

ANA VIRGÍNIA SOARES VAN BERG

INVESTIGAÇÃO DA PRESENÇA DO VÍRUS LINFOTRÓPICO
DE CÉLULAS T HUMANAS
EM LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA NA INFÂNCIA

2003
Belém

Belém
2003

ANA VIRGÍNIA SOARES VAN DEN BERG

INVESTIGAÇÃO DA PRESENÇA DO VÍRUS LINFOTRÓPICO
DE CÉLULAS T HUMANAS
EM LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA NA INFÂNCIA

Belém

2003

616.99419
B493i
DIS

ANA VIRGÍNIA SOARES VAN DEN BERG

INVESTIGAÇÃO DA PRESENÇA DO VÍRUS LINFOTRÓPICO
DE CÉLULAS T HUMANAS
EM LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA NA INFÂNCIA

Dissertação de Mestrado apresentado ao Curso de Pós-graduação do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais

ORIENTADOR:

Prof. Dr. José Alexandre Rodrigues Lemos

Belém

2003

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Ficha catalográfica elaborada por Maria Lucia Almeida CRB2/04

Berg, Ana Virginia Soares van den

Investigação da infecção pelo vírus linfotrópico de células T humanas em doenças linfoproliferativas da infância. / Ana Virginia van den Berg. – Belém, 2003.

64f.

Plano de Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Pará. Núcleo de Medicina Tropical.

Bibliografia: p. 60

I. Retrovírus - infecção - crianças 2. Vírus linfotrópico - células T - infecção - criança 3. Leucemia Linfóide Aguda 4. Dissertação - mestrado
II. Título.

ANA VIRGÍNIA SOARES VAN DEN BERG

Investigação da presença do vírus linfotrópico
de células T humanas
em Leucemia Linfóide Aguda na infância

Dissertação aprovado como requisito parcial para obtenção do título de
Mestre em Doenças Tropicais no Curso de Pós-graduação do Núcleo
de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará

Orientador:

Prof. Dr. José Alexandre Rodrigues de Lemos

Banca examinadora:

Prof. Dr. Eduardo J.M. Santos
Universidade Federal do Pará

Prof. Dr. Lacy de Brito Júnior
Universidade Federal do Pará

Prof. Dr. Cláudio Amorim
Universidade Federal do Pará

Profª. Dra. Marúcia Amorim
Universidade Federal do Pará

Julgada em Belém(PA), _____

Conceito: _____

EPÍGRAFE

É graça divina começar bem. Graça maior, persistir na caminhada certa. Mas, a graça das graças é não desistir.
(Dom Hélder Câmara)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, *Virgínia e Johannes*, pelo amor presente e zelo constante.
Aos meus irmãos, *Bernardus e Alida*, pela amizade e esperanças.
À minha filha, *Viviana*, razão do meu amor e do meu afeto.

AGRADECIMENTOS

Prof. Dr. **José Alexandre Rodrigues de Lemos**, pela confiança e incentivo demonstrados neste e em outros trabalhos.

Doutoranda de Medicina **Silvia Ataíde da Silva**, pelo zelo na coleta das amostras, extração do DNA e companheira constante no ambulatório durante esta pesquisa.

Biomédica **Flávia Cristina de Matos Oliveira**, que gentilmente processou o material da pesquisa.

Fundação **HEMOPA**, por permitir a utilização de seus laboratórios na elaboração deste trabalho.

Pacientes do ambulatório de Hematologia do HOL, pais e responsáveis que através do consentimento incondicional, respeito, confiança e carinho, tornaram este trabalho uma realidade.

Dra. **Silvana da Conceição Campos da Silva**, companheira e incentivadora durante o Curso de Mestrado.

Dra. **Elizabeth van den Berg**, tia, amiga e incentivadora, exemplo de disciplina e presença nos momentos mais necessários.

Bibliotecária **Leila**....., pelas revisões pertinentes.

Universidade Estadual do Pará - UEPA, pelo incentivo e compreensão durante o Curso de Mestrado.

Dr. **Flávio Porpino de Oliveira**, amigo e responsável pela citologia realizada no trabalho.

Dra. **Maria Alida Soares van den Berg**, a *mana* sempre amiga, confidente e estimuladora de meus projetos.

Luiz Cláudio Rangel, pela amizade e disponibilidade.

Viviana van den Berg de Menezes, minha doce e meiga filha, pelos momentos de ausência.

Maria Virgínia Soares van den Berg, minha querida mãe pelo seu incondicional amor e orações.

Jorge Wilson Queiroz do Nascimento, pelo amor e companheirismo alegre e confiante.

SUMÁRIO

| | |
|-----------|--|
| 1 | INTRODUÇÃO |
| 1.1 | CONSIDERAÇÕES GERAIS..... |
| 1.2 | HTLV..... |
| 1.2.1 | Epidemiologia..... |
| 1.2.2 | Patogenia..... |
| 1.2.3 | Vias de transmissão..... |
| 1.2.4 | Estrutura do HTLV..... |
| 1.3 | LEUCEMIAS..... |
| 1.3.1 | Leucemia Linfóide Aguda na Infância..... |
| 1.3.2 | Leucemia Linfóide Aguda T..... |
| 1.3.3 | Agentes virais e leucemia..... |
| 1.3.4 | Vírus da leucemia felina..... |
| 1.3.5 | Vírus da leucemia bovina..... |
| 1.4 | DOENÇAS ASSOCIADAS AO HTLV..... |
| 1.4.1 | Linfoma/Leucemia de célula T do adulto..... |
| 1.4.2 | Paraparesia Espástica Tropical..... |
| 1.4.3 | Uveíte relacionada ao HTLV..... |
| 1.4.4 | Outras doenças relacionadas ou associadas ao HTLV..... |
| 1.5 | DIAGNÓSTICO LABORATORIAL PARA HTLV..... |
| 1.5.1 | ELISA..... |
| 1.5.2 | Aglutinação de partículas..... |
| 1.5.3 | <i>Western blot</i> |
| 1.5.4 | Radioimunoprecipitação..... |
| 1.5.5 | Reação de imunofluorescência..... |
| 1.5.6 | Cultura para detecção de antígenos..... |
| 1.5.7 | Biologia molecular..... |
| 2. | OBJETIVOS |
| 2.1 | OBJETIVO GERAL..... |
| 2.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... |
| 3. | CASUÍSTICA E METODOLOGIA |
| 4. | RESULTADOS |
| 5. | DISCUSSÃO |
| 6. | CONCLUSÃO |
| | ANEXOS..... |
| | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... |
| | BIBLIOGRAFIA CONSULTADA..... |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|--|
| FIGURA 1 - Estrutura do HTLV..... | |
| FIGURA 2 - Ciclo replicativo do HTLV..... | |
| FIGURA 3 - Linfoblasto..... | |
| FIGURA 4 - <i>Flower cell</i> | |
| FIGURA 5 - Idade das crianças com LLA..... | |
| FIGURA 6 - Sexo das crianças com LLA..... | |
| FIGURA 7 - Presença de linfadenomegalia..... | |
| FIGURA 8 - Presença de esplenomegalia..... | |
| FIGURA 9 - Presença de hepatomegalia..... | |
| FIGURA 10 - Presença de hemorragia..... | |
| FIGURA 11 - Pesquisa da marcha em pacientes com LLA..... | |
| FIGURA 12 - Pesquisa das reflexos em crianças com LLA..... | |
| FIGURA 13 - Exame de pele para análise de lesão cutânea..... | |
| FIGURA 14 - Sobrevida livre de doença em LLA..... | |
| FIGURA 15 - Transfusão sanguínea nas crianças com LLA..... | |
| FIGURA 16 - Presença de HTLV em crianças de LLA..... | |

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Classificação imunológica das Leucemias Linfóides Agudas.....

TABELA 2 - Alterações mais comuns na Leucemia Linfóide Aguda.....

QUADRO 1 - Critérios diagnósticos de PET/HAM.....

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|------------|---|
| AIDS | Síndrome da Imunodeficiência Adquirida |
| AP | Aglutinação de partículas |
| CD | <i>Cluster of Differentiation</i> |
| DHL | Desidrogenase láctica |
| DNA | Ácido desoxiribonucleico |
| ELISA | Ensaio imunoenzimático |
| <i>env</i> | Envelope |
| <i>gag</i> | Grupo de antígenos |
| gp | Glicoproteína |
| HLA | Antígeno de histocompatibilidade humana |
| HEMOPA | Centro de Hemoterapia e Hematologia da Pará |
| HIV | Vírus da imunodeficiência humana |
| HTLV | Vírus linfotrópico de células T humanas. |
| HU | Uveíte associada ao HTLV-I |
| IFI | Imunofluorescência indireta |
| Ig | Imunoglobulina |
| IL-2 | Interleucina 2 |
| IL-2R | Interleucina 2 e seus receptores |
| LCR | Líquido céfalo-raquiano |
| LLA | Leucemia linfóide aguda |
| LLA-T | Leucemia linfóide aguda de células T |
| L/LTA | Leucemia/linfoma de células T do adulto |
| LTR | Região longa terminal de repetição |
| MO | Medula Óssea |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| PAS | Ácido periódico de Schiff |
| PCR | Reação em cadeia da polimerase |
| PET/HAM | Paraparesia espástica tropical / mielopatia associada ao vírus HTLV-I |
| rgp | Glicoproteína recombinante |
| RIPA | Radioimunoprecipitação |
| RNA | Ácido ribonucleico |
| SLE | Sobrevida livre de eventos |
| STLV-I | Vírus linfotrópico de células de símios |
| TdT | Desoxinucleotidil transferase terminal |

RESUMO

Os vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo I e II (HTLV-I/II) apresentam genoma de ácido ribonucléico (RNA) e infectam geralmente células CD4+, com relação endêmica em determinadas áreas como o Japão e Caribe com predomínio maior ou menor em outras regiões; na Amazônia brasileira as pesquisas estão correlacionadas principalmente à população indígena. Estes vírus estão associados a doenças malignas, desordens neurológicas e imunodeficiências, ocasionando viremia por longo período, sem manifestações clínicas. O HTLV é considerado agente etiológico da Leucemia/ linfoma de célula T do adulto (L/LTA) e Paraparesia espástica tropical/ Mielopatia associada ao HTLV-I (PET/HAM) dentre outras. Este estudo tem como objetivo investigar a presença de HTLV e determinar o tipo mais freqüente (HTLV-I ou HTLV-II) em crianças com Leucemia Linfóide Aguda, matriculadas no serviço de referência para Câncer em Belém, observando a via de transmissão pelo aleitamento materno, os sintomas neurológicas relacionados com a infecção e revisão bibliográfica pertinente. A pesquisa dos vírus foi realizada pela técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), que permite a distinção entre HTLV-I e HTLV-II. Foram observados os parâmetros de idade, sexo, lesões cutâneas, marcha e transfusão sanguínea através de porcentagens. O HTLV-I foi positivo em uma criança do sexo feminino, sem relação com transmissão por aleitamento materno, e não houve o envolvimento do HTLV como agente etiológico de neoplasia de células linfóide na faixa etária pediátrica.

ABSTRACT

The lymphotropic virus of human T-cell I and II (HTLV-I/II) present genome of ribonucleic acid (RNA) and generally infect CD4+ cell, with endemic frequency in some areas like Japan and Caribe with greater or minor predominancy in other places; in Brazilian Amazonia, the research is mainly connected to the native population. These virus are related with malign diseases, neurological disturbances and imunodeficiencies, which cause viremia for long time without clinical effects. The HTLV is regarded as an ethiological agent of adult T-cell leukemia/ lymphoma (L/LTA) and tropical spastic paraparesis / HTLV-I associated myelopathy (PET/HAM) among. This analisys has the mais purpose of researching the presence of HTLV and situate the most frequent (HTLV-I/II) in children with Acute Lymphoblastic Leukemia treated in the authorized Cancer Assistance in Belém, Pará State, Brazil, observing the transmission way by lactation, the neurological symptoms with infections and its bibliografic revise. The rearesearch of virus was accomplish through the PCR (Polimerase Chain Reaction) technique that shows differences among HTLV-I and HTLV-II. Parameters among age, sex, skin lesions, progression and blood transfusion by porcentage had been remarked in a little girl, without relationship to transmiion by breastfeeding, and there was no conection with HTLV as na ethiological agent of lymphoidal cells of neoplasia in childhood.

I INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Gerais

Os vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo I e II (HTLV-I/II) pertencem ao grupo dos retrovírus, família *Retroviridae*, sub-família *Oncorvirinae*, com genoma de ácido ribonucleico (RNA) que infectam células T maduras, geralmente CD3+ e CD4+, conhecidos pela associação com doenças malignas, desordens neurológicas e imunodeficiências, ocasionando viremia por longo período, com ausência de manifestações clínicas (Hjelle, 1991). Em 1911, os trabalhos pioneiros de Rous indicavam como sendo de origem infecciosa a causa das neoplasias, tendo sido isolados retrovírus em mamíferos, aves e répteis (Veronesi, 2000)

O HTLV I foi isolado em 1980 quando duas equipes simultaneamente nos Estados Unidos e no Japão anunciaram o descobrimento do primeiro retrovírus humano em cultura celular de paciente com linfoma de células T cutâneo, posteriormente caracterizado como Leucemia/Linfoma de células T do adulto (L/LTA), considerado o primeiro tumor hematopoiético humano associado com infecção viral (Marra, 1992)

Outras doenças com associação sorológica estão associadas ao HTLV-I, dentre elas: a paraparesia espástica tropical (PET) de alta incidência na Martinica, local endêmico do HTLV I. Simultaneamente, pesquisadores japoneses consideraram este vírus na etiologia de doença neurológica crônica, propondo o nome Mielopatia Associada ao HTLV-I (HAM); a Uveíte associada ao HTLV-I (HU) que apresenta alta

soroprevalência no Japão (35 a 44%). Também a Dermatite infecciosa, afecção cutânea crônica em crianças, inicialmente descrita na Jamaica, parece ter sido a primeira síndrome pediátrica do HTLV-I. Uma variedade de síndromes inflamatórias provavelmente causadas por mecanismos imunológicos estão associadas ou relacionadas com o HTLV (Veronesi, 2000; Soares, 2003)

Recentemente, a infecção pelo HTLV-I tem sido associada com a Leucemia linfóide crônica (LLC) T e B, ao Mieloma múltiplo, alguns casos de LNH, a Poliomiosite, a Artrite, ao Sarcoma de Kaposi, a Estrongiloidíase e a Micose fungóide (HTLV-I. Doenças associadas, 2003)

O HTLV-II foi isolado dos linfócitos de paciente com leucemia de células pilosas (*hair cell leukemia*) segundo relato de Kalynaraman (1982). Embora não apresente implicações na etiologia de qualquer malignidade, há evidências que o HTLV-II pode estar associado a grande número de síndromes linfoproliferativas sendo que os pacientes soropositivos são na sua maioria usuários de drogas injetáveis (Marra, 1992; Harrison, 1994; Brígido, 2000)

Outros vírus participam, em algum momento, do desenvolvimento de doenças linfoproliferativas, porém sem nítida correlação como agente etiológico entre estes destaca-se o vírus Epstein-Baar (EBV), Papiloma vírus (HPV) e o vírus da Imunodeficiência humana (HIV) (Latorre, 2000)

Na Amazônia, em particular, o HTLV é vírus de grande incidência, e estudos estão sendo realizados para descobrir qual o verdadeiro desempenho deste vírus, em grande gama de doenças, seja isolado ou em co-infecção com outros vírus (Marra, 1992). Como a prevalência de L/LTA é alta no Brasil, é preciso definir a relação do HTLV com as doenças linfoproliferativas, principalmente na região amazônica, e observar em

pacientes oriundos de regiões de mineração, o ambiente e presença de outros vírus que podem contribuir para o desenvolvimento de doenças neoplásicas (Soares, 2003)

As neoplasias na infância são freqüentes e a correlação entre o vírus e a doença linfoproliferativa ainda não foi elucidada nesta faixa etária. Em regiões onde o HTLV-I é endêmico e a infecção é precoce na infância existe a possibilidade de desenvolvimento da L/LTA, que foi calculada em 2 a 4 % (Lopes *et al.*, 2000)

As infecções pelo HTLV-I e HTLV-II são diagnosticadas por sorologia. A presença de anticorpos indica que uma pessoa está infectada. Em 1988, a Administração de Drogas e Alimentos (FDA) dos Estados Unidos, recomendou que em toda doação de sangue fosse realizada triagem sorológica para o HTLV-I, e também testes adicionais para confirmar a sororeatividade (análise por *western blot* (WB) e radioprecipitação) que, no entanto, não diferenciam anticorpos do HTLV-I dos HTLV-II (HTLV I Introdução, 2003)

Para estabelecer a diferenciação entre o HTLV-I e HTLV-II, são necessárias metodologias mais complexas, com testes que utilizam peptídeos sintéticos, o uso de enzimas de restrição em produtos de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) ou culturas para o vírus (Hjelle, 1991)

O vírus HTLV é endêmico na região amazônica e motivo de estudos em vários grupos da população sendo referidos trabalhos sobre HTLV-I/II em povos indígenas, doadores de sangue e em co-infecção com HIV. No entanto, ainda não foi investigada a relação destes com pacientes de doenças linfoproliferativas nesta região. A pesquisa envolve crianças com Leucemia Linfóide Aguda, investigando a presença dos vírus HTLV-I/II, a relação com sintomas de L/LTA e PET/HAM, a transmissão vertical

pelo aleitamento materno nestas crianças, e a possibilidade do HTLV como agente etiológico da leucemia.

1.2 HTLV

1.2.1 Epidemiologia

As infecções pelo HTLV já foram descritas em todas as regiões do mundo. A soroprevalência é de 2.1% nos negros da Geórgia (USA), 3% dos negros da ilha de St. Vicent, no Caribe, e de 28% no Japão, em comunidades de Kyushu (Oliveira *et al.*, 1992). Gilli e Saad (1977) estimam que aproximadamente 10 a 20 milhões de pessoas no mundo estejam infectadas pelo HTLV-I. No Brasil, os estudos em doadores de sangue, demonstraram taxas próximas de 0,4% no Rio de Janeiro, São Paulo e Belo Horizonte, e superiores a 1 % em Salvador, Bahia (Harrison, 1994)

Com a finalidade de pesquisar a prevalência do retrovírus HTLV-I em pacientes considerados de risco, como politransfundidos, hemofílicos, homossexuais e prostitutas, os estudos mostraram variação de 0,44% a 8% de indivíduos infectados (Oliveira *et al.*, 1992)

O HTLV-II é raro no Japão e endêmico entre usuários de drogas injetáveis na Europa, nos Estados Unidos e em algumas populações nativas das Américas, sendo que na Amazônia brasileira foram observadas taxas de 8 a 37% entre os índios Kayapó, Munduruku, Tyrió e Arara do Laranjal (Ishak *et al.*, **apud** Marangoni, 1998)

Poucos são os estudos para a determinação da taxa de soroconversão e história natural da infecção estão relatados na literatura científica. A maioria dos trabalhos publicados está relacionada aos pacientes com L/LTA, PET/HAM, doadores de sangue e usuários de drogas endovenosas (Oliveira, 2001)

Quanto à origem desses vírus, Yamashita *et al.* (1996) indicam que a infecção em humanos originou-se na África e chegou às ilhas do Caribe pelo tráfico de escravos, e ao Japão através da tripulação africana de navios portugueses nos séculos XVI e XVII ou por sucessivas migrações em épocas muito remotas.

Em relação ao HTLV-II, provavelmente este vírus teve origem na África ou na Ásia, sendo posteriormente trazido para o continente americano durante as migrações humanas que deram origem aos povos ameríndios. A hipótese de origem asiática do HTLV-II tem sido reforçada pelos achados de infecção na Mongólia, de onde se atribui a ida de parte dos ancestrais das populações indígenas das Américas (Vallinoto, 2000,)

O HTLV-I apresenta distribuição mundial com características macro e microepidemiológicas bastante específica. A prevalência do vírus varia de forma significativa com a região geográfica, o grupo étnico e/ou racial e a subpopulação de risco. Os grupamentos geográficos do HTLV-I foram documentados primeiramente no Sul do Japão (Kyushu, Shikoku, e nas ilhas da cadeia de Ryushu, inclusive Okinawa), porém foi detectada positividade em vilas isoladas de Houshu e na ilha mais ao Norte de Hakkaido, entre a população aborígene dos aino. Parece estar ausente na China continental, Taiwan, Coreia e Vietnã. Entretanto a Melanésia apresenta soroprevalência elevada, em especial a Papua-Nova Guiné. O Caribe é foco endêmico de infecção pelo HTLV-I. Taxas sorológicas de positividade significativas têm sido documentadas na Jamaica, Trinidad e Tobago, Antilhas Francesas, Barbados, Santa Lúcia, Haiti, República Dominicana e áreas subjacentes da América do Sul, como Venezuela, Guianas, Suriname e algumas da América Central, como Panamá e Honduras (Langhorn *apud* Veronesi & Focaccia, 2000).

A origem africana do vírus HTLV-I e a transmissão sexual são os conceitos mais aceites pela comunidade científica. A maior taxa de soropositividade ocorre nas terras baixas, com altos índices pluviométricos e deve-se considerar também o baixo nível sócio-económico da população. Os homens e as mulheres atendidos em clínicas de doença sexualmente transmissíveis (DST) apresentam taxas de soropositividade elevadas, tanto na Jamaica quanto em Trinidad, estas taxas são menores em doadores de sangue, do que nos pacientes com infecção por transmissão sexual, provavelmente pela interferência da promiscuidade nestes (Langhorn **apud** Veronesi & Focaccia, 2000).

Nas Américas do Sul e Central foram observados focos endêmicos de HTLV-I, porém a distribuição é extremamente variada, além de ocorrer coincidência de infecção por HTLV-II em muitas dessas regiões. A positividade tem sido maior entre os descendentes de africanos, pessoas residentes em baixas altitudes e grupos ameríndios no Brasil, Peru e Chile, além de regiões ao longo da costa Colombiana do Pacífico, onde inclusive existe área com alta taxa de doença neurológica associada ao HTLV-I (Vale, 2001).

Nos Estados Unidos, em especial a epidemiologia do HTLV-I é caracterizada pela ocorrência paralela de infecção por HTLV-I e HTLV-II. Na Europa a maior parte dos soropositivos encontra-se entre migrantes de áreas endêmicas. No Oriente Médio detectou-se foco de HTLV-I entre judeus, iranianos do Nordeste do Irã, atualmente residentes em Israel e Nova Iorque. Já os levantamentos no Sul da Índia são persistentemente negativos para o HTLV-I (Langhorn **apud** Veronesi & Focaccia, 2000).

O HTLV-II possui alta prevalência no Novo México e em usuários de drogas intravenosas na América do Norte e Europa, em índios nos Estados Unidos, Panamá, Colômbia, Argentina e Amazônia brasileira (Ishak *et al.* **apud** Veronesi & Focaccia, 2000).

A coinfecção do HIV-1/ HTLV é comum nas regiões em que há prevalência de ambas. Dentre os fatores de risco considerados para a transmissão do HTLV-I e HTLV-II em pacientes infectados pelo HIV-1, com AIDS, está o contato sexual com múltiplo parceiros (Vallinoto *et al.*, 1993; Brígido, 2000)

O HLA tem sido descrito em associação com muitas doenç s. No entanto, é mais comum que o HLA se encontre associado com a predisposição a doenç , e não com a proteção, por motivo ainda não esclarecido. Foi encontrada associação do HLA-A*02 como proteção para PET/HAM, sendo exemplo de proteção contra doenç  viral por gene HLA de classe I (Bangham, 2000)

A infecção pelo HTLV-I e HTLV-II em locais de baixa prevalência pode ser devida a segregação étnica em população nativa. A investigação genética destes vírus nos portadores indígenas da América do Sul foram analisados e encontrado alelo HLA DRBI*-DRQI* e foi demonstrado que os indivíduos com HTLV-I dos Andes possuíam pelo menos um dos cinco haplótipo HLA DRBI*-BQBI* 0403-0302, 0802-0402, 0901-0303, 1406-0302 e 0407-0302 e os portadores de HTLV-II no Orinoco possuíam um dos três alelos HLA DRBI*-DQBI* 1402-0301, 1602-0301, 0404-0302 (Fujiyoshi *et al.*, 1995)

O estudo de Granada e colaboradores (1996), demonstrou o HLA DRBI*-DQBI* em crianç as com HTLV-I associada a dermatite infecciosa familiar, descendentes de africanos na população entre Colômbia e Jamaica.

4.1.1 Aspectos demográficos

O aumento relacionado à idade adulta na soroprevalência do HTLV-I/II está presente praticamente em todas as áreas estudadas assim o aumento destas taxas em homens e mulheres começa na adolescência, porém decresce no homem por volta dos 40 anos, enquanto que continua a aumentar nas mulheres após esta idade; por outro lado a prevalência em crianças é baixa. Explicações para este fenômeno incluem: reativação com o passar do tempo, infecções latentes, exposição contínua por via sexual ao longo da vida e a transmissão homem-mulher, mais freqüente (Houinato *et al*, 1998)

Dentre as possíveis explicações para as taxas de soroconversão em declínio destacam-se: mudanças do padrão de vida (melhora nutricional); alteração nos padrões de amamentação; eliminação de co-fatores ambientais que contribuem para a transmissão e decréscimo de doenças sexualmente transmissíveis. A transmissão homem-mulher é mais comum, ocorrendo prevalência maior nas mulheres, principalmente após 40 anos e estabilização nos homens. No Japão, estudo de infecção em HTLV entre casais, estimou a eficiência de transmissão de 60,8% dos homens para as mulheres, comparada a 0,3% de mulheres para homens (Langhorn **apud** Veronesi & Focaccia, 2000)

1.2.2 Patogenia

Os retrovírus são reconhecidos como potenciais agentes causadores de neoplasias em animais. Entretanto, o descobrimento das retrovirose humanas só foi possível a partir da constatação de que a interleucina-2 (IL-2), que se encontra aumentada em pacientes infectados pelo HTLV-I, poderia ser utilizada como fator de crescimento linfocitário, permitindo o estabelecimento de linhagens celulares *in vitro* a

partir de linfócitos humanos. A IL-2 e seus receptores (IL-2R) são capazes de causar ativação e diferenciação de linfócitos T (Hjelle, 1991).

