indivíduos com alta produção (> 1000 pg/ml) e indivíduos com baixa produção (< 500 pg/ml) desta citocina. Foi realizada densitometria óssea em 45 indivíduos infectados pelo HTLV-1 e os exames foram caracterizados de acordo com as diretrizes da Organização Mundial de Saúde. Após isso, os resultados foram comparados com a carga pró-viral e os parâmetros imunológicos (produção de TNF- α , IFN- γ e IL-10). Resultados: Foram avaliados 45 pacientes. A maioria dos pacientes tinham mais que 50 anos de idade. A maioria dos indivíduos infectados (55,6%) apresentavam diminuição da densidade óssea. A presença de osteopenia e osteoporose apresentou diferença significativa ($p=0,038$), em relação com o número de densitometrias normais. Entre os indivíduos do sexo masculino ($N=14$) 2/3 apresentaram alterações da densidade mineral óssea e houve uma associação entre perda da massa óssea e a produção de TNF- α . Discussão: No presente trabalho foi avaliada a produção de IFN- γ , TNF- α e IL-10 assim como a carga pró-viral em indivíduos infectados pelo HTLV-1 com densidade óssea normal, osteopenia e osteoporose e foi encontrado concentrações mais elevadas de TNF- α em indivíduos do sexo masculino com osteopenia do que em portadores de HTLV-1 com densidade óssea normal. Conclusões: A prevalência de osteopenia/osteoporose em indivíduos infectados pelo HTLV-1 é maior do que o registrado na literatura. A elevação da produção de TNF- α observada em indivíduos infectados pelo HTLV-1 do sexo masculino pode ser um dos fatores envolvidos nas alterações do metabolismo ósseo nesta infecção viral.

Palavras-chave: 1. Infecção por HTLV; 2. Osteoporose; 3. Imunologia; 4. Manifestações clínicas

II. OBJETIVOS

PRINCIPAL

Avaliar a frequência de diminuição do índice de massa óssea em indivíduos infectados pelo vírus linfotrópico das células T humanas tipo 1 (HTLV-1) sem mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP).

SECUNDÁRIO

Avaliar a existência de associação entre as concentrações de IFN- γ , TNF- α e IL-10 e o índice de massa óssea em indivíduos infectados pelo HTLV-1.

III. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O vírus linfotrópico das células T humanas tipo 1 (HTLV-1) é o agente causal da leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL) e da mielopatia associada ao HTLV/Paraparesia espástica tropical (HAM/TSP)(9). Estima-se que 20 milhões de indivíduos estão infectados pelo HTLV-1, sobretudo na África, América do Sul e Central e Japão (4). Salvador é a cidade brasileira com maior soroprevalência (1,35%) entre doadores de sangue (3), e 1,76% na população geral (2). A infecção por HTLV-1 é considerada de baixa morbidade, já que menos de 5% dos infectados desenvolvem mielopatia ou ATLL, embora varias doenças ou síndromes tem sido associadas ao HTLV-1 em cerca de 50% dos indivíduos infectados (9, 24). O HTLV-1 infecta predominantemente células CD4+ levando a proliferação e ativação destas células (19). Células CD8 podem também ser infectadas, mas se ativam principalmente para exercer citotoxicidade contra as células CD4 infectadas embora se constituam uma fonte importante de citocinas pró-inflamatórias (22). Células CD4 e células CD8 produzem grande quantidade de citocinas pró-inflamatórias sendo a produção destas moléculas maior em indivíduos com HAM/TSP do que em portadores de HTLV-1 (11). Todavia uma grande percentagem de indivíduos portadores de HTLV-1 ou com manifestações neurológicas como bexiga hiperativa, mas que não preenchem os critérios para HAM/TSP, produzem TNF- α e IFN- γ em concentrações semelhantes às observadas em pacientes com HAM/TSP (21).

As manifestações ou doenças associadas ao HTLV-1 incluem a ATLL, HAM/TSP, síndrome seca, artropatia, doença periodontal, manifestações urológicas, dermatite infecciosa e disfunção erétil. Tem também se documentado associação da infecção pelo HTLV-1 com outras infecções, como tuberculose, estrongiloidiase e esquistomose (1, 7, 8).

A osteoporose é uma doença caracterizada pela perda de massa óssea e deterioração da arquitetura normal do osso, levando a um aumento no risco de fraturas. Estima-se que, no ano de 2000, tenham ocorrido 9 milhões de fraturas decorrentes da osteoporose em todo o mundo (13). Dentre os fatores de risco para osteoporose estão: idade avançada, utilização de terapia com glicocorticóides por longo prazo, baixo peso, sexo feminino, entre outros. Existem diversas causas secundárias conhecidas de perda óssea, como hiperparatireoidismo, hipogonadismo de qualquer causa e deficiência de hormônio do crescimento.

Apesar de serem conhecidos muitos fatores de risco para osteoporose, os mecanismos causadores deste distúrbio ainda não são completamente compreendidos. É bastante conhecido o papel da falta de estrógeno na osteoporose (12). Alguns estudos demonstraram que esta perda óssea relacionada com níveis baixos de estrogênio está relacionada com a atividade de algumas citocinas pro-inflamatórias, como o IL-1 (17). Além do IL-1, tem sido bem relatada na literatura a relação de outras citocinas com o metabolismo ósseo, sendo as principais, TNF- α e beta, IL-1, IL-6 e IL-10 (14, 17, 18). Enquanto o IL-6 só se mostrou importante na ativação de precursores de osteoclastos (OC) (20), IL-1 e TNF atuam tanto na maturação de OC quanto na ativação de OC maduros (15, 25). Estes dados nos levaram à hipótese de que estas citocinas podem ter uma participação importante na patogênese da osteoporose. A infecção pelo HTLV-1 se associa com várias anormalidades do sistema imune caracterizadas principalmente por uma grande produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-6, TNF- α e IFN- γ . Schachter et al, 2003 (23), demonstrou que pacientes com HAM/TSP apresentam maior propensão à osteoporose se comparados a indivíduos soronegativos para HTLV-1. Todavia indivíduos com HAM/TSP têm comprometida a sua atividade locomotora, faixa de idade habitualmente superior aos 60 anos e diminuição de exposição ao sol, fatores que podem influenciar o aparecimento da osteoporose. Desta forma, faz-se necessário avaliar a frequência com que indivíduos infectados pelo HTLV-1 sem HAM/TSP têm alteração da densidade óssea e se a produção exacerbada de citocinas observada nestes indivíduos se associa com osteopenia ou osteoporose.

IV. METODOLOGIA

Hipótese:

O paciente portador do vírus HTLV-1 tem uma maior predisposição para desenvolver osteopenia/osteoporose e esta patologia está associada com alterações da resposta imune observadas nos indivíduos infectados.

Desenho experimental

Estudo de corte transversal comparando a frequência de osteopenia e osteoporose em portadores de HTLV-1: 1) Indivíduos com grande produção de IFN- γ (> 1000 pg/ml) e 2) Indivíduos com baixa produção de IFN- γ (< 500 pg/ml). Os grupos foram pareados por idade (± 5 anos) sendo elegíveis indivíduos com idade entre 30 a 70 anos.

População do estudo e procedimentos realizados

Participaram do estudo indivíduos matriculados no Ambulatório Multidisciplinar de HTLV-1 do Serviço de Imunologia do Complexo Hospital Professor Edgard Santos (HUPES-UFBA), os quais responderam a um questionário (Anexo I) contendo informações sócio-demográficas e clínicas (incluindo idade, sexo, características da menopausa, histórico de osteoporose, uso de medicações, exposição a fatores de risco para osteoporose e de doenças associadas ao HTLV-1). Um exame complementar de imagem foi solicitado aos pacientes – densitometria óssea, que foi realizado por equipe especializada da clínica Pró-cura, que se disponibilizou em realizar os exames, de acordo com o método padrão.