A atividade da transcriptase reversa em culturas de linfócitos humanos, caracteriza a infecção dessas células pelos retrovírus linfotrópico. Foram, então, propostos dois mecanismos nos quais os linfócitos T sofreriam modificação: a agressão pelo vírus ao linfócito normal e ao linfócito que já apresenta defeito genético com evolução neoplásica; como o período de incubação está estimado em 30 anos, é possível que a maioria dos indivíduos tenham se infectado na infância, por transmissão vertical, logo, a doença se manifestará após os 30 anos de idade. Quando a transmissão se dá por transfusão sanguínea o período de incubação é em média de 3,3 anos sendo este o modo de transmissão mais eficiente, com taxa de soroconversão de 30 a 60% após exposição (Gessain *et al*, 2000)

Dentro destes possíveis mecanismos, duas doenças estão associadas com HTLV-I: a Leucemia/linfoma de células T do adulto (L/LTA) e a Paraparesia espástica tropical/ Mielopatia associada ao HTLV-I (PET/HAM). Cerca de 2 a 4% das pessoas infectadas de áreas endêmicas desenvolvem L/LTA. Com relação a PET/HAM menos de 1% irá apresentar a doença. A infecção pelo HTLV-II tem sido demonstrada em vários tipos de linfoma e leucemia, bem como em outras patologias neurológicas, porém com caráter menos agressivo que pelo HTLV-I (Harrison, 1998)

1.2.3 Vias de transmissão

a) Via vertical

A via vertical na qual o vírus é transmitido de mãe para filho, pode representar até 15% de todas as infecções, principalmente pela amamentação natural, é a via mais importante para o desenvolvimento da L/LTA, devido a presença de linfócitos infectados no leite materno. O vírus também pode ser passado para o feto por via transplacentária. No Japão e na Jamaica, as crianças amamentadas artificialmente apresentaram taxa de soroconversão de 1 a 2%, enquanto que as de aleitamento materno foram de 20% segundo os trabalhos de Sawada e colaboradores (1989) e de Ishak e seus colegas (**apud** Marangoni, 1998)

Aproximadamente 2 a 5% das infecções por HTLV-I de longa duração estão associadas à transmissão materno-infantil, que pode contribuir para o desenvolvimento da L/LTA. O *Western-blot* seriado de crianças soroconvertidas de mães positivas para HTLV-I permitiu que se observasse o padrão de presença de anticorpos maternos nos primeiros meses, geralmente desaparecendo por volta dos seis meses e surgimento subsequente por infecção nativa. A presença de anticorpo contra antígeno *tax* também se associa a essa via de transmissão (Covas **apud** Zago *et al*, 2001; Lin *et al*, 1997)

b) Via horizontal

A via horizontal ou sexual é responsável pela grande parte da população de portadores e o contágio se dá através de linfócitos do sêmen infectado homem-mulher, mulher-homem, homem-homem. A maior ocorrência existe na transmissão homem-

mulher; o número de parceiros sexuais e a presença de úlceras genitais ampliam o risco de transmissão do HTLV (Tajima *et al*, 1988; Cann, 1996)

c) Via transfusional

A via transfusional apresenta índice de 60% de transmissão em áreas endêmicas, segundo Levine *et al* (1988). Os produtos sanguíneos dependem da presença de células para a transmissão do vírus, assim os concentrados de glóbulos (hemácias, plaquetas e leucócitos), são importantes no risco de infecção, o que não acontece com o plasma e fatores de coagulação. O sangue total ou concentrado de glóbulos tem menor chance de infectividade se armazenado por longos períodos devido à perda da viabilidade dos linfócitos (Chorba *et al*, 1985; Okochi *et al*, 1984)

d) Via parenteral

O uso de drogas injetáveis e agulhas contaminadas por via hematogênica é outro importante fator de risco como mecanismo de transmissão para infecções por retrovírus humanos. A primeira análise de HTLV-I/II em usuários de drogas endovenosas foi realizada em 1984. As taxas de soroprevalência neste grupo foram de 0,4% a 53% nos Estados Unidos. Na Europa foram observadas taxas de 18%. As diferenças no estilo dos estudos de algoritmos testados são as possíveis explicações para estas variações. Tanto nos Estados Unidos quanto na Europa, com o HTLV-I/II representando a maioria das infecções entre usuários de drogas endovenosas, pela hipótese de que o efeito *coorte* se deva à epidemia do uso de drogas nas décadas de 60 e 70, com transmissão sexual secundária. No Brasil foi realizado estudo em Salvador (BA)

em de 1998, com soroprevalência de infecção em usuários de droga injetáveis, com taxas de 25,5% para HTLV-I e 8,8% para HTLV-II (Andrade *et al*, 1998)

Outros estudos realizados no Brasil revelam a infecção pelo HTLV em doadores de sangue (0,4%/1.148), doentes de paraparesia espástica tropical (30%/37), portadores de doenças linfoproliferativas (3,5%/53) e nos indivíduos com história de transfusão sanguínea (2,9%/171). Nos índios da Amazônia, de 635 casos analisados foram detectados 4,7% de indivíduos com HTLV I e 0,8% com HTLV II (Gabbai *et al*, 1993)

Importante consideração deve ser feita aos pacientes em uso de drogas imunossupressoras, tais como corticóides, que apresentam maior susceptibilidade à infecção, possivelmente por alteração imune ao HTLV (Langhorn **apud** Veronesi & Focaccia, 2000).

Recentemente tem sido documentado a presença da infecção pelo HTLV-I em transplante de múltiplos órgãos de um mesmo doador. No trabalho pioneiro de González-Perez e colaboradores (2003), a transmissão foi por via vertical e dois anos após o transplante foram detectados anticorpos do HTLV-I nos receptores de rim e fígado (Kauffman & Taranto, 2003)

4.4 Estrutura do HTLV

Os HTLV I / II são morfologicamente classificados com retrovírus do tipo C. Constituem-se de partículas virais esféricas de aproximadamente 100 nanômetros de diâmetro com 30 a 35 % de lipídeos inseridos na membrana, 60% de proteínas e 2 % de RNA. Possui um *core* central eletrodense, que contém duas cópias de ácido ribonucléico

(RNA) de fita única com 8,8 a 9 quilobases de tamanho, a enzima transcriptase reversa, as proteínas da matriz viral e o capsídeo protéico e também um envelope externo composto de glicoproteínas (Figura 1) (Marra, 1992; Vallinoto, 2000)

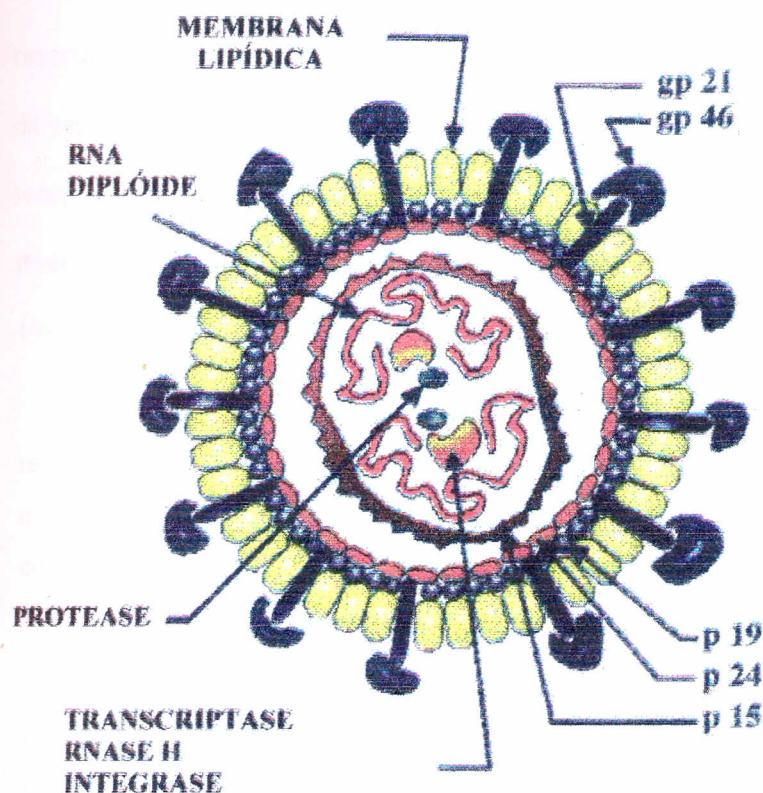


Fig. 1 – Estrutura do HTLV (Fonte: VALLINOTO, 2000)

A glicoproteína viral externa (gp 46) projeta-se na superfície viral sob a forma de 72 espículas que se ancoram nas demais estruturas virais por meio da glicoproteína transmembrana (gp 21) (Segurado **apud** Veronese & Focaccia, 2000)

As partículas virais podem ser visualizadas à ultramicroscopia, sendo liberadas pelo fenómeno de brotamento junto à membrana plasmática da célula infectada. Ao contrário do que se observa na infecção pelo HIV, não se detectam partículas virais livres de HTLV-I/II no sangue ou outros fluidos biológicos de indivíduos infectados, acreditando-se que estas partículas sejam exclusivamente associadas aos linfócitos infectados (Hjelle, 1991)

O genoma do vírus HTLV-I é constituído de vários genes que se encontram clonados e seqüenciados, denominados *gag*, *env*, *pol*, de enzimas como a transcriptidase reversa, a interage e protease, e proteínas regulatórias chamadas de *Tax* e *Rex* derivadas da região U3. Assim o HTLV infecta primariamente linfócitos T CD 4 + através de receptor ainda sem definição, afetando aproximadamente 10% da reserva circulante. Podendo ainda transformar também células CD 8 - , DR+ e CD 25 + (Gilli & Saad, 1997)

Com base na diversidade genotípica do segmento LTR viral, foram reconhecidos cinco subtipos de HTLV-I, classificados de acordo com a área geográfica onde predominam esses vírus. Segundo Covas (**apud** Zago *et al*, 2000) são eles: cosmopolita - encontrado em todos os continentes; japonês; da África Ocidental; centro africano e da Melanésia

No entanto, Miura *et al* (1997) citado por Segurado (**apud** Veronesi & Focaccia, 2000) após o sequenciamento nucleotídico do segmento LTR em amostras de pacientes de diversos continentes, propuseram nova classificação, apresentada a seguir:

- a) HTLV-I cosmopolita: encontrado em indivíduos infectados no Japão, Caribe, América do Sul e África Ocidental, a qual pode ser subdividida em três linhagens distintas: A, B e C;
 - Cosmopolita A: amostras do Caribe, América do Sul e algumas japonesas (descendentes aino);
 - Cosmopolita B: predomina em japoneses infectados;

- Cosmopolita C: inclui o Caribe e África Ocidental;
- b) HTLV-I da África Central: identificado no Gabão, semelhante as amostras de STLV-I de chimpanzés;
- c) HTLV-I da Melanésia: observada em habitantes de Papua-Nova Guiné.