Crêterios de inclusão e de exclusão:

Foram incluídos os pacientes portadores de HTLV-1 pelo método confirmatório de Western Blot e que assinaram do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE, Anexo II). A decisão por participar ou não no estudo não interferiu no acompanhamento dos pacientes no Ambulatório referido. Foram excluídos pacientes com infec o pelo HIV, vírus B e vírus C da hepatite.

Defini o de caso

- 1) Portadores de HTLV-1, sem HAM/TSP. Indivíduos com infec o comprovado pelo HTLV-1 através da técnica de ELISA e Western Blot e que não preenchem os cr terios para HAM/TSP pela Organiza o Mundial de Saúde.

Defini o de osteopenia e osteoporose

A presença de osteopenia ou osteoporose foi definida baseada nos resultados das densitometrias seguindo as diretrizes do Grupo Cientifico de Apoio   Osteoporose da Organiza o Mundial da Saúde (26). Desta forma, foi considerado como portador de osteopenia aquele indivíduo que apresentou T score com valores entre -1,0 e -2,5 desvios-padrão (DP) em rela o ao indivíduos normais; e portador de osteoporose aquele indivíduo que apresentou T score $<-2,5$ DP em rela o aos indivíduos normais.

C culo amostral

Não temos dados prévios com rela o   osteoporose em pacientes infectados pelo HTLV-1. Considerando que a resposta imune tem papel importante no desenvolvimento da osteoporose e que um percentual de portadores de HTLV-1 apresenta anormalidades imunológicas semelhantes a pacientes com HAM/TSP nossa estimativa foi de que osteoporose fosse 2 vezes mais frequente em portadores de HTLV-1 com alta produ o de

IFN- γ do que em indivíduos com baixa produção de IFN- γ . Considerando o poder estatístico de 80% e um alfa de 0.05 seriam necessários 94 pacientes por grupo.

Determinação de citocinas e carga pró-viral

Todos os indivíduos matriculados no Ambulatório Multidisciplinar de HTLV-1 tem carga pró-viral e determinação de TNF- α , IFN- γ , IL-5 e IL-10 quando admitidos no ambulatório. No presente estudo, os dados de carga pró-viral e citocinas foram obtidos do banco de dados do Serviço de Imunologia do HUPES. Abaixo são descritos os métodos utilizados para a determinação dessas variáveis.

Carga Pró-viral

A carga de DNA pró-viral de HTLV-I em células mononucleares de sangue periférico (CMSP) foi mensurada por PCR em tempo real, utilizando o detector de sequencias ABI PRISM 7700 (Applied Biosystems, Foster City, CA). O DNA foi extraído de 1×10^6 células utilizando o Kit de extração Puregene DNA Isolation Kit (Gentra, Minneapolis, MN) de acordo com as instruções do fabricante e 100 ng da solução de amostra de DNA foi analisada. O valor da carga pró-viral foi calculado pela seguinte formula: número de cópias de HTLV-I (pX) por 10^6 células = (número de cópias de pX) / (número de cópias de -actina / 2) x 100.

Estudo imunológico

Separação e cultura de células

Um total de 30 ml de sangue heparinizado foi coletado e a separação das CMSP foi realizada pelo gradiente de densidade utilizando Ficoll-Hypaque e ajustado para uma concentração de 3×10^6 células/ml in RPMI 1640 contendo 10% de soro normal humano, penicilina, estreptomicina, L-glutamina e HEPES (todos da Life Technologies GIBCO BRL, Gaithersburg, MD). As CMSP não foram estimuladas e as culturas foram incubadas a 37°C, com 5% CO₂ por 72 horas. Após incubação, os sobrenadantes foram coletados e mantidos a -20°C, para determinação posterior de citocinas. As concentrações de citocinas foram

determinados pela técnica de ELISA sandwich, utilizando um kit comercial disponível (R&D Systems).

Produção de citocinas

A técnica de ELISA sandwich foi utilizada para detecção dos níveis de IFN- γ , TNF- α e IL-10 utilizando um kit comercial, de acordo com as recomendações descritas pelo fabricante (PharMingen, San Diego, CA). Resumidamente, placas microtituladas foram sensibilizadas com anticorpos purificados anti-citocinas. Após bloqueio, 100 μ L de sobrenadante de cultura ou citocinas recombinantes de referência foram adicionados e incubados. Após incubação, as placas foram incubadas novamente com 1.0 μ g/mL de anticorpo biotilado de camundongo anticitocina humana. Finalizando, estreptavidina conjugada com peroxidase (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO) na diluição de 1/4000 foi utilizada para a revelação com tetrametilbenzidina (Calbiochen, La Jolla, CA). A absorbância foi medida a 450 nm utilizando um leitor de ELISA (Labsystem Multiskan). Os resultados foram expressos em picogramas por milímetro, baseada em uma curva padrão gerada utilizando IFN- γ humano recombinante.

Análise estatística

A análise dos dados foi realizada a partir de variáveis qualitativas (sexo) e quantitativas (idade, concentração de citocinas, carga pró-viral, t score em coluna lombar e fêmur), utilizando medida de tendência central (mediana) e medidas de dispersão (Intervalo interquartil).

Para a inferência estatística, foram realizados os testes de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis para comparar os dados das diferentes análises. Foram consideradas estatisticamente significantes as diferenças cujos valores de p foram inferiores a 0,05 (testes bicaudais). A análise foi conduzida através do programa SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*, IBM) for Windows, versão 20.0.

Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)

Este estudo está inserido no projeto de pesquisa “Resposta imunológica, fatores virais e infecções por helmintos na expressão de doença associada ao HTLV-1”, conduzido no Ambulatório Multidisciplinar de HTLV-1 e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Maternidade Climério de Oliveira (MCO-UFBA) (Parecer/Resolução 030/2008) (Anexo III).

V. RESULTADOS

Foram avaliados 45 pacientes. As características gerais da amostra estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1 – Aspectos demográficos, clínicos, imunológicos e carga pró-viral da amostra estudada				
	n	(%)	Mediana	Intervalo interquartil
Idade			53	13
Sexo				
Masculino	14	31,1%		
Feminino	31	68,9%		
Menopausa	16	35,5%		
Etnia				
Branco	10	26,3%		
Mulato	20	52,6%		
Negro	8	21,1%		
Forma Clínica				
Assintomática	37	82,2%		
Bexiga Hiperativa	8	17,8%		
Dados imunológicos				
TNF- α			423,50	1248,5
IL-10			28,50	137,50
IFN- γ			1494,50	2317,50
Carga pró-viral			40740,00	17289,20

Sessenta por cento dos pacientes avaliados tinham mais que 50 anos de idade e a principal etnia encontrada foi de mulatos. Apesar da maioria dos pacientes apresentarem a forma assintomática da infecção pelo HTLV-1, 17,8% dos pacientes apresentavam bexiga hiperativa associada ao HTLV-1. Os valores tanto de carga pró-viral quanto de citocinas variaram enormemente entre os pacientes estudados.

A avaliação global da presença de osteopenia/osteoporose na população do estudo está apresentada na tabela 2.

Tabela 2 - Resultado das densitometrias nos 45 indivíduos infectados pelo HTLV-1			
	N	(%)	P
Categoria			0,038
Normal	20	44,4%	
Osteopenia	18	40,0%	
Osteoporose	7	15,6%	

A maioria dos indivíduos infectados (55,6%) apresentava diminuição da densidade óssea, sendo osteopenia observada em 40,0% e osteoporose em 15,6%. A presença de osteopenia e osteoporose apresentou diferença significativa ($p=0,038$), em relação com o número de densitometrias normais.