1.2.5 Ciclo replicativo da HTLV-I

A infecção por HTLV-I inicia-se quando as partículas virais invadem células-alvo - os linfócitos CD4+. Geralmente acontece por transmissão viral célula a célula, a partir de células já infectadas, pois nessa retrovirose habitualmente não se encontram partículas virais livres em fluidos biológicos dos portadores da infecção (Segurado **apud** Veronese & Focaccia, 2000)

Embora sejam desconhecidas as moléculas que participam da invasão celular de partículas de HTLV-I, a molécula CD4+ certamente não é o receptor de superfície envolvido nesse processo. Porém é após a interiorização da partícula viral, que se verifica a liberação de seu material genético no citoplasma do linfócito infectado (Covas **apud** Zago *et al*, 2001)

O genoma viral de RNA sofre então ação da enzima transcriptase reversa viral, codificando-se numa molécula de DNA que lhe complementa. Esta, após migrar até o núcleo, incorpora-se ao genoma da célula hospedeira por ação da enzima integrase. O genoma viral, agora integrado, passa a ser denominado DNA proviral e onde será passível de replicação quando da divisão celular e de transcrição sob a ação de estímulos endógenos ou exógenos (Erlich *et al*. 1989; Gallo, 1991)

Assim a transcrição viral produz inicialmente moléculas de RNA mensageiro, que codificam a síntese de proteínas reguladoras da replicação viral a p40*tax*

e p23*rex*, e após o acúmulo de p23*rex*, essa proteína exerce atividade reguladora pós-transcricional, provocando a formação de RNA mensageiro gen mico capaz de codificar proteínas estruturais da matriz, do *core* e do envelope, propiciando a formação de novas partículas virais, que emergem da superfície celular por brotamento, carregando consigo parte da membrana celular bilip dica, como constituinte do seu envelope (FIGURA 2) (Segurado **apud** Veronesi & Focaccia, 2000)

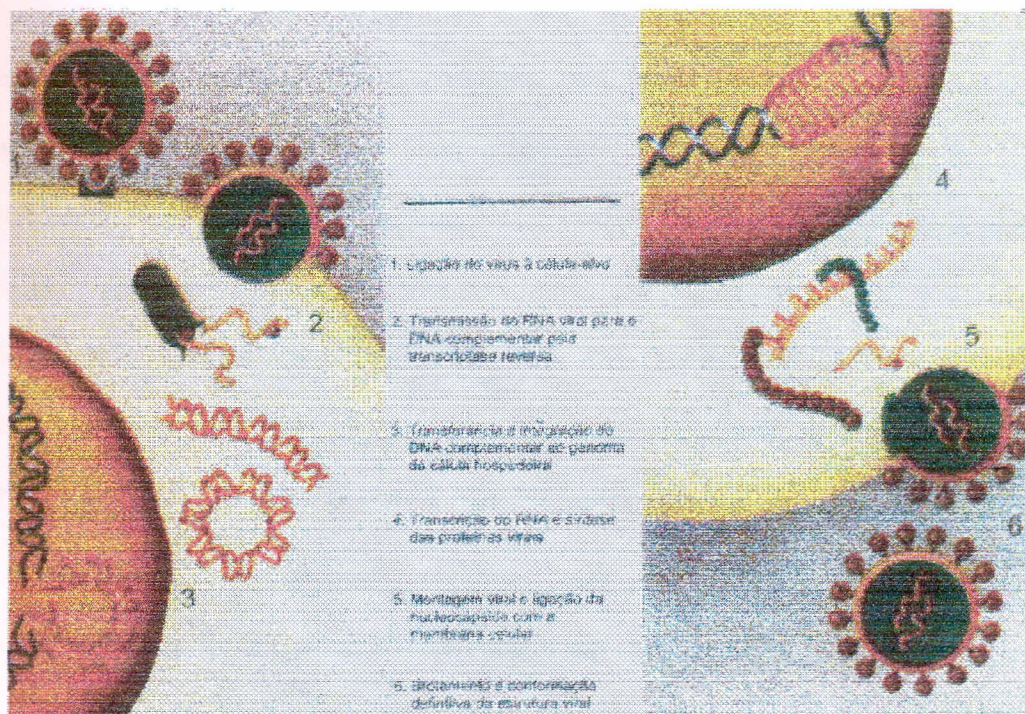


Fig. 2 – Ciclo replicativo do HTLV (Segurado **apud** Veronese & Focaccia, 2000)

A infecção então pode apresentar-se de forma latente em várias células T, indetectável ao sistema imune, como pode causar ativação da célula T, aumentando a possibilidade de infecção entre as células e propagando sua própria disseminação (Gilli & Saad, 1997)

1.3 LEUCEMIAS

1.3.1 Leucemia Linfóide Aguda na infância

A leucemia é o câncer mais comum em menores de 15 anos. Dados norte americanos mostram que 30% dos tumores na infância são leucemias. As leucemias agudas constituem o tipo mais comum, sendo a Leucemia Linfóide Aguda a mais freqüente (85%), seguida da Leucemia Não Linfocítica Aguda (10%). As LLA incidem na população na freqüência de 1/25.000 indivíduos de zero a 14 anos e o risco de desenvolver leucemia nos primeiros dez anos é de 1/2.880. A faixa etária de maior freqüência está entre dois e cinco anos, e parece haver certa predileção pelo sexo masculino sobre o feminino (Lopes & Mendes, **apud** Camargo & Lopes, 2000)

Amplas diferenças regionais nas incidências apontam para a multicausalidade das leucemias. Provavelmente aqueles casos que se manifestam durante o primeiro ano de vida devem estar relacionados a fatores genéticos e hereditários. Mas a etiologia da doença ainda é amplamente discutida, embora sejam enfatizados como possíveis causas os efeitos da irradiação, a exposição a drogas antineoplásicas e a exposição a alguns vírus (Li **apud** Nathan & Oski, 1993). Em especial os retrovírus, ou seja, vírus que contém a enzima transcriptase reversa, podem integrar o DNA de suas células hospedeiras e transformá-las em células leucêmicas principalmente em estudos com animais (Lorenzi **apud** Verrastro *et al*, 1996)

O tabagismo, a idade materna, os antecedentes de aborto e/ou natimortos, o nível educacional e sócio-econômico dos pais e a exposição ocupacional (indústrias

químicas, metarlúrgicas e exposição a pesticidas) constituem fatores de risco. Vários estudos têm mostrado que a exposição residencial a campos magnéticos aumentam o risco de desenvolvimento de quadros leucêmicos (Latorre, **apud** Camargo & Lopes, 2000)

Outros fatores também estão relacionados a antecedentes genéticos, como o síndrome de Down, de Schwachman, anemia de Fanconi e antecedentes familiares como irmão gêmeo com LLA. A exposição intra-útero a raios-X aumenta o risco da criança apresentar leucemia. Outros estudos sugerem ainda risco elevado de LLA em crianças nascidas de mães recentemente infectadas por vírus, como influenza, varicela e outras viroses (Poplack & Margolin **apud** Pizzo & Poplack, 1997)

Assim, é que a associação entre o vírus Epstein-Barr e a LLA do tipo L3 e o linfoma de Burkitt na África, está muito bem estabelecido. Anormalidades genéticas outras como mutações do gene p53 (síndrome de Li-Fraumeni) possuem propensão para o desenvolvimento de leucemias e outras neoplasias (Ribeiro, **apud** Zago *et al.*, 2001)

Conceitualmente a LLA é doença maligna de células linfocitárias derivadas das células indiferenciadas linfóides que estão presentes em grande número na medula óssea, timo e gânglios linfáticos, onde as células leucêmicas da LLA mantêm certa capacidade de multiplicação mas não se diferenciam até formas mais maduras e normais, acumulando grande quantidade de linfoblastos ou células jovens, em etapas diferentes de maturação. A parada de maturação dos linfócitos pode ser detectada por anticorpos monoclonais capazes de demonstrar antígenos de diferenciação linfocitária. As LLA podem ser do tipo B ou T, porém na sua grande maioria as LLA são do tipo pré-B ou tem marcadores de células mais indiferenciadas (Lorenzi **apud** Verrastro *et al.*, 1996)

Do ponto de vista molecular e citogenético tem sido observado genes que codificam fatores do crescimento celular ou receptores de membrana para estes fatores, sendo que a função desses genes pode ser alterada por ação de vírus que o transformam em oncogenes, ou seja, genes mutantes seriam responsáveis pela proliferação maligna linfóide. As translocações cromossômicas freqüentemente são observadas nas leucemias, como a t(8;14), e parecem estimular a ação de oncogenes localizados nos pontos de lesão (*break points*) ou próximos, resultando no aparecimento de neoplasia. ((Falcão & Rego, 2002)

Os achados clínicos nas LLA são variáveis e, embora a tríade febre, palidez e sangramento seja freqüente, a sintomatologia geralmente está associada aos órgãos envolvidos, assim os sintomas podem variar de duração de dias até semanas. A dor óssea é freqüente e representa o comprometimento leucêmico do periósteo e da cortical. A presença de massa mediastinal é comum nas LLA de linhagem T e pode causar dispnéia e derrame pleural. A cefaléia pode indicar envolvimento do SNC. O comprometimento do testículo, pele e nervos cranianos também é descrito nas LLA (Li, **apud** Nathan & Oski, 1993; Lopes & Mendes **apud** Camargo & Lopes, 2000)

A mononucleose aguda infecciosa e determinadas patologias virais, como o citomegalovírus, compartilham com características clínicas semelhantes, o que pode retardar o diagnóstico da LLA na infância. Outras entidades envolvidas no diagnóstico diferencial da LLA são: a artrite reumatóide juvenil, a púrpura trombocitopênica idiopática, a anemia aplástica e a leucemia mielóide aguda (Li, **apud** Nathan & Oski, 1993; Ribeiro, **apud** Zago *et al*, 2001)

O diagnóstico laboratorial da LLA é baseado no exame morfológico dos esfregaços de sangue periférico e de medula óssea, encontrando-se porcentagem elevada

de linfoblastos. O hemograma quase sempre exhibe anemia e plaquetopenia, com leucocitose variável e alta proporção de blastos linfóides. O diagnóstico definitivo requer aspirado de medula óssea (mielograma), quando se observa a invasão da medula óssea por células imaturas linfóides de mais de 25% (FIGURA 3), sendo este valor arbitrário que a distingue do linfoma linfoblástico; com conseqüente diminuição da produção eritrocítica, falência da série branca e interrupção da formação de megacariócitos, com falta de plaquetas circulantes (Hoffbrand *et al*, 1994)

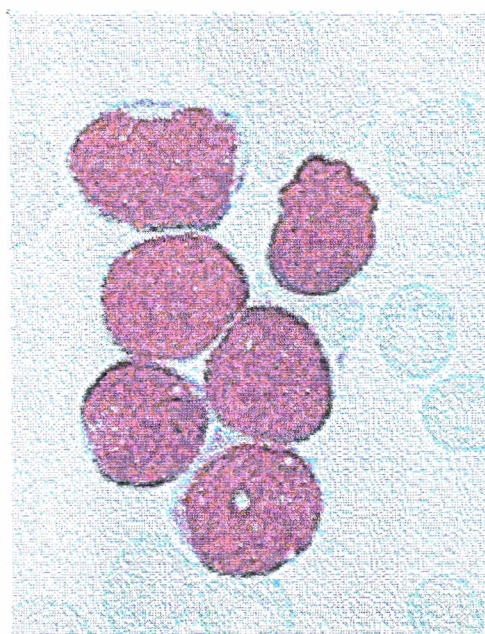


Fig 3 – LLA – Linfoblastos (HOFFBRAND *et al*, 1994)

Estudos complementares com citoquímica, imunofenotipagem e citogenética são pertinentes, inclusive para prever o prognóstico e orientar a terapêutica. Para evitar erros e divergências de interpretação o comitê FAB (French, American, British), estabeleceu nomenclatura uniforme de acordo com as características dos blastos na

microscopia, classificando a LLA em três tipos morfológicos: L1, L2 e L3; com reações de peroxidase e *Sudan black* negativas ou positivas em pequena porcentagem de linfoblastos, cerca de 3 a 5%, e a reação de fosfatase ácida é importante para caracterizar a LLA tipo T (aspecto de ponto único no citoplasma celular – reação em *dot*). A reação de PAS possui resultados variáveis, podendo ser negativa ou revelar granulações positivas homogêneas e pequenas, ou grandes e grosseiras, que para alguns autores provavelmente está relacionada com a presença de imunoglobulina no citoplasma, baseado neste achado, a PAS estaria relacionada mais com a LLA tipo B (Lukens, 1998)

Nomenclatura estabelecida pelo Comitê FAB com as características dos blastos na microscopia:

LLA tipo L1: blastos pequenos e homogêneos com alta relação núcleo/citoplasma, nucléolos pouco visíveis.

LLA tipo L2: blastos de tamanho variável, heterogêneos, relação núcleo/citoplasma pequena e nucléolos grandes e visíveis.

LLA tipo L3: blastos grandes, com abundante citoplasma, basofílico e vacuolado, tipo Burkitt. Forma grave e com pior prognóstico.