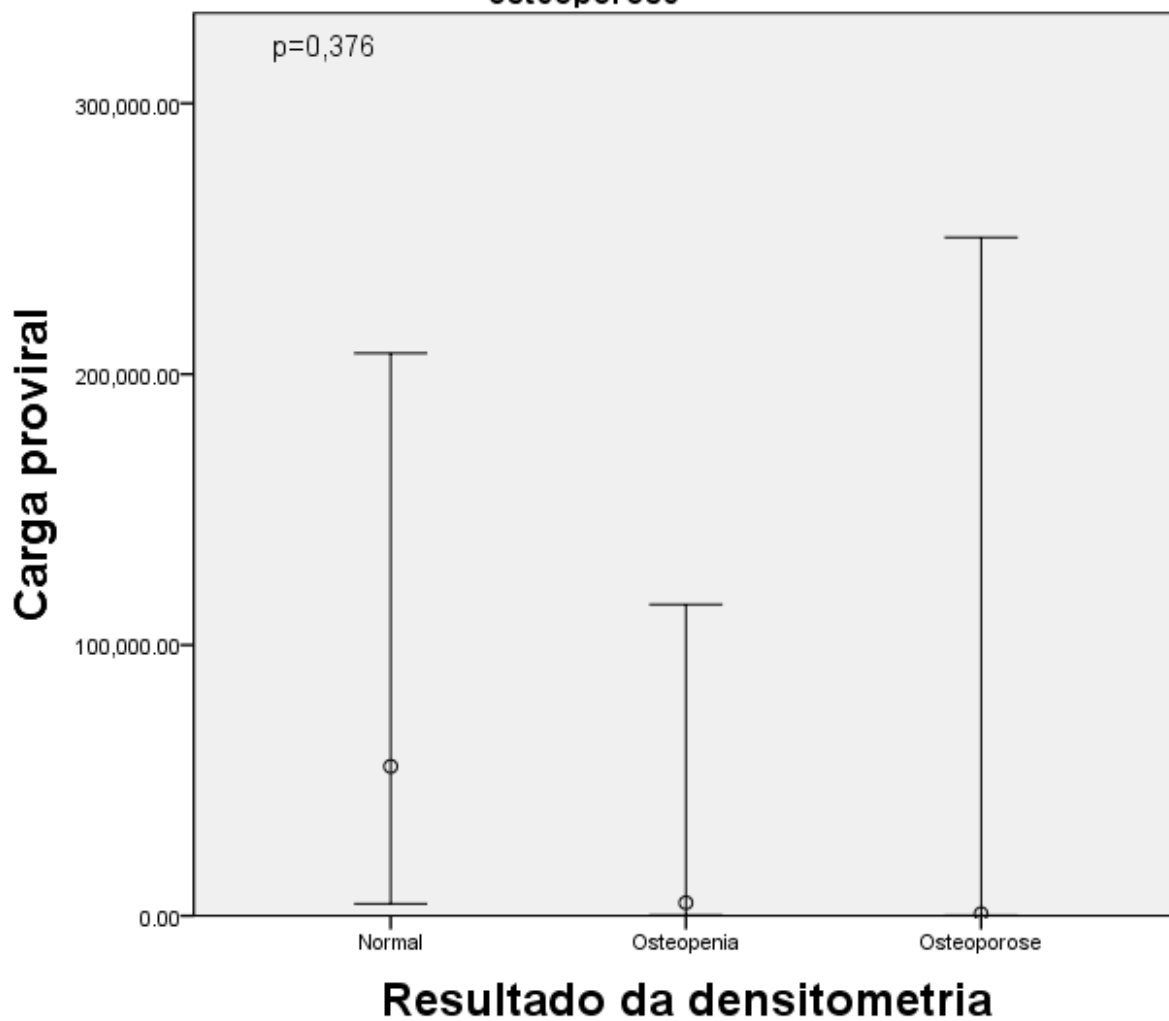
A frequência de osteopenia e osteoporose em relação ao sexo é apresentada na tabela 3.

Tabela 3 - Frequência de osteopenia e osteoporose em relação ao sexo							
	Normal		Osteopenia		Osteoporose		P
Sexo	N	(%)	N	(%)	N	(%)	
Masculino	5	35,7%	6	42,9%	3	21,4%	0,424
Feminino	1	48,4%	12	38,7%	4	12,9%	1,00

Ao avaliar os pacientes do sexo masculino, encontramos que aproximadamente de 2/3 (64,3%) destes pacientes apresentam osteopenia ou osteoporose sendo a osteopenia a alteração mais frequente (42,9%), mas esta diferença não foi significativa ($p=0,424$). No sexo feminino encontramos 48,4% dos indivíduos com alteração no exame densitométrico, sendo 38,7% com osteopenia e 12,9% com osteoporose, não apresentando diferença significativa em relação aos indivíduos normais ($p=1,00$).

A correlação entre a carga pró-viral e a ocorrência de alterações na densidade mineral óssea está apresentada na figura 1.

Figura 1 - Carga proviral em indivíduos infectados pelo HTLV-1 sem HAM/TSP, separados pela apresentação de densidade óssea normal, osteopenia e osteoporose



Barras de erro: 95% CI

Encontramos uma mediana de carga pró-viral de 55170 (IIQ 203320) no grupo normal, 4821 (IIQ 11775) no grupo com osteopenia e 788 (IIQ 125757) no grupo com osteoporose, sem diferença estatisticamente significativa ($p=0,314$).

Na figura 2 estão apresentadas as concentrações séricas das citocinas avaliadas em relação ao resultado densitométrico

Figura 2B - Concentração de IL-10 em indivíduos infectados pelo HTLV-1 com diferentes graus de índice de massa óssea

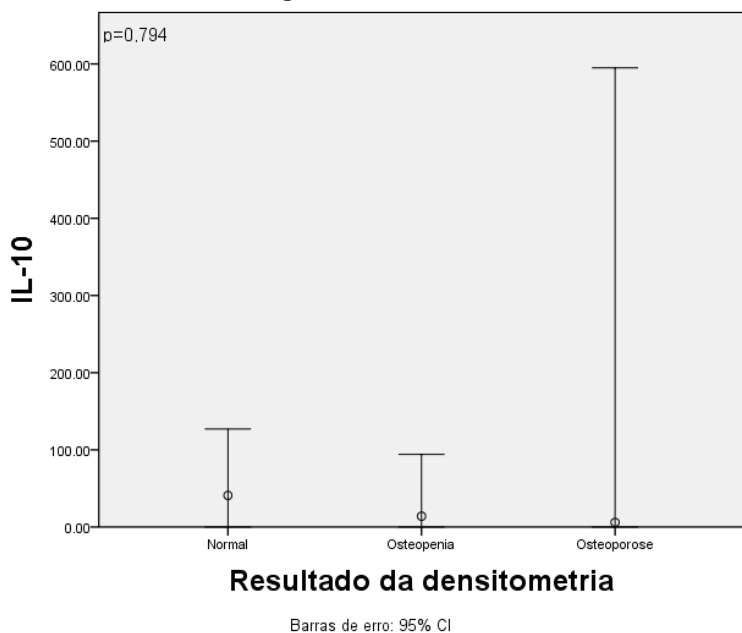


Figura 2A - Concentração de TNF-alfa em indivíduos infectados pelo HTLV-1 com diferentes graus de índice de massa óssea

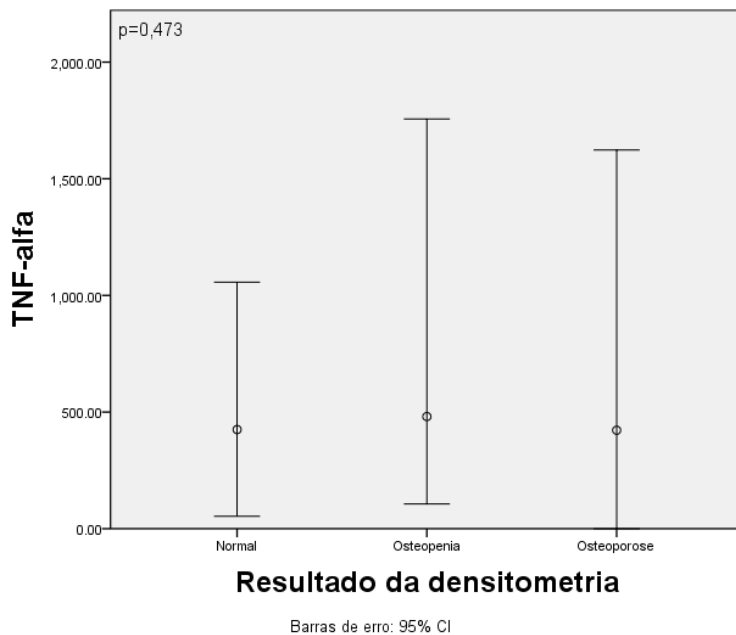
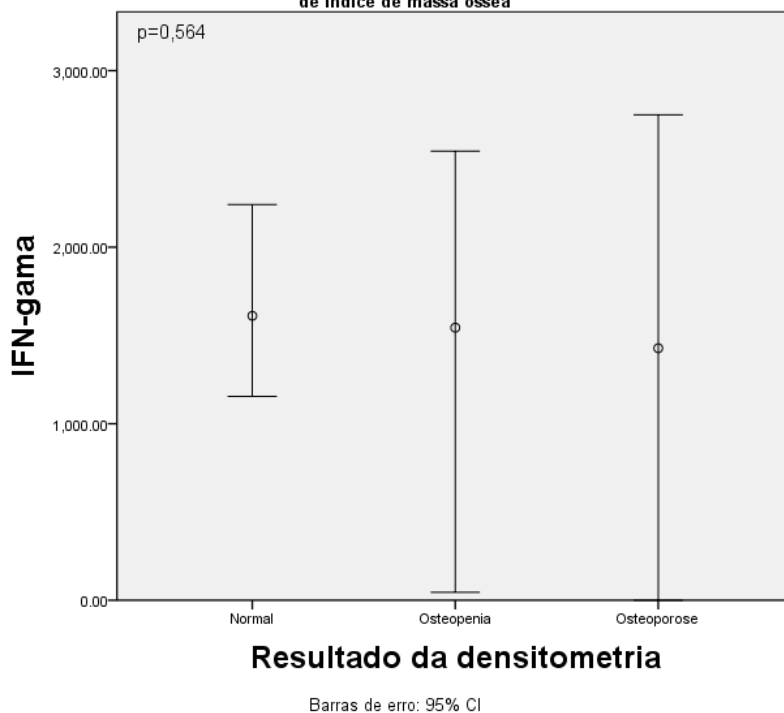


Figura 2C - Concentração de IFN-γ em indivíduos infectados pelo HTLV-1 com diferentes graus de índice de massa óssea

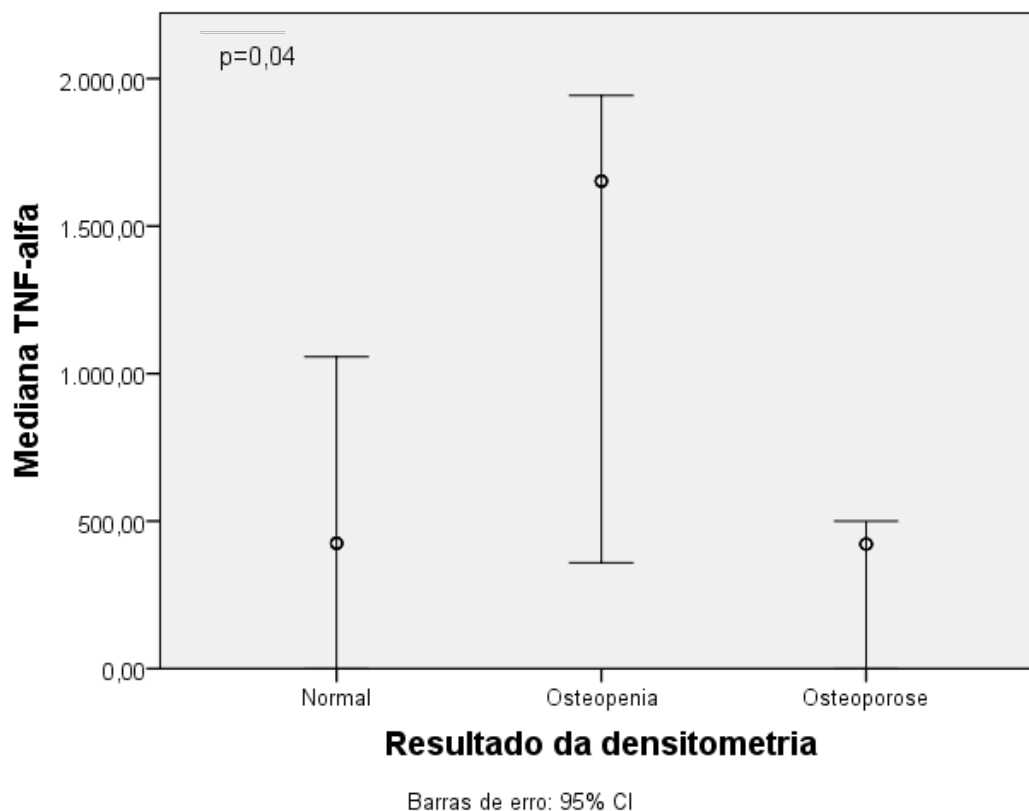


Quando avaliamos a concentração de TNF- α , separando entre os grupos com diferentes resultados densitométricos, encontramos medianas de 425 (IIQ 1004) para o grupo

com densitometria normal, 480 (IIQ 1650) no grupo com osteopenia e 422 (IIQ 525) no grupo com osteoporose, não sendo esta diferença estatisticamente significativa ($p=0,473$) (figura 2A). Em relação ao IL-10, encontramos no grupo com densitometria normal mediana de 41 (IIQ 127), no grupo com osteopenia 14 (IIQ 94) e com osteoporose 6 (IIQ 547), também não encontrando significância estatística nessas diferenças ($p=0,794$) (figura 2B). Quanto ao IFN- γ , encontramos medianas de 1611 (IIQ 1477) no grupo normal, 1544 (IIQ 2499) no grupo com osteopenia e 1428 (IIQ 2195) no grupo com osteoporose, novamente com diferenças não significantes ($p=0,564$) (figura 2C).

A figura 3 mostra as concentrações de TNF- α em indivíduos do sexo masculino com diferentes graus de índice de massa óssea.

Figura 3 - Avaliação das concentrações séricas de TNF- α em relação ao resultado das densitometrias em homens



Encontramos uma mediana de TNF- α de 425 (IIQ 956) nos homens com densitometria normal, 1652 (IIQ 444) nos homens com osteopenia e 422 (IIQ 500) nos homens com osteoporose. Esta diferença apresentou significância estatística ($p=0,04$). Na análise grupo a grupo (normal x osteopenia; normal x osteoporose; osteopenia x osteoporose), encontramos significância na comparação dos pacientes com densitometria normal e aqueles com osteopenia ($p=0,03$). Não encontramos significância ao comparar pacientes sem alterações com osteoporose ($p=0,571$) e osteopenia com osteoporose ($p=0,095$).