Posteriormente foi proposta a classificação MIC (Morfologia, Imunofenotipagem e Citogenética), que associa à morfologia, os demais dados do diagnóstico (Lorenzi *apud* Verrastro *et al.*, 1996)

A diferenciação das LLA baseada na imunofenotipagem dos blastos mostra que as células de linhagem B exibem CD19+, CD22+, CD10+ (CALLA), CD7-, CD33-, CD13-, HLA-DR+ e TdT positiva na maioria dos casos. Para a linhagem T observa-se

CD 19-, CD7+, CD33-, CD13-, HLA-DR + (em 10% dos casos) e TdT positiva (TABELA 1) (Falcão & Rego, 2002)

Tabela 1 - Classificação imunológica das Leucemias Linfóides Agudas

| Subtipo | Imunofenótipo | Frequência | |
|------------------|--|------------|---------|
| | | Crianças | Adultos |
| LLA de células B | CD19+ e/ou CD 22+ e/ou CitCD79a+ | | |
| Pró-B (B-I) | CD19/CD22/citCD79a+HLA-DR+, TdT+, demais marcadores B negativos | 5 % | 11 % |
| Comum (B-II) | CD19/CD24/CD22/citCD79a+;CD10+ | 63 % | 52 % |
| Pré-B (B-III) | CD19/CD24/CD22/CD79a+; Igc+; CD10 | 16 % | 9 % |
| B madura (B-IV) | CD19/CD24/CD22/CitCD79a+;IgS+ | 3 % | 3 % |
| LLA de células T | CitCD3 ou sCD3 | | |
| Pré-T | CitCD3+;CD7+; demais marcadores T negativos | 1 % | 6 % |
| | CD3+; CD7+; CD2+;CD5±; CD4/CD8±; | 12 % | 18% |
| T | CD1a± | | |

Frequência segundo Ludwig et al. (Falcão & Rego, 2002)

Marcadores importantes destacados em negrito

c = citoplasmático; s = membrana; ± = expressão variável

Algumas anomalias citogenéticas têm sido encontradas com maior frequência na LLA (TABELA 2), representando muitas vezes sinal de melhor prognóstico da doença. A hiperploídia (>50 cromossomos) é considerada de melhor prognóstico para a patologia. As translocações t (8;14), t (2;8), t (8;22), t (4;11) e t (9;22) são indicativas de mau prognóstico (Falcão & Rego,2002)

Tabela 2 - Alterações mais comuns na Leucemia Linfóide Aguda.

| Anormalidades citogenéticas | Características | Frequência | |
|----------------------------------|--|------------|---------|
| | | Crianças | Adultos |
| Numéricas | | | |
| Hipodiploidia (< 46 cromossomas) | mau prognóstico | 6 % | 4-8 % |
| Hiperploídia (47-50 cromossomas) | | 13% | 7-15 % |
| Hiperploídia (>50 cromossomas) | bom prognóstico | 28% | 10-13 % |
| Diploidia | | 45% | 15-34 % |
| Estruturais | | | |
| t(9;22) | Cromossoma Filadélfia(Ph) Gene de fusão BCR-ABL Mau prognóstico | 3-5 % | 11-19 % |
| t(4;11) | Frequente em crianças até um ano, imunofenótipo pró-B Gene de fusão MLL-AF4 Mau prognóstico | 2 % | 3-4 % |
| t(1;19) | Frequente nas LLA-B Gene de fusão E2A-PBX1 Leucocitose Mau prognóstico | 5-6 % | 2-3 % |
| t(8;14); t(2;8); t(8;22) | Associadas a LLA-B madura Gene MYC no cromossoma 8 com os genes Igh, IgKAPPA ou IgLAMBDA nos cromossomas 14, 22 e 2 | 3-4 % | 5 % |
| t(12;21) | Presente em 20-30% de LLA-B Fusão com os genes TEL e AML1 Hiperploídia Bom prognóstico | | |

Em 2001, a Organização Mundial de Saúde publicou nova classificação para as leucemias agudas, que inclui leucemia linfoblástica de precursores T ou B, e grupo de leucemia de linhagem ambígua. (Brunnering *et al*, 2001). A LLA- L3 está inserida no grupo de neoplasias de células B maduras.

O tratamento tem como objetivo induzir remissão clínica e hematológica, manter a remissão através da quimioterapia sistêmica e profilaxia do SNC e tratar as complicações da terapia e da doença. As indicações de Transplante de Medula Óssea (TMO) nas LLA são controversas na literatura (Lopes & Mendes, **apud** Camargo & Lopes, 2000)

Assim alguns fatores têm importância na orientação do tratamento, procurando-se identificar os casos de LLA em que há alto risco ou risco padrão, relacionados com o prognóstico. Destes há que se analisar: (Lorenzi **apud** Verrastro *et al*, 1996; Ribeiro, **apud** Zago *et al* 200) os seguintes fatores:

- a) idade: crianças entre dois e dez anos tem melhor prognóstico do que aquelas com menos de 12 meses e adultos.
- b) número de leucócitos: quanto maior a massa de células leucêmicas pior o prognóstico.
- c) citogenética: a hiperploídia indica melhor prognóstico e resposta terapêutica.
- d) sexo: o prognóstico costuma ser pior no masculino
- e) tipo morfológico: as LLA tipo L1 em crianças tem melhor prognóstico. As formas L3 respondem pior ao tratamento.
- f) tipo imunológico: a LLA tipoT em crianças parece ter o pior prognóstico. A LLA com marcadores do tipo CD10 ou CALLA em crianças, responde de modo favorável a terapêutica.

A raça negra, a presença de infiltração de SNC, a adenomegalia a hepatomegalia volumosa, a presença de massa mediastinal ou *rash* cutâneo e a falta de

resposta ao tratamento inicial constituem outros fatores de mau prognóstico. De acordo com Ribeiro (**apud** Zago *et al*,2001), desde que instituídas novas técnicas no tratamento da LLA na infância a mortalidade tem diminuído progressivamente. A sobrevida livre de doença por mais de cinco anos, que é considerada como critério de cura tem sido de aproximadamente 80%.

1.3.2 Leucemia Linfóide Aguda T

A leucemia Linfóide de linhagem T (LLA-T) representa 10 a 15% da LLA tanto em crianças quanto adultos. Essa forma é rara em bebês com menos de um ano de idade e em adultos com mais de 50 anos. A ocorrência com mais frequência em indivíduos do sexo masculino, está associada, comumente, a elevada leucometria no diagnóstico. A presença de massa mediastinal é de 50 a 60% dos pacientes e a incidência de envolvimento de SNC por ocasião do diagnóstico e após a indução da remissão é mais elevada do que em outros subtipos de LLA (Luckens **apud** Wintrobe, 1998)

Com a terapia convencional a duração da remissão é limitada. Entretanto com programas que empregam quimioterapia com multiagentes mais intensiva, os cursos de terapia de reindução-reconsolidação durante a remissão, a sobrevida dos pacientes com LLA-T aproxima-se dos pacientes com LLA não T (Sullivan **apud** Wintrobe, 1998)

Em estudo sobre intensificação do tratamento em adultos com LLA, na verdade o imunofenótipo de linfócito T tornou-se uma variável de prognóstico favorável. O significado prognóstico de linfócito T representa derivação de aspectos clínicos sabidamente indicadores de prognóstico desfavorável. Pela análise de

multivariância, os fatores mais importantes que contribuem para o quadro sombrio são a leucometria elevada, idade superior a 15 anos, esplenomegalia maciça, aspectos morfológicos de linfoblastos L2 e cariótipo anormal, sendo que o imunofenótipo de linfócito T, parece não ser uma variável prognóstica independente (Ribeiro, *apud* Zago *et al*, 2001)

As expressões do antígeno CD3 no citoplasma ou membrana celular são consideradas específicas para a linhagem T. O TdT é positivo, enquanto o CD1, CD2, CD4, CD5 e CD8 são variáveis. Ademais, o CD7 é expresso em todos os casos mas não é linhagem específica. O CD10 pode ser positivo e os antígenos mielóides CD13 ou CD33 ou ambos podem ser expressos, mas raramente exibem CD117. Os blastos da LLA-T podem ser classificados conforme o estágio de diferenciação em: LLA de timócitos imaturos (ou pré-T), intermediários e maduros. Na LLA pré-T as células expressam CD3 no citoplasma, mas não na superfície celular, o CD7 é positivo e não exibem outros marcadores T sendo que 1% das crianças são classificadas como pré-T. A LLA-T de timócitos intermediários, os blastos expressam CD3 na membrana (mCD3) e podem coexpressar CD4 e CD8, freqüentemente o Cd1a, CD2 e CD7 são positivos. Sendo a presença de CD4 ou do CD8 em células mCD3 característica do estágio de timócito maduro (Falcão & Rego, 2002)

As células leucêmicas que expressam CD7 na ausência de CD4 ou CD8 tem potencial de multilinhagem, sendo resistentes à quimioterapia convencional. Aproximadamente 10 a 20% das crianças e 35% dos adultos com LLA expressam antígenos associados a linhagem mielóide. O rearranjo coincidente dos genes para cadeia pesada das imunoglobulinas e dos genes para receptores dos linfócitos T ocorre em algumas crianças com LLA da linhagem B. Em geral, a expressão de linhagens

mistas é encarada com aspecto prognóstico adverso (Lukens, **apud** Wintrobe, 1998). Entre a LLA-T, um terço dos casos apresentam translocações envolvendo os *loci* do receptor T alfa e delta do cromossomo 14q11.2, o *locus* beta no 7q35 e o *locus* gama 7p14-15, com variedade de genes parceiros, os quais incluem os fatores de transcrição *MYC* (8q24.1), *TAL* (1p.32), *RBTNI* (11p.15), *RBRN2* (11p.13), *HOX11* (10q.24) e a tirosina quinase citoplasmática *LCK* (1p.34.3-34) (Falcão & Rego, 2002; Lin *et al.*, 1997)

1.3.3 Agentes virais x leucemia

Embora os vírus tenham sido relacionados à leucemia humana em apenas uma circunstância (HTLV-1 no linfoma leucemia de células T do adulto), há vários exemplos nos quais esses organismos causam câncer hematopoético em outras espécies. A raridade desses agentes causadores da doença humana não deve, entretanto, induzir a interrupção dos estudos sobre a leucemogênese viral, pois esta tem sido observada em animais ao longo dos dez anos e conduziram a avanço importante na compreensão do processo oncogênico. Até o momento, os retrovírus e herpesvírus são os mais significativos (Sullivan, **apud** Wintrobe, 1998)

O aspecto notável dos retrovírus é que estes contêm RNA, e após invadirem a célula hospedeira, podem dirigir a síntese de cópia de DNA a partir de seu conteúdo de RNA (esta direção retrógrada nomeia o grupo, DNA → RNA. Uma vez incorporada ao genoma do hospedeiro, esta informação poderá ficar dormente indefinidamente, como vírus “endógeno”, e poderá ser transmitida através da linha germinal às gerações futuras. Sob outras circunstâncias, em células permissivas ao agente, este poderá ser reativado mais tarde, produzindo partícula viral completa, infeccionando outro

hospedeiro, vírus “exógeno”. Note-se que a quase totalidade desses agentes virais oncogênicos agudos representam este tipo. (Gallo, 1982)

O ciclo infeccioso se inicia com a fixação de receptor específico na superfície da célula-alvo. Cada vírus evolui até o reconhecimento do sítio numa proteína da membrana plasmática da célula hospedeira, como o antígeno CD4 dos linfócitos auxiliares utilizados pelo vírus da AIDS (HIV-1). Depois que o RNA ingressa na célula, a informação é copiada pelo aparelho enzimático da célula hospedeira em dois filamentos de DNA, que em seguida se incorporam ao genoma do hospedeiro. Não há sítio isolado preferido para a integração no DNA do hospedeiro, o acesso parece ser aleatório (Sullivan, *apud* Wintrobe, 1998)

Para que o genoma do retrovírus possa se reproduzir, é necessária a presença dos seguintes elementos: o gene *gag* codificados de proteínas internas; o gene *pol* para o DNA polimerase dependente de RNA (transcriptidase reversa); o gene *env* codificador das proteínas do invólucro, e nas extremidades 5' e 3' repetições terminais (LTR) não codificantes duplicadas que controlam a expressão de outros genes. Esses elementos em conjunto determinam as proteínas virais que serão produzidas pela célula hospedeira e ditarão a especificidade tecidual no próximo curso da infecção. Um retrovírus incorporado a um genoma eucariótico pode levar à transformação oncogênica por vários mecanismos. O mais rápido (duas a quatro semanas em animais experimentais) está associado a agentes virais possuidores de outro gene, dito oncogene ou *v-onc*, introduzido em seu próprio genoma (Sullivan, *apud* Wintrobe, 1998)

Devido as restrições acerca de quanto DNA poderá ser acomodado em tal unidade de replicação, a maioria dos retrovírus oncogênicos tem que sacrificar alguns dos componentes essenciais para que reconstituam outra partícula viral. Esses agentes

são denominados vírus incompletos ou replicação defeituosas e para que se produzam devem ter acesso a proteínas compatíveis de outro vírus auxiliar. Na situação mais direta, o *v-onc* leva a produção de proteína que pode alterar a célula de modo que, finalmente, se comporta de modo reconhecido como neoplásico (Gallo, 1991)

A captura de um *c-onc* (proto-oncogenes) por retrovírus pode levar a modificação de sua função por diversos meios. Ao ser incorporado no vírus, ele pode ser removido da influência de seus elementos regulatórios *cis*. Assim o genoma viral está inserido em suficiente proximidade ao *c-onc*, a ponto de causar sua desregulação. Outros possíveis processos oncogênicos podem resultar da infecção viral crônica, como a estimulação sustentada de subgrupo de células imunes e a contínua secreção de fator de crescimento. Os efeitos da mitogênese prolongada podem combinar-se com outros processos, para a produção de célula neoplásica que eventualmente irá sobreviver e sofrer expansão. Algumas classes de genes virais podem levar à transformação da célula hospedeira, não pelos efeitos de seu próprio produto, mas pela ativação de outros genes da célula hospedeira, chamados de genes transativadores (Gallo, 1991)

Pode-se questionar se estes micróbios não são causas de leucemia aguda, como acontece nos padrões animais induzidos por vírus, com efeitos de alguns desses agentes virais de diferentes modos, podendo contribuir para o processo leucemogênico (Sullivan, *apud* Wintrobe, 1998)