VI. DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a prevalência de anormalidades da densidade óssea em indivíduos infectados pelo HTLV-1 sem HAM/TSP. Embora com poder de análise estatística ainda limitado, desde que o estudo ainda se encontra em andamento, foi demonstrado que a maioria dos indivíduos infectados pelo HTLV-1 apresentava osteopenia ou osteoporose e que no grupo de indivíduos do sexo masculino as concentrações de TNF- α foram maiores nos que apresentaram osteopenia ou osteoporose do que nos que tinham densitometria normal.

Existe apenas um estudo na literatura em que a densidade óssea foi avaliada em pacientes com HAM/TSP. Este estudo utilizou a técnica de densitometria por ultrassom no calcâneo e documentou osteopenia ou osteoporose em 100% dos pacientes com HAM/TSP. Há mais de 10 anos foi criado no Hospital Universitário Professor Edgard Santos o ambulatório multidisciplinar de HTLV-1, que tem como um dos objetivos estudar a história natural da infecção causada por este vírus e a morbidade associada ao HTLV-1. Estes estudos têm revelado que uma grande porcentagem de indivíduos infectados pelo HTLV-1 apresentam mais manifestações neurológicas e outras doenças como periodontite crônica, artropatia, síndrome seca, bexiga hiperativa e disfunção erétil do que um grupo controle formado por indivíduos soronegativos (6). Estes estudos têm enfatizado a capacidade da infecção pelo HTLV-1 em produzir manifestações clínicas mesmo em infectados sem HAM/TSP. Desta forma no presente trabalho a nossa amostra foi constituída de indivíduos que não preenchiam os critérios da OMS para HAM/TSP. Como também indivíduos com HAM/TSP têm dificuldade em deambular e tem menos exposição ao sol, fatores que influenciam no desenvolvimento de osteoporose estes foram excluídos do estudo.

Devido à falta de trabalhos sobre a influência de HTLV-1 na densidade óssea faz-se necessário comparar entre indivíduos infectados com HTLV-1 e controles soronegativos a frequência de osteopenia e de osteoporose. Todavia como as manifestações clínicas associadas com o HTLV-1 se relacionam com a carga pró-viral e com as alterações da resposta imune observadas nesta infecção, optamos por comparar a ocorrência de alteração da densidade óssea entre indivíduos que apresentavam da resposta imune muito exacerbada com infectados com alterações mais leves da resposta imunológica. Todavia quando comparamos os valores densitométricos encontrados nos indivíduos infectados pelo HTLV-1 com dados disponíveis na literatura, vemos que a prevalência de osteopenia e osteoporose em homens no

nosso estudo foi muito maior do que o esperado para a faixa etária. Looker et al., em um estudo observacional baseado na amostra do terceiro National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III), encontrou uma prevalência de osteopenia em homens acima de 50 anos de 33% e osteoporose de 4% (16). Sendo assim, podemos inferir que, por algum motivo, o HTLV-1 interfere no metabolismo ósseo, levando o indivíduo a uma propensão a perda de massa óssea.

Como em um estudo prévio foi observado que o ponto de corte de produção de 500pg/ml de IFN- γ servia para separar grupos de baixos produtores e altos produtores desta citocina (5) e como a resposta imune interfere no metabolismo ósseo optamos por comparar a frequência de osteopenia e osteoporose entre baixos (<500pg/ml) e altos produtores de IFN- γ (>1000pg/ml). É conhecido que além da resposta imune vários outros fatores interferem no metabolismo ósseo e podem se associar com alteração na densidade óssea como menopausa, exposição ao sol, concentração sérica de vitamina D, cálcio, fósforo, prostaciclina e osteociclina. Em todos esses casos estudados alíquotas de soro foram guardadas a -20° C e posteriormente, avaliação laboratorial será realizada no sentido de determinar a presença de outros fatores associados com alterações no metabolismo e para também avaliar se as anormalidades imunológicas observadas na infecção pelo HTLV-1 podem alterar a concentração destas substâncias.

Com relação à influência da resposta imune no metabolismo ósseo, já é bastante reconhecido na literatura que várias citocinas estão envolvidas nos mecanismos de perda de densidade mineral óssea, atuando principalmente na reabsorção óssea por meio dos osteoclastos. As principais citocinas que estão associadas a esta patogênese são o TNF- α , IL-1 e IL-6, todas atuando na ativação dos osteoclastos e o TNF- α e IL-1 também exercendo seu papel incentivando a maturação dos mesmos. Outro mecanismo proposto para uma maior reabsorção óssea promovida por essas citocinas é uma maior ativação monocitária, sendo esta célula também responsável por este acometimento (10).

No presente trabalho foi avaliada a produção de IFN- γ , TNF- α e IL-10 assim como a carga pró-viral em indivíduos infectados pelo HTLV-1 com densidade óssea normal, osteopenia e osteoporose e foi encontrado que em indivíduos do sexo masculino com osteopenia concentrações mais elevadas de TNF- α do que em portadores de HTLV-1 com densidade óssea normal.

VII. CONCLUSÕES

- 1- A prevalência de osteopenia/osteoporose em indivíduos infectados pelo HTLV-1 é maior do que o registrado na literatura.
- 2- A elevação da produção de TNF- α observada em indivíduos infectados pelo HTLV-1 do sexo masculino pode ser um dos fatores envolvidos nas alterações do metabolismo ósseo nesta infecção viral.

VIII. SUMMARY

ASSOCIATION BETWEEN HTLV-I AND OSTEOPENIA/OSTEOPOROSIS.

Background: The human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) is related to many different clinical manifestations and immunological abnormalities. Osteoporosis is a disease characterized by the loss of bone mass. There are immunological changes related to osteoporosis, making it necessary to evaluate whether there is any association between HTLV-1 and osteoporosis. **Objective:** To evaluate the frequency of decreased rate of bone mass in individuals infected with human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) without HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM / TSP). **Methods:** It is a cross-sectional study comparing the frequency of osteopenia and osteoporosis in patients with HTLV-1 separated into two groups according to the serum concentration of IFN-gamma: individuals with high production of IFN- γ (>1000 pg / ml) and those with low production (<500 pg / ml) of this cytokine. Bone densitometry was performed in X HTLV-1 infected subjects and the tests were characterized according to the guidelines of the World Health Organization. After that, the results were compared with the immunological parameters (pró-viral load and serum levels of TNF-alpha, IFN-gamma and IL-10) of these patients. **Results:** It was evaluated 45 patients. The majority of patients had more than 50 years of age. Most of infected individuals (55.6%) had decreased bone density. The presence of osteopenia and osteoporosis showed a significant difference ($p = 0.038$), compared with the number of normal densitometry. Among the males (N=14), 2/3 had changes in bone mineral density and concentrations of TNF-alpha was associated with osteopenia and osteoporosis. **Discussion:** In this study we evaluated the production of IFN- γ , TNF- α and IL-10 as well as the pró-viral load in individuals infected with HTLV-1 with normal bone density, osteopenia and osteoporosis and found higher concentrations of TNF- α in males with osteopenia than in patients with HTLV-1 with normal bone density. **Conclusions:** The prevalence of osteopenia/osteoporosis in individuals infected with HTLV-1 is higher than that reported in the literature. The increased production of TNF-alpha observed in male individuals infected with HTLV-1 may be one of the factors involved in bone metabolism changes in this viral infection.

Keywords: 1. HTLV infection, 2. Osteoporosis, 3. Immunology 4. Clinical manifestations

REFERÊNCIAS

1. Araújo A de Q, Alfonso C, Schor D, Leite A, de Andrade-Serpa M. Clinical and demographic features of HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) in Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Neurol Scand.* 1993;88(1):59–62.
2. Araújo A de Q, Silva MT. The HTLV-1 neurological complex. *Lancet Neurol.* 2006;5:1068–76.
3. Araújo MI, Hoppe B, Medeiros M, Alcantara L, Almeida MC. Impaired T helper 2 response to aeroallergen in helminth-infected patients with asthma. *J Infect Dis.* 2004;190:1797–803.
4. Araújo MI, Jesus AR De, Bacellar O, Sabin E, Pearce E, Carvalho EM. Evidence of a T helper type 2 activation in human schistosomiasis. *Eur J Immunol.* 1996;26:1399–403.
5. Carvalho EM, Bacellar O, Porto AF, Santos SB, Galvão-Castro B, Neva F. Cytokine profile and immunomodulation in asymptomatic human T-lymphotropic virus type 1-infected blood donors. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2001;27(1):1–6.
6. Caskey MF, Morgan DJ, Porto AF, Giozza SP, Muniz AL, Orge GO, et al. Cross-Sectional Study. *AIDS research and human retroviruses.* 2008;23(3):365–71.
7. Castro NM, Freitas DM, Rodrigues Jr W, Muniz AL, Oliveira P, Carvalho EM. Urodynamic features of the voiding dysfunction in HTLV-1 infected individuals. *Int Braz J Urol.* 2007;33:238–45.
8. Castro NM, Oliveira P, Freitas DM, Rodrigues Jr W, Muniz AL, Carvalho EM. Erectile dysfunction and HTLV-I infection: a silent problem. *Int J Impot Res.* 2005;17:364–9.

9. Castro NM, Rodrigues Jr W, Freitas DM, Muniz AL, Oliveira P, Carvalho EM. Urinary symptoms associated with human T-cell lymphotropic virus type I infection: evidence of urinary manifestations in large group of HTLV-I carriers. *Urology*. 2007;69(5):813–8.
10. Cohen-Solal ME. Increased Bone Resorbing Activity of Peripheral Monocyte Culture Supernatants in Elderly Women. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1998 May 1;83(5):1687–90.
11. Guerreiro JB, Santos SB, Morgan DJ, Porto a F, Muniz a L, Ho JL, et al. Levels of serum chemokines discriminate clinical myelopathy associated with human T lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) disease from HTLV-1 carrier state. *Clinical and Experimental Immunology*. 2006 ;145(2):296–301.
12. Horowitz MC. Cytokines and Estrogen in Bone: Anti-Osteoporotic Effects. *Science*. 1993;260:626–7.
13. Johnell O, Kani J. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporos Int*. 2006;17:1726–33.
14. Kitazawa R, Kimble RB, Vannice JL, Kung VT, Pacifici R. Interleukin-1 receptor antagonist and tumor necrosis factor binding protein decrease osteoclast formation and bone resorption in ovariectomized mice. *J Clin Invest*. 1994;94:2397–406.
15. Lerner UH, Ohlin A. Tumor necrosis factors alpha and beta can stimulate bone resorption in cultured mouse calvariae by a prostaglandin-independent mechanism. *J. Bone Miner. Res*. 1993;8:147–55.
16. Looker AC, Orwoll ES, Johnston JR, Lindsay CC, Wahner HW, Dunn WL, et al. Prevalence of Low Femoral Bone Density in Older U.S. Adults from NHANES III. *J. Bone Miner. Res*. 1997;12:1761–8.

17. Lorenzo JA, Naprta A, Rao Y, Alander C, Glaccum M, Widmer M, et al. Mice lacking the type I interleukin-1 receptor do not lose bone mass after ovariectomy. *Endocrinol.* 1998;139:3022–5.
18. Luo CY, Wang L, Sun C, Li DJ. Impact of IL-10 and TGF-beta1 from CD4+CD25+ regulatory T cells on the osteoclast differentiation and bone resorption. *Chin J Endocrinol Metab.* 2009;25:434–7.
19. Richardson JH, Edwards AJ, Cruickshank JK, Rudge P, Dagleish AG. No Title. *Journal of Virology.* 1990;94:5682–7.
20. Roodman GD. Interleukin-6: An osteotropic factor? *J. Bone Miner. Res.* 1992;7:475–8.
21. Santos SB, Oliveira P, Luna T, Souza A, Nascimento M, Siqueira I, et al. Immunological and Viral Features in Patients With Overactive Bladder Associated With Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 Infection. *Journal of Medical Virology.* 2012;84(11):1809–17.
22. Santos SB, Porto AF, Muniz AL, Jesus AR De, Magalhães E, Melo A, et al. Exacerbated inflammatory cellular immune response HTLV-I asymptomatic carriers. *BMC infectious Diseases.* 2004;4(7):1–8.
23. Schachter D, Cartier L, Borzutzky A. Osteoporosis in HTLV-I associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *Bone.* 2003;33:192–6.
24. Souza A, Tanajura D, Toledo-cornell C, Santos S. Immunopathogenesis and neurological manifestations associated to HTLV-1 infection. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* 2012;45(5):545–52.
25. Thomson BM, Saklatvala J, Chambers TJ. Osteoblasts mediate interleukin 1 stimulation of bone resorption by rat osteoclasts. *J. Exp. Med.* 1986;164:104–12.

26. WHO scientific group on the assessment of osteoporosis at primary health care level. Brussels, Belgium; 2004.

IX. ANEXOS

ANEXO I

QUESTIONARIO PESQUISA DENSITOMETRIA/HTLVI

IDENTIFICAÇÃO

1 NOME _____ 2 IDADE _____

3 ETNIA () 1 BRANCO, 2 MULATO, 3 NEGRO

4 REGISTRO PESQUISA 000 _____ 5 REGISTRO HUPES _____

6 REGISTRO DENSITOMÉTRICO _____

7 FORMA CLÍNICA () 1 ASSINTOMÁTICA, 2 MANIFESTAÇÕES NEUROLÓGICAS,

3 BEXIGA HIPERATIVA, 4 HAM\TST

DADOS DE ANAMNESE

8 MENOPAUSA () 1 SIM, 2 NÃO, 3 NÃO SE APLICA, 9 NÃO SABE INFORMAR
ANO _____9 JA TEVE ALGUMA FRATURA POR FRAGILIDADE (PUNHO POR QUEDA DA PROPRIA
ALTURA,

FRATURA ESPONTANEA DE VÉRTEBRA () 1 SIM, 2 NÃO, 9 NÃO SABE INFORMAR

10 JA NECESSITOU PERMANECER POR UM TEMPO PROLONGADO EM IMOBILIZAÇÃO () 1
SIM,

2 NÃO, 9 NÃO SABE INFORMAR

11 JÁ FOI DETECTADO EM ALGUM EXAME ESPECÍFICO O DIAGNÓSTICO DE
OSTEOPOROSE (DENSITOMETRIA ÓSSEA, OSTEOSSONOMETRIA)? () 1 SIM, 2 NÃO,
9 NÃO SABE INFORMAR12 JÁ FOI IDENTIFICADO EM ALGUM EXAME ESPECÍFICO O DIAGNÓSTICO
DE OSTEOPENIA (DENSITOMETRIA ÓSSEA, OSTEOSSONOMETRIA)? () 1 SIM, 2 NAO,
9 NAO SABE13 JÁ FOI DETECTADO EM ALGUM EXAME SECÚNDARIO O DIAGNÓSTICO DE
OSTEOPOROSE