1.3.4 Vírus da leucemia felina

A leucemia e o linfoma dos linfócitos T ocorrem em gatos e a maioria dessas doenças são subseqüentes a infecção por agentes virais da leucemia felina (FeLV) (Cabrera *et al*, 1999)

O vírus pode ser encontrado no sangue e na saliva de animais infectados e o combate noturno entre os animais parece ser o modo importante de transmissão, seguido pela via transplacentária para as crias. A transfecção experimental de FeLV isolado de gatos leucêmicos pode produzir diversas síndromes distintas, inclusive LLA e linfoma T. O fato interessante é que a metade dos gatos domésticos isolados contém gene *myc*, cada um integrado num diferente sítio de genoma retroviral. Logo, o vírus felino não leucemogênico recombina e captura *myc* do tecido normal e o traduz para as células-alvo de novo hospedeiro. Os vírus recombinantes de gatos geralmente não transformam linfócitos em culturas e assim poderia haver necessidade de um segundo evento para ocorrer a neoplasia (Gallo, 1992)

1.3.5 Vírus da leucemia bovina

Este agente causa o linfoma /leucemia de linfóide crônica em bovinos e é homólogo ao retrovírus HTLV-I causador da L/LTA. Ambos são similares pelo período de latência longo antes da infecção e apenas a minoria dos indivíduos expostos desenvolvem a neoplasia. Estes vírus não contêm oncogenes, mas apresentam inserção (*lor/ta*) que pode transativar outros genes do hospedeiro. O fato ocorre também em ovinos que apresentam incidência mais elevada da neoplasia do que os bovinos ou caprinos. A transmissão se dá pela placenta ou células infectadas. Nas regiões tropicais foi documentada a disseminação por insetos. Após o estágio de inicial de viremia, ocorre resposta imune humoral e celular, e em alguns, proliferação de linfócitos B policlonais. O mecanismo de leucemogênese não está esclarecido, até o momento (Gallo, 1992; Sullivan, *apud* Wintrobe, 1998)

1.4 DOENÇAS ASSOCIADAS AO HTLV

1.4.1 Leucemia / Linfoma de células T do adulto

O linfoma/leucemia de células T do adulto (L/LTA) foi reconhecido como entidade patológica em 1973, no Japão por Uchijama, Takatsuki e colaboradores, e internacionalmente quatro anos mais tarde, após a descrição de outros casos com as mesmas características clínicas em pacientes dos Estados Unidos, Inglaterra e Caribe (Oliveira *et al*, 1992). Foi a primeira neoplasia humana relacionada a retrovírus, o HTLV-I, tendo sido isolado pela primeira vez em paciente portador deste linfoma (Barbosa, 1997)

O papel etiológico deste retrovírus na patogenia do L/LTA foi demonstrado de várias maneiras:

- a) integração policlonal do vírus em portadores assintomáticos e monoclonal em pacientes com a doenç a;
- b) estudos soro-epidemiológicos, demonstrando associação entre a endemicidade da infecção por HTLV-I e L/LTA;
- c) capacidade do vírus de transformar e imortalizar os linfócitos T infectados *in vitro*;
- d) demonstração do papel oncog nico em modelos experimentais.

A infecção pelo HTLV ocorre em todos os continentes, contudo existem áreas em que a infecção é endêmica, como no Japão, onde o vírus é disseminado no sudoeste, nas ilhas de Kyushu e Shikoku, no arquipélago de Ryukyu e na ilha de Okinawa. Nesta última, a soro-prevalência pode chegar até 35%, enquanto nas regiões não endêmicas do Japão é de menos de 1% (Fauci, 1998)

Um segundo grande foco de infecção pelo HTLV-I foi observado no Caribe, em particular na Jamaica, Trinidad e Tobago, Barbados, Guadalupe, Martinica e Haiti. No continente africano a infecção predomina nas regiões equatoriais, incluindo o Zaire, a Nigéria, a Costa do Marfim, o Quênia e a Tanzânia. Finalmente, Papua, Nova Guiné, sudeste dos Estados Unidos e o Alasca também foram descritos como regiões endêmicas. Casos esporádicos têm sido relatados em todo o mundo (Milito & Moraes, 2000) No Brasil, o primeiro estudo de soro-prevalência do HTLV-I foi realizado e publicado por Kitagawa e colaboradores, em 1986, tendo sido identificada uma população de imigrantes japoneses provenientes de Okinawa com índice de positividade de 13%.

Em 1997, em Salvador, estudos realizados em doadores de sangue revelaram os índices mais elevados de soro-positividade para o HTLV-I de 1,35%. Em pesquisa realizada com índios da Amazônia, a infecção pelo HTLV mostrou incidência de 31,4%. Em Belém, capital do Pará, entre 809 amostras de sangue de doadores, 1,61% foram soro-positivas. Admite-se que para ocorrer o desenvolvimento de L/LTA a infecção pelo HTLV-I deva ocorrer precocemente. O risco de desenvolver L/LTA é de apenas 1 - 5% entre os infectados. Nas áreas endêmicas do Japão a incidência da doença é de 0,6 por 1000 por ano, em portadores do HTLV-I com mais de 20 anos de idade (Barbosa, 1997)

No Japão a doença acomete exclusivamente adultos, aumentando sua incidência a partir dos 40 anos, com idade média de 58 anos e, diferentemente de outros tipos de Linfoma, diminui após os 70 anos de idade, sendo a relação homem:mulher de aproximadamente 1,2:1, embora a infecção assintomática pelo HTLV-I seja mais comum no sexo feminino. No Caribe e no Brasil, onde as médias de idade são, respectivamente, 43 e 41 anos, essa relação é de 1:1 (Borducchi *et al*, 1999)

As vias conhecidas de transmissão do HTLV-I são: de mãe para filho, através da placenta ou amamentação; sexual, homem-mulher; sexual mulher-homem; sexual homem-homem; parenteral, por transfusão sanguínea ou uso de droga intravenosa. A transmissão vertical é responsável por aproximadamente 15% dos casos soro-positivos e a soro-conversão ocorre em torno dos dez anos de idade. Os indivíduos que adquiriram a infecção na infância são os que têm maior chance de desenvolver a patologia considerando-se que o período de incubação é longo (Langhorn, **apud** Veronese & Focaccia, 2000)

Já foi demonstrada alta incidência de soropositividade em familiares de doentes alcançando índices de até 68%. Embora as vias mencionadas colaborem para a disseminação de infecção viral, só 2 a 5% das pessoas contaminadas vai desenvolver L/LTA. Assim, embora a infecção pelo vírus parece ser essencial para o desenvolvimento de L/LTA, é evidente que outros fatores provavelmente estão envolvidos na patogênese deste linfoma, como imunossupressão e infecções como filaríase, malária e estrogiloidíase. Há a hipótese que infecções intercorrentes por vírus, bactérias ou parasitos possam reduzir a imunocompetência, acelerando o desenvolvimento da neoplasia (Barbosa, 1997)

O HTLV-I é vírus de baixa infectividade, que acomete principalmente células linfóides T periféricas CD4+ e raramente CD8+, e que são transformadas e imortalizadas pelo vírus. Os mecanismos subseqüentes de transformação celular não estão esclarecidos e o receptor específico do vírus na membrana celular não é conhecido. Após penetrar na célula, o vírus libera o RNA do envelope e ocorre no citoplasma celular a transcrição do RNA viral em DNA pela ação da transcriptase reversa. Forma-se cópia de DNA de fita dupla que migra para o núcleo da célula infectada e integra-se ao genoma celular pela ação da integrase viral. A seguir o DNA pró-viral inicia a síntese de RNA viral e outras proteínas virais por meio da RNA polimerase II da célula infectada ocorrendo depois o brotamento da partícula viral (Segurado, *apud* Veronesi & Foccacia, 2000)

As características clínicas do L/LTA podem simular linfomas de células T cutâneas, leucemias graves ou linfomas restritos a áreas ganglionares. Os achados predominantes ao exame físico, quando do início da doença são: adenomegalia (60%); hepatomegalia (26%); esplenomegalia (22%) e lesões cutâneas (39%) representadas por nódulos, eritemas, pápulas, placas infiltradas ou tumores. Outros achados são: dor abdominal; diarreia; derrame pleural; ascite, tosse e expectoração; febre e emagrecimento; e mais raramente fraqueza muscular, icterícia, alteração do estado mental, parestesias e/ou cefaléia (Borducchi *et al*, 1999)

Os pacientes podem ter imunodeficiência subjacente de patogênese obscura, que os torna suscetíveis a infecções oportunistas semelhantes àquelas dos pacientes com AIDS, das quais as encontradas com mais freqüência são: pneumonia por *Pneumocystis carinii*; infecções por citomegalovírus; sépsis fúngica e bacteriana; infestação intestinal por *Strongyloides stercoralis*; meningite criptocócica; herpes

zoster disseminado; escabiose e candidíase oral. Os infiltrados pulmonares refletem, em 50% dos casos, infecções oportunistas, principalmente por *Pneumocystis carinii* e outros fungos. Os outros 50% ocorrem por infiltração leucêmica. Os sinais e sintomas gastrintestinais quase sempre estão relacionados com infecção oportunista. Além disso, cerca de 10% dos pacientes apresentam comprometimento leptomeníngeo (Fauci, 1998)

O diagnóstico do L/LTA deve basear-se nas características morfológicas e imunofenotípicas das células do sangue periférico ou da medula óssea, ou ainda no estudo histopatológico e imuno-histoquímico, comumente de linfonodos e/ou de pele, determinando o diagnóstico conclusivo de neoplasia maligna linfóide com fenótipo T. A associação de infecção pelo HTLV-I deve ser estabelecida pela detecção de anticorpos específicos por técnicas sorológicas ou pela presença do DNA viral por meio de técnicas de biologia molecular em células de sangue periférico ou em tecidos (Milito & Moraes, 2000)

O leucograma pode ser normal ou apresentar desde discreta linfocitose a quadro francamente leucêmico, onde são identificadas células típicas ditas *flower cells* ou células em flor (FIGURA 4), semelhantes às de Sézary com cromatina grosseira, núcleo denteado ou lobulado, citoplasma agranular e fenótipo de superfície, caracterizado por anticorpos monoclonais, CD3+, CD4+, CD8-, CD25+, HLA-DR+, CD7 ausente, sugerindo que tais células se originam da subpopulação de linfócitos T CD4+. A aberração cromossômica pode ter várias formas, todas inespecíficas. O envolvimento da medula óssea é geralmente pouco intenso e os pacientes comumente não apresentam anemia ou trombocitopenia (Barbosa, 1997; Oliveira *et al*, 1992)

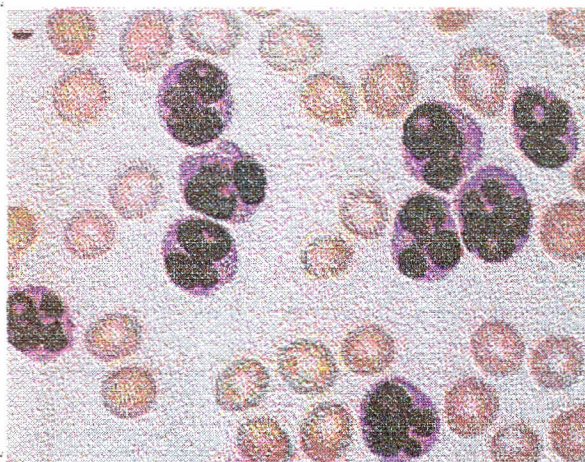


Figura 4: Células em flor da L/LTA (Hoffbrand *et al*, 1991)

As lesões de pele do L/LTA têm geralmente o aspecto histológico de linfoma pleomórfico difuso, com células apresentando tamanho pequeno, médio ou grande. Pode ou não haver epidermotropismo e abscessos de Pautrier. No derma, o infiltrado neoplásico pode ocorrer em padrão liquenóide, perivascular superficial e/ou profundo ou difuso. Podem estar presentes eosinófilos, plasmócitos e macrófagos e, às vezes, células gigantes multinucleadas do tipo inflamatrio (Borducchi *et al*, 1999)

A hipercalcemia é mais freqüente do que em outros linfomas, provavelmente de origem multifatorial, associada   proliferação desordenada de osteoclastos com reabsorção óssea ativados pelas células tumorais, ou estas podem produzir molécula semelhante ao paratormônio (Borducchi *et al*, 1999)

A desidrogenase l tica (DHL) encontra-se elevada na maioria dos pacientes e juntamente com a hipercalcemia constitui indicador de agressividade da doenç a. A hiperbilirrubinemia pode ser observada nos casos de infiltração hepática; a hipergamaglobulinemia é rara. Dentre outros marcadores de atividade da doenç a destacam-se os níveis séricos de beta 2 microglobulina e receptor de cadeia alfa de

interleucina-2, que é expresso em quantidade elevada nas membranas das células da LLTA (Oliveira *et al*, 1992)

Shimoyama e membros do Grupo de Linfoma propuseram os seguintes critérios diagnósticos para a classificação dentro das quatro formas da doença: latente (*smoldering*), crônica, linfomatosa e aguda (Johnson & Franchini, 2001)

- a) forma latente: 5% ou mais de linfócitos T anormais em sangue periférico, contagem de linfócitos normal, ausência de hipercalcemia, DHL até 1,5 vez o valor máximo normal, ausência de adenomegalia. Lesões cutâneas e pulmonares podem estar presentes. Em pacientes com menos de 5% de linfócitos T anormais em sangue periférico deve haver, pelo menos, lesão pulmonar ou cutânea confirmada por exame histopatológico;
- b) forma crônica: linfocitose absoluta com linfocitose T, inclusive atípica e tipo *flower cell*, maior que $3.500/\text{mm}^3$, DHL até duas vezes o valor máximo normal, ausência de hipercalcemia, sem acometimento ósseo, de sistema nervoso central e trato gastrointestinal, além de ausência de ascite ou de derrame pleural. Linfadenomegalia e envolvimento de fígado, baço, pele e pulmão podem estar presentes;
- c) forma linfomatosa: sem linfocitose, 1% ou menos de linfócitos T anormais e linfadenopatia confirmada por estudo histopatológico, com ou sem comprometimento linfonodal;
- d) forma aguda: corresponde a forma mais agressiva, com linfadenopatia, hepatoesplenomegalia e lesões cutâneas,

geralmente com leucemia e massas tumorais e com características que excluem os outros subtipos, apresentando infiltração de trato gastrointestinal e sistema nervoso central.

A progressão das formas latente ou *smoldering* para a variante aguda ocorre em 25% dos casos após longa evolução (Kikuchi *et al*, 2001)

A quimioterapia combinada, utilizada no tratamento de linfomas e leucemias, embora continue sendo empregada, não obteve sucesso no tratamento de L/LTA; a sua utilização parece não alterar o prognóstico dos pacientes. As formas aguda e linfomatosa são tratadas geralmente com esse tipo de quimioterapia. A forma crônica somente é tratada quando ocorre elevação de DHL e/ou da uréia ou hipoalbuminemia. Pacientes com a forma incipiente são geralmente acompanhados e tratados apenas se ocorrer agudização. Recentemente têm sido tentadas novas formas de tratamento utilizando anti-viral (zidovudine – 200 mg, via oral, cinco vezes ao dia) e interferon alfa e beta (5 – 10 milhões U subcutâneo, uma vez ao dia) com resultados animadores. Estes dois medicamentos podem bloquear a replicação e/ou agir como citotóxicos e levar à remissão da doença e ao conseqüente prolongamento da sobrevida, podendo ocasionar, todavia, efeitos tóxicos como neutropenia, anemia, plaquetopenia e elevação das transaminases (Johnson & Franchini, 2001; Ramos & Brito, 2002)

1.4.2 Paraparesia espástica tropical (PET) / mielopatia associada ao HTLV-I (HAM)

Trata-se de Mielopatia progressiva e crônica na qual há paraparesia espástica crural, usualmente de início insidioso, associada a grau variável de disfunção esfinteriana e sensitiva. Predomina nas regiões tropicais e sub-tropicais e corresponde

de 40 a 60 % das mielopatias de origem indeterminada onde a prevalência de infecção pelo HTLV-I/II costuma ser significativa, como nas ilhas do Caribe, regiões subequatorianas da África, América Latina e ilhas do sul do Japão (Nakauchi *et al.* 1992)

As mieloneuropatias progressivas crônicas têm sido estudadas nos locais onde a ocorrência de esclerose múltipla é menor. Mani, em 1969 na Índia, propôs o termo paraparesia espástica tropical (PET), através de trabalho de Minchin, de 1940, que observou paciente com paraparesia espástica, atribuindo ao latirismo, sem no entanto haver confirmação da ingestão de leguminosa. Gessain *et al.*, em 1985, comprovaram a estreita relação de retrovírus com significativo percentual de PET na Martinica; e no mesmo ano Rodgers-Johnson encontrou anticorpo anti-HTLV-I no soro e liquor de pacientes jamaicanos e colombianos com PET (Menna-Barreto *et al.*, **apud** Veronese & Foccacia, 2000)

Por volta de 1986, Osame no Japão descrevia em pacientes oriundos de Kyushi e Okinawa mielopatia associada ao HTLV-I, em zona não tropical; e Kitagawa, no Brasil, descreveu esta associação em descendentes de japoneses originários de Okinawa e residindo no Mato Grosso.

Existem duas teorias para a PET/HAM:

- a) teoria auto-imune, na qual a infecção pelo HTLV-I ativaria as células T autoreativas, que migrando ao SNC secretariam citocinas iniciando processo inflamatório, com destruição tecidual;
- b) teoria citotóxica, propõe a presença de ataque citolítico mediado por células CD8, contra células do SNC infectadas pelo HTLV-I

ou contra células CD4+ infectadas dentro do SNC (Menna-Barreto *et al*, **apud** Veronesi & Foccacia, 2000)

As citocinas encontradas diferem conforme a evolução, nas fases iniciais estão presente interleucina-1 beta (IL-1 β); fator de necrose tumoral alfa (TNF α) e interferon gama (IFN γ), nos casos cr nicos apenas este último permanece. A expressão dessas citocinas sobre os astrócitos e as células da microglia sugere que as células da glia exerç m participação ativa na formação da lesão. Nas fases precoces da PET/HAM encontram-se linfócitos abundantes em número equivalente de CD8+, CD4+ e células B, enquanto que na fase crônica, exclusivamente células CD8+ (Casseb & Oliveira, 2000)

São indivíduos oriundos ou residente em regiões tropicais, sub-tropicais ou temperadas, independente da etnia, sexo, faixa etária e situação econ mica. A idade mais comum   de 30 a 50 anos; o sexo feminino predomina sobre o masculino. A transmissão pode ser vertical, pelo aleitamento materno, sexual, transfusional e pelo uso de seringas e agulhas contaminados. O período de incubação entre a infecção e a mielopatia é mais curto em pacientes infectados pela via transfusional (Biblionne *et al*, 2003)

Foi observado na população de Kagoshima que apresenta elevado potencial para PET/HAM, que o HLA-A*02 protege o indivíduo contra o HTLV-I associado a mielopatia. O gene HLA II, HLA DRB1* 0101 (HLA-DR1) parece aumentar o risco de PET/HAM, por mecanismo ainda não elucidado. Entretanto, a predisposição do HLA-DRB1*0101   encontrada somente naqueles com perda do HLA-A*02 (Bangham, 2000)

O diagnóstico de PET/HAM é cogitado em pacientes com distúrbio de marcha progressivo, com diminuição da força muscular nos membros inferiores associadas a queixas sensitivas leves e autonômicas como urgência miccional, incontinência ou retenção urinária, constipação intestinal, diminuição da libido e da potência sexual, com quadro neurológico incapacitante. Os critérios diagnósticos de PET/HAM estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde (WHO) são apresentado no quadro 1 (Menna-Barreto *et al*, **apud** Veronesi & Focaccia, 2000)

QUADRO 1
Crêterios diagnósticos de PET/HAM - OMS 1988

I. CRITERIOS CLINICOS

Pelo fato do quadro de paraparesia ser abundante e não característico, quando do primeiro contato com o paciente deve ser lembrado que um único sintoma ou sinal pode ser evidência de PET/HAM em fase inicial.

A. Idade e sexo

Predomina em adultos, embora existam casos descritos em crianç as; pode ser familiar e há um maior número de mulheres acometidas.

B. In cio

Usualmente insidioso, embora possa ser súbito.

C. Principais manifestações neurológicas

1. Paraparesia espástica crônica, com progressão frequentemente lenta, podendo manter-se estável após deteriora o inicial.

2. Fraqueza dos membros inferiores, com predomínio proximal.

3. Disfunção vesical (bexiga neurog nica), de aparecimento precoce, constipa o, surgindo tardiamente; disfunção erétil (impotência) e diminui o de libido.

4. Distúrbios sensitivos caracterizados por dormência, formigamento, sensa o de queima o e dores (parestesias e distesias), sendo desproporcionais em rela o aos achados físicos.

5. Lombalgia isolada ou com irradia o para as pernas.

6. Sensibilidade vibratória (palestesia) mais frequentemente afetada que a propioceptiva.

7. Reflexos tendinosos profundos exaltados nos membros inferiores, usualmente com clônus e sinal de Babinski presente.

8. Hiperreflexia dos membros superiores; sinais de Hoffmann e Tromner frequentemente positivos, fraqueza pode estar ausente.

9. Reflexo mandibular exaltado em alguns pacientes.

D. Achados neurológicos infrequentes

Sinais de disfunção cerebelar, atrofia de nervo óptico, surdez, nistagmo, deficiências em outros nervos cranianos, tremor de extremidades, diminui o ou aboli o reflexo aquileu.

Raramente, convulsões, distúrbios cognitivos, demência ou distúrbios do nível de consciência.

E. Outros possíveis achados neurológicos

Atrofia muscular, fascicula es (raro), poliomyosite, neuropatia periférica, polirradiculopatia, neuropatia de nervos cranianos, meningite, encefalopatia.

F. Manifesta es sist micas

Alveolite linfocitária pulmonar, uveíte, síndrome de Sj gren, artropatia, vasculite, ictiose, crioglobulinemia, gamopatia monoclonal, leucemia /linfoma de células T do adulto (L/LTA).

II. Diagnóstico laboratorial

A Presenç a de anticorpos anti-HTLV-I ou antígenos no sangue e no líquido cefalorraquidiano (LCR)

B. Discreta pleocitose, de predomínio linfomonocit rio, pode ser observado no LCR

C. Linfócitos lobulados (*flowers cells*) podem estar presentes no sangue e/ou LCR

D. Aumento de proteínas no LCR, de leve a moderada (hiperproteinorraquia)

E. Isolamento viral no sangue e/ou LCR, quando possível.

Na patologia da PET/HAM encontra-se ausência de alteraes no encéfalo e moderada a grave atrofia medular. A histopatologia é caracterizada por processo inflamatório progressivo-cr nico com exsudao parenquimatosa de linfócitos e monócitos nas substâncias cinzenta e branca da medula, perpetuando-se por mais de três anos após o início dos sintomas neurológicos, resultando em severa degenerao da substância branca com reaes tissulares gliomesenquimais. Estas estão mais pronunciadas na medula torácica inferior. As colunas posteriores envolvidas, principalmente o trato gr cil, são os responsáveis pela sensibilidade vibratória (palestesia) e cinest tica. O comprometimento do nervo óptico foi verificado de 10 a 24% dos pacientes vindos da Jamaica e do Sul da  ndia. Yoshioka descrevendo achados em necrópsia de pacientes com pouco de evoluo, encontrou infiltrado inflamatório linfocitário de células CD8+ perivascular e desmielizao, com indícios de degenerao axonal; a fibrose leptomeningeia também foi descrita por outros autores como achado precoce (Takayanagui, 2000)

Nos nervos periféricos ocorre infiltrado linfocitico-perivascular envolvendo o epineuro e, menos intensamente, o endoneuro. As análises citoquímicas demonstram predomin o de células CD8+ associadas com hiperexpressão de antígenos de classe I do sistema de histocompatibilidade (MCH). Mais recentemente foi observado que as lesões axomiel nicas do trato piramidal da medula apresentavam padrão ascendente, sendo mais intensa nos segmentos lombares e torácicos; a afeco do trato gr cil denotava padrão ascendente, com envolvimento das regiões cervicais. Também a constatao de envolvimento encefálico, em indivíduos com deteriorao intelectual, foi observada desmielinizao de áreas subcorticais frequentemente

identificadas nos exames de neuroimagem de pacientes com PET/HAM (Menna-Barreto *et al*, **apud** Veronesi & Foccacia, 2000)

Diversos tratamentos têm sido propostos para a PET/HAM, de modo individualizado, de acordo com a idade, sexo, tempo e padrão evolutivo, formas subclínicas ou completas, predominância de distúrbios miccionais, incapacidade motora, desordens álgicas e co-infecção com outros retrovírus. O uso de corticoterapia com prednisona via oral, é indicado para os estágios iniciais da doença; a pulsoterapia com metilprednisolona por tempo indeterminado é resguardado para os quadros de instalação aguda. O interferon alfa na dose de 6 milhões UI/dia nas primeiras duas semanas seguido de três vezes na semana por seis meses, melhora a incapacidade motora dos pacientes. A espasticidade tem sido manejada com diazepam, 10 a 30 mg/dia. A fisioterapia visa determinar a prevenção de incapacidade e estabelecer estratégias de autocuidado nas atividades da vida diária; os exercícios regulares evitam o enrijecimento articular e aumentam a força muscular necessária para marcha. A estimulação elétrica neurofuncional é alternativa para os que apresentam limitação na extensão dorsal do pé. Na disfunção vesical além de drogas como oxibutinina, na dose de 5 a 10 mg/dia e imipramina, 25 a 75 mg/dia, indicada para as hiper-reflexias, pode haver necessidade do uso de cateterismo vesical intermitente (Menna-Barreto *et al*, **apud** Veronese & Foccacia, 2000)