(RADIOGRAFIA SIMPLES)? () 1 SIM, 2 NÃO, 9 NÃO SABE

14 USO ATUAL DE CORTICÓIDE () 1 SIM, 2 NÃO, 9 NÃO SABE

15 CASO SIM, POR QUANTO TEMPO? () 1 MENOS DE 1 MES, 2 ENTRE 1-3 MESES,
3 MAIOR QUE 3 MESES 9 NAO SABE INFORMAR

16 CASO SIM, QUAL A DOSE? () 1 MENOR QUE 10MG, 2 MAIOR QUE 10MG

17 USO PREGRESSO DE CORTICOSTERÓIDE? () 1 SIM, 2 NAO, 9 NAO SABE INFORMAR

18 CASO SIM, HÁ QUANTO TEMPO? () 1 MENOS QUE 1 MES, 2 ENTRE 1 - 3 MESES,

3 MAIOR QUE 3 MESES

19 CASO SIM, QUAL A DOSE? () 1 MENOR QUE 10 MG, 2 MAIOR QUE 10 MG

OUTRAS MEDICAÇÕES

20 CÁLCIO? () 1 SIM, 2 NAO, 9, NAO SABE INFORMAR **QUAL** _____

21 FÓSFORO?() 1 SIM, 2 NAO, 9 NAO SABE INFORMAR **QUAL** _____

22 BIFOSFONADOS () 1 SIM, 2 NÃO, 9 NÃO SABE INFORMAR **QUAL** _____

23 EXPOSIÇÃO SOLAR DIÁRIA () 1 MAIOR QUE 20 MIN, 2 MENOR QUE 20 MIN

24 INGESTA DIÁRIA DE ALIMENTOS COM CALCIO () 1 SIM, 2 NÃO 9 NÃO SABE INFORMAR

DADOS LABORATORIAIS

25 PTH _____ 26 ESTRADIOL (APENAS MULHERES) _____

27 CÁLCIO _____ 28 TSH 0,00 _____ 29 FÓSFORO 00,0 _____

30 IGF1 _____ 31 TESTOSTERONA (APENAS HOMENS) _____

32 OSTEOCALCINA _____

ANEXO II

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Nome do Projeto: Resposta Imunológica, Fatores Virais e Infecções por Helminhos na Expressão da Doença Associada ao HTLV-1

Nome do Participante:

Investigador Principal: Edgar M. Carvalho, médico, Hospital Universitário Prof. Edgard Santos, Rua João das Botas s/n, Canela, 40110-160, Salvador-Bahia-Brazil.

Nº do Projeto:

Convite e Objetivo: Você é convidado a participar de um estudo que tem como objetivo determinar doenças ou manifestações clínicas associadas à infecção causada pelo vírus HTLV-1 e avaliar as razões pelas quais alguns pacientes apresentam doença neurológica associada à infecção pelo HTLV-1. Participam do estudo 500 indivíduos infectados pelo HTLV-1, 40 pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1 e 40 pessoas que não estão infectadas por este vírus. Além das informações aqui prestadas você pode perguntar tudo sobre o estudo ao seu médico. Caso decida participar do estudo você será solicitado a assinar este formulário de consentimento.

Participação Voluntária: A sua participação é voluntária. Você pode desistir de participar a qualquer momento, ou seja, agora ou durante a resposta ao questionário e ao exame físico. Você tem liberdade de se recusar a responder qualquer pergunta do questionário que considere invasora de privacidade, causadora de constrangimento e/ou desconforto moral. Caso você decida não participar do estudo, você não terá nenhuma perda por isso. Participando ou não, você receberá o acompanhamento médico oferecido aos pacientes do ambulatório de HTLV.

Finalidade: O estudo visa determinar se algumas doenças ou manifestações clínicas estão associadas à infecção pelo vírus HTLV-1, assim como a relação entre a resposta imune, fatores virais e infecção por helmintos com o desenvolvimento da doença neurológica. Iremos também comparar a frequência de manifestações clínicas e resposta imune em pacientes com e sem infecção por helmintos. Além disso, iremos determinar a carga pró-viral do HTLV-1 e armazenar o material para determinar se diferenças virais podem explicar porque alguns pacientes desenvolvem doença e outros não.

Procedimentos: Caso você concorde em participar do estudo você responderá a um questionário perguntando sobre queixas clínicas e será examinado por uma equipe de médicos e um dentista. Você será solicitado a fornecer 30ml de sangue (aproximadamente o equivalente a duas colheres de sopa) e a realizar anualmente exame parasitológico de fezes. Em caso de você desenvolver problemas neurológicos, será feita uma punção na sua coluna para obtenção de líquido e determinar se você tem anticorpos contra o HTLV-1 no sistema nervoso central. Caso você não deseje responder alguma pergunta do questionário você poderá não fazê-lo sem que haja qualquer prejuízo. A coleta de sangue será solicitada novamente se você apresentar novas manifestações neurológicas e no final do estudo.

Duração do estudo: Após a assinatura do termo de consentimento sua participação no estudo será de 8 anos sendo que a cada ano você deverá comparecer ao ambulatório de HTLV-1 para avaliação clínica e neurológica. Coleta de sangue para estudos imunológicos será feita duas vezes no início e fim do estudo.

Confidencialidade: Qualquer informação obtida durante o estudo só será do conhecimento da equipe e do órgão internacional que protege indivíduos em pesquisa (Escritório de Proteção de Pesquisa em Humanos dos Estados Unidos). Os representantes do Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos da América poderão ver sua ficha clínica. Você e qualquer participante deste estudo não serão identificados por nome nas publicações dos resultados do estudo. A confidencialidade estará de acordo com a Constituição Brasileira e a Resolução 196/96.

Análise de Riscos e Benefícios: Pequena dor no local da coleta de sangue poderá ocorrer. Em alguns casos, a coleta de sangue pode ser acompanhada por pequeno sangramento ou formação de hematoma. Os riscos da punção da coluna para coleta de líquido são sangramentos e infecção, ambos raros. Mais de 50% dos pacientes apresentam dor de cabeça, que quando necessária é tratada com hidratação e repouso. A resposta ao questionário e a realização de exames clínicos e de exame físico poderão identificar alguma anormalidade na sua saúde que não estava sendo observada por você. Caso seja identificado algum problema clínico ou neurológico as providências devidas serão tomadas para que se faça o diagnóstico e tratamento do problema.

Retorno de Benefícios para o Sujeito e para a Sociedade: Como muitas queixas clínicas são comuns e não necessariamente relacionadas à infecção pelo vírus HTLV-1, é importante determinar que alterações clínicas e neurológicas estão relacionadas com a infecção pelo HTLV-1. Isto permitirá um melhor esclarecimento à população sobre mielopatia associada ao HTLV-1. Os estudos imunológicos contribuirão para identificar marcadores laboratoriais associados ao desenvolvimento da doença neurológica.

Custos: Você não terá custos com a sua participação no estudo. Adicionalmente as suas despesas com transporte e alimentação para participar no estudo serão pagas pelo projeto.

Esclarecimentos: Caso você precise de esclarecimentos posteriores pode contar com os seguintes investigadores pelo telefone 3237-7353: Dr. Edgar M. Carvalho e Dr. André Luiz Muniz.

Consentimento: Se você leu o consentimento informado ou este lhe foi explicado e você aceita participar do estudo, favor assinar o nome abaixo. A você será entregue uma cópia deste formulário para guardar.

Sim, aceito participar do estudo.

Não, não aceito participar do estudo.

_____	_____	_____
Assinatura do participante	Data	Hora
_____	_____	_____
Assinatura do pesquisador	Data	Hora
_____	_____	_____
Assinatura da testemunha	Data	Hora

ANEXO III



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/MCO/UFBA
MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
 IORG0003460. Assurance FWA00002471, October 26, 2010
 IRB00004123, October 5, 2007 - October 4, 2010

Rua Padre Feijó 240, Canela – Ambulatório Magalhães Neto 3º andar, Programa de Pós-Graduação em Medicina e Saúde
 Cep: 40.110-170 – Salvador-Bahia telefax: (71) 3203-2740 e-mail: cepmco@ufba.br homepage: www.cepemco.ufba.br

PARECER/RESOLUÇÃO N.º 030/2008

Registro CEP. 014/08 (Este n.º deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto)

Título do Projeto. “Resposta imunológica, fatores virais e infecções por helmintos na expressão de doença associada ao HTLV-1.”