6.3 Uveíte associada ao HTLV-I

A uveíte recentemente foi descrita como a terceira doença reconhecidamente associada à infecção pelo HTLV-I. Em 1992, Mochizuki et al. por estudos soroepidemiológicos, oftalmológicos e virológicos, no sul do Japão, foram os responsáveis para a definição da uveíte associada ao HTLV-I (HU) em portadores assintomáticos, caracterizados pela ausência de L/LTA e PET/HAM. Esses estudos demonstraram que:

- a) a soroprevalência de anticorpos anti-HTLV-I em pacientes com uveíte idiopática era significativamente mais alta do que a encontrada em pacientes com uveíte de etiologia definida ou em pacientes com doenças oculares não-uveíticas;
- b) as manifestações oculares da uveíte associada ao HTLV-I eram caracterizadas por opacidades vítreas de grau moderado a grave, irite leve e vasculite retiniana e
- c) o DNA proviral do HTLV-I, detectado pela técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR), estava presente em células do humor aquoso (Yamamoto, *apud* Veronese & Foccacia, 2000)

Os estudos de vários autores demonstram a expressão do DNA proviral de HTLV-I em clones de linfócitos T isolados do humor aquoso ou corpo vítreo de pacientes com HU, além do aumento da produção constitutiva de várias citocinas por esses clones, dentre elas a IL-6. Ono *et al*, 1997, também descreveram aumento de

células infectadas pelo HTLV-I circulantes no sangue periférico, em paciente com HU em rela o ao portador assintomático (Yamamoto, **apud** Veronese & Foccacia, 2000)

O quadro clínico da uveíte associada ao HTLV-I, caracteriza-se por quadro inflamatr rio discreto, sendo observada com maior frequência entre 20 e 49 anos de idade, podendo ser uni ou bilateral. As moscas volantes e discreta turva o e discreta turva o da visão de início agudo ou subagudo são queixas mais comuns. Os sinais clínicos são representados por opacidades vítreas associadas à irite e vasculite retiniana discretas, caracterizando uveíte intermediária. São menos freqüentes os quadros de uveíte difusa, anterior e posterior. Em 10 a 20% dos pacientes com uveíte tem sido descrita associa o com a doenç a de Graves antecedendo ao quadro de uveíte (Yamaguchi *et al*, 1994).

O diagnóstico da HU é baseado na soropositividade para HTLV-I na ausência de doenç a sist mica associada ao HTLV-I (LLTA e PET/HAM) e na exclusão de outras etiologias de uveíte (Yamamoto, **apud** Veronese & Foccacia, 2000)

O tratamento da HU apresenta boa resposta ao uso de corticóide t pico e/ou sist mico, tendo prognóstico visual satisfatr rio, porém tende a recidivar após a retirada da medica o (Mochizuki *et al*, 1994)

1.4.4. Outras doenças relacionadas ou associadas ao HTLV

a) Patologias associadas ao HTLV-I (Borduchi *et al*, 1999)

- Dermatite Infecciosa ou Infectiva : ocorre em crianças e foi relatada por La Grenade *et al*, em 1990, a partir da associação entre dermatite infecciosa e infecção por HTLV-I. As características clínicas incluem: dermatite exsudativa severa, com formação de crostas no couro cabeludo, pescoço, áreas retroauriculares e orelhas, axilas e virilhas; erupção papular generalizada; descarga nasal fluída, com formação de crostas nasais anteriores
- Alveolite linfocitária
- Artropatias
- Poliomiosite
- Linfadenopatias

b) Doenças relacionadas ao HTLV-I, com alto percentual de anticorpos anti-HTLV-I:

- Sarna norueguesa ou crostosa ou hiperkeratótica
- Estrongiloidíase
- Síndrome de Sjögren
- Tireoidite de Hashimoto
- Artrite reumatóide
- Insuficiência renal crônica
- Micose cutânea inespecífica
- Neoplasia de diversos órgãos
- Doenças oportunistas pulmonares

1.5 - DIAGNÓSTICO LABORATORIAL PARA HTLV

A investigação laboratorial do HTLV-I/II pode ser iniciada através da aplicação de metodologias como a enzima-imunoensaio (ELISA) ou aglutinação de partículas. Tais testes utilizados para o diagnóstico da infecção pelo HTLV dependem da detecção de anticorpos. Métodos mais específicos como o *Western blot* (WB) ou a radioimunoprecipitaç o (RIPA) servem para a confirmação de anticorpos anti-HTLV-I/II. Para a complementação desta investigação sorológica   buscada a identificação do antígeno viral, como a cultura celular de linfócitos do sangue, órgãos linfóides ou liquor, ou então, de produtos do seu genoma através do *Southern blotting* e reação em cadeia da polimerase (PCR) (Wendel *et al*, **apud** Veronese & Foccacia, 2000)

A escolha do método para reação sorológica depende da sensibilidade, especificidade e valores preditivos. A sensibilidade   a capacidade de obter resultados positivos em indivíduos realmente infectados; a especificidade indica a capacidade do teste em identificar corretamente indivíduos infectados; o valor preditivo positivo é a probabilidade de um indivíduo com teste positivo ter a doenç a, e quando negativo é a probabilidade do indivíduo com teste negativo não ter a doenç a (Oliveira, 2001)

A resposta imunológica (produção de anticorpos) contra as diversas proteínas codificadas pelos genes estruturais e reguladores do HTLV constitui a base para o diagnóstico sorológico da infecção viral. Os testes rotineiramente empregados para o diagnóstico laboratorial do HTLV (principalmente o ELISA) têm apresentado alta

sensibilidade e baixa especificidade, além da existência de várias reações cruzadas entre o HTLV-I e HTLV-II, e às vezes, frente a outros retrovírus (principalmente os dirigidos contra produtos do gene *gag*), acarretando a possibilidade de resultados falso-positivos, necessitando em sua maioria de testes suplementares ou confirmatórios para correto diagnóstico. (Wendel *et al*, **apud** Veronese & Foccacia, 2000)

1.5.1 ELISA

O ELISA é atualmente o método sorológico mais utilizado para o início do estudo diagnóstico laboratorial do HTLV-I/II. É capaz de detectar anticorpos contra as regiões core (p24, p19) e envelope (gp21, gp46 ou gp61/68). Se anticorpos contra HTLV-I ou HTLV-II estiverem presentes formam-se complexos imunológicos, após adição de plasma ou soro do indivíduo. Considerando a alta homologia entre HTLV-I e HTLV-II podem haver reações cruzadas, todavia a sensibilidade não é perfeita, sendo descritos resultados falso-negativos para HTLV-II. Com a terceira geração de teste ELISA, tanto a sensibilidade como a especificidade estão maiores, sendo atualmente indicado na triagem sorológica de doadores de sangue (Hjelle, 1991)

1.5.2 Aglutinação de partículas

Os ensaios de aglutinação de partículas detectam a presença do anti-HTLV pela aglutinação de partículas recobertas com antígeno de HTLV, lidas com teste de aglutinação, semelhante ao teste de hemaglutinação. A base do teste é a imobilização do antígeno HTLV-I à partícula, com o descrito para o ELISA e possui a mesma fonte e o tipo de antígeno. A reatividade cruzada entre o HTLV-I e II é inferior ao observado

no ELISA, também precisa de teste confirmatório. É de fácil execução e utilizado para estudos epidemiológicos (Wendel *et al*, **apud** Veronese & Foccacia, 2000)

1.5.3 *Western blot*

O princípio deste teste consiste na incubação de fitas individuais isoladas de nitrocelulose recoberta com antígenos individuais do HTLV em bandas isoladas. Se houver anticorpos específicos para HTLV-I/II este se ligam às proteínas aplicadas na fita. Após lavagem os anticorpos ligados especificamente às proteínas do HTLV podem ser visualizadas com adição de IgG anti-humana conjugada com enzima e substrato. É dos testes sorológicos confirmatórios, o mais utilizado. O critério de positividade requer reatividade para a p19 ou p24 e também para o antígeno do envelope viral (gp46 ou gp68). Reações inespecíficas em pessoas não infectadas podem ocorrer particularmente com reatividade para p19 e rgp21. A reatividade para rgp46 é muito específica para HTLV-I em indivíduos com soroconversão. Na maioria dos caso os testes de WB incorporam proteínas específicas do HTLV-I ou II capazes de diferenciar a infecção por estes vírus. A inespecificidade será excluída por análise molecular (Covas, **apud** Zago *et al*, 2001)

1.5.4 Radioimunoprecipitação (RIPA)

Com melhor sensibilidade, especificidade e capacidade de distinção entre HTLV-I e HTLV-II apresentado pelo WB, porém é pouco difundido e aplicado, pois há necessidade de materiais radioativos. É utilizado para confirmação sorológica da infecção pelo HTLV-I/II, e permite identificar anticorpos contra proteínas de alto peso

molecular, especialmente glicoproteínas frágeis que nem sempre são encontrados no WB (Wendel *et al*, **apud** Veronese & Foccacia, 2000)

1.5.5 Reação de imunofluorescência indireta (IFI)

A IFI possui alta sensibilidade e especificidade, porém há necessidade de cuidado extremo para distinguir a positividade. Ao contrário do WB, não identifica anticorpos contra antígenos específicos, apresentando quando positivo apenas a presença de anticorpos contra HTLV (Wendel *et al*, **apud** Veronese & Foccacia, 2000)

Os critérios de soropositividade para infecção de HTLV foram propostos pelo grupo-tarefa dos Serviços de Saúde Pública dos Estados Unidos da América (CDC, 1989):

- a) reação positiva: presença das banda p19 ou p24 (gp46,rgp46I ou rgp46II) e rgp21 aos testes confirmatórios;
- b) reação indeterminada : presença de qualquer outro padrão de bandas;
- c) reação negativa : ausência de bandas.

1.5.6 Cultura para detecção de antígenos

A cultura celular é altamente sensível para isolamento do HTLV-I e II nas células mononucleares do sangue periférico, no liquor ou nas células de órgãos linfóides infectados. O princípio baseia-se na análise do sobrenadante da cultura de células específicas estimuladas quanto à presença de antígeno p24. É restrito a laboratório de pesquisa (Hjelle, 1991)

7.3 Biologia molecular

A técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) é metodologia de biologia molecular baseada na amplificação enzimática de ácidos nucleicos, envolvendo a síntese *in vitro* de milhões de cópias de segmentos de DNA usando iniciadores (*primers*) que são pequenos fragmentos de DNA específicos para a área que se quer amplificar. O segmento amplificado é visualizado através de coloração por brometo de etídio, seguido de iluminação com luz ultravioleta. Logo é capaz de detectar pequenas quantidades de DNA ou RNA em diferentes materiais biológicos de forma específica. Inclusive, a grande sensibilidade e especificidade tornam a PCR metodologia largamente empregada no diagnóstico de agentes infecciosos (Covas, **apud** Zago *et al*, 2000; Oshina *et al*, 1997)

O isolamento do DNA é feito por métodos que se baseiam na lise dos glóbulos vermelhos e posterior isolamento do DNA do *pellet* de leucócitos ou do sangue total. Este DNA isolado é submetido à reação de PCR, que geralmente utiliza *primers* que amplificam uma região genérica do DNA dos HTLV-I e II, e fazendo-se a diferenciação utilizando hibridização com sondas específicas ou digestão com enzimas de restrição que produzem fragmentos tipo-específicos. Os métodos mais testados estão baseados no gene *tax* que é gene transativador, homólogo ao gene *tat* do HIV, ou gene *pol* que codifica para polimerase viral a transcriptase reversa (Borduchi *et al*, 1999; Estes & Sevall, 2003)

Desta forma o diagnóstico molecular do HTLV é de maior utilidade nas seguintes situações:

- a) resolução de *Western blot* indeterminada;
- b) discriminação entre HTLV-I e HTLV-II;
- c) portadores com epidemiologia sugestiva de infecção, mas com ausência de anticorpos, seja por episódio recente de contaminação ou baixa imunidade.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar a presença dos vírus HTLV-I e II, nos pacientes diagnosticados com Leucemia Linfóide Aguda na infância, matriculadas no Hospital Ofir Loiola.

3.2 Objetivos específicos

- a) estabelecer o tipo de vírus HTLV mais freqüente;
- b) pesquisar os sintomas neurológicos nesses pacientes;
- c) relacionar os sintomas com a infecção viral e;
- c) investigar a rota de transmissão (aleitamento e pais portadores)

4 CASUÍSTICA E METODOLOGIA

Foi realizada a revisão dos prontuários médicos de 54 pacientes com diagnóstico de Leucemia Linfóide Aguda –LLA, realizado por punção aspirativa de Medula Óssea (Mielograma), de ambos os sexos, com idade entre um e 18 anos, matriculados no ambulatório de Quimioterapia do Serviço de Hematologia do Hospital Ofir Loiola (HOL), no