Patrocínio/Financiamento. *National Institute of Health, EUA.*


Pesquisador Responsável. Professor titular da UFBA, Doutor, **Edgar Marcelino de Carvalho Filho**. Vide “*Curriculum Vitae*” apenso.

Instituição. Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos, Serviço de Imunologia, Universidade Federal da Bahia, C-HUPES/SIM/UFBA.

Área do Conhecimento. Medicina, 4.01; Nível D; Grupo III.

Objetivos. Caracterizar a história natural das manifestações clínicas em indivíduos infectados por HTLV-1; determinar a influência da infecção por helmintos na resposta imune e expressão de doença associada à infecção por HTLV-1; Identificar marcadores virais e imunológicos das diversas formas clínicas da infecção causada pelo HTLV-1.

Resumo. O vírus linfotrópico de células T humanas tipo 1 (HTLV-1) infecta 20 milhões de indivíduos em todo o mundo e é o agente causal da Mielopatia associada ao HTLV/Paraparesia espástica tropical (HAMITSP). Salvador-Ba possui a maior prevalência de infecção por HTLV-1 no Brasil. Nos últimos 10 anos temos caracterizado a resposta imunológica em portadores do HTLV-1 e em pacientes com HAMITSP e determinado as bases das alterações imunológicas que aumentam a susceptibilidade de indivíduos infectados por HTLV-1 a desenvolverem estrogiloidíase disseminada. Adicionalmente documentamos que manifestações neurológicas e articulares, periodontite, síndrome seca, manifestações urinárias e disfunção erétil são mais frequentes em portadores do HTLV-1 do que em controles soronegativos. Descrevemos que bexiga neurogênica associada ao HTLV-1 precede o aparecimento da HAMITSP. Usando uma coorte de 500 portadores assintomáticos de HTLV-1, os seguintes desfechos clínicos serão avaliados: bexiga neurogênica associada ao HTLV-1, HAMITSP, e piora de manifestações neurológicas. Estes desfechos serão também comparados em pacientes com e sem infecção por helmintos. A influência da resposta


 Prof. Dr. Antônio Carlos de Mendonça Brito
 Coordenador do Comitê de Ética
 em Pesquisa Humana
 MCO - Universidade Federal da Bahia



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/MCO/UFBA
MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
IORG0003460. Assurance FWA00002471, October 26, 2010
IRB00004123, October 5, 2007 - October 4, 2010

Rua Padre Feijó 240, Canela – Ambulatório Magalhães Neto 3º andar, Programa de Pós-Graduação em Medicina e Saúde
 Cep: 40.110-170 – Salvador-Bahia telefax: (71) 3203-2740 e-mail: cepmco@ufba.br homepage: www.cepemco.ufba.br

imune e de fatores virais na expressão de doença será determinada em um estudo de corte transversal com três grupos de pacientes: 1) Pacientes com bexiga neurogênica associada com HTLV-1; 2) Pacientes com HAMITSP; e 3) Pacientes com infecção assintomática por HTLV-1. Serão determinados os níveis de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IFN- γ , IL-17) e de quimiocinas que atraem as células T para sítios de inflamação (CXCL9, CXCL 10), a frequência de células T CD8 expressando IFN- γ e TNF- α , e de citocinas e células que modulam a resposta imune (IL-10, IL-27 células T regulatórias). A carga pró-viral será determinada e o DNA viral será armazenado para estudos futuros com objetivo de avaliar o polimorfismo viral que possa estar associado com a HAM/TSP.

Critérios de inclusão. Indivíduos com infecção pelo HTLV-1 com ou sem doença clínica (Portadores assintomáticos); Indivíduos infectados pelo HTLV-1 com Infecção por Helmintos; Portadores do HTLV-1 com Bexiga Neurogênica; HAM/TSP e Indivíduos Sadios. **Critérios de exclusão.** Mulheres grávidas e crianças menores de 18 anos. **Análise de riscos.** Risco mínimo de coleta de dados do paciente no prontuário e uma coleta de sangue de 30 mls. **Retorno de benefícios para o sujeito e/ou para a comunidade.** Os participantes podem não se beneficiar diretamente do estudo, mas receberão acompanhamento cuidadoso para a infecção do HTLV-1 e suas complicações. Entretanto, como pouco se sabe sobre as manifestações clínicas do HTLV-1, é importante determinar quando as manifestações clínicas estão associadas com a infecção viral. Além disso, o conhecimento sobre a resposta imune e carga pró-viral na infecção por HTLV-1 pode ser utilizada no desenvolvimento de novas estratégias de intervenção. Existem poucos estudos sobre a infecção por HTLV-1 e pouco conhecimento sobre as manifestações clínicas, alterações imunológicas e fatores virais associados com a progressão de infecção para HAMSP. Este estudo permitirá um melhor entendimento da história natural da infecção por HTLV-1.

Termo de Consentimento Livre e Pré-Esclarecido - O “TCLPE” utiliza uma linguagem acessível para pessoas que não sejam da área de saúde. Contém justificativa, os objetivos são claramente colocados, os procedimentos estão claramente expostos. Riscos e benefícios do projeto estão claramente expostos. Está claramente especificada a participação voluntária no projeto. A confidencialidade das informações colhidas e privacidade dos dados, durante e após o protocolo estão asseguradas. A gratuidade da intervenção está assegurada. O endereço e telefone dos Investigadores estão descritos. O Comitê de Ética não está citado.

Assinatura
 Assessoria de Serviço Social
 Coordenadora do Comitê de Ética
 em Pesquisa Humana
 Universidade Federal da Bahia



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/MCO/UFBA
MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
IORG0003460. Assurance FWA00002471, October 26, 2010
IRB00004123, October 5, 2007 - October 4, 2010

Rua Padre Feijó 240, Canela – Ambulatório Magalhães Neto 3.º andar, Programa de Pós-Graduação em Medicina e Saúde
 Cep: 40.110-170 – Salvador-Bahia telefax: (71) 3203-2740 e-mail: cep/mco@ufba.br homepage: www.cep/mco.ufba.br

Comentários. Trata-se de um estudo de coorte em que se estuda a resposta imunológica, fatores virais e infecções por helmintos na expressão de doença associada ao HTLV-1. O protocolo está bem argumentado, seus fins são éticos e o conhecimento advindo pode trazer benefícios à comunidade. Protocolo tem valor e pode ser eticamente justificável. Recomenda-se a citação deste Institucional completo e seus respectivos contatos para eventual consulta por parte dos “Investigandos”. **Protocolo aprovável.**

[Handwritten signature]

Salvador, 30 de Abril de 2008

[Handwritten signature]
 Professor, Doutor Antônio dos Santos Barata
 Coordenador – CEP/MCO/UFBA

Prof. Dr. Antônio dos Santos Barata
 Coordenador do Comitê de Ética
 em Pesquisa – UFBA
 UFBA - Universidade Federal da Bahia

Observações importantes. Toda a documentação anexa ao Protocolo proposto e rubricada pelo (a) Pesquisador (a), arquivada neste CEP, e também a outra devolvida com a rubrica da Secretária deste (a) ao (à) mesmo (a), faz parte intrínseca deste Parecer/Resolução e nas “Recomendações Adicionais” apensas, **bem como a impostergável entrega de relatórios parciais e final como consta nesta liberação**, (Modelo de Redação para Relatório de Pesquisa, anexo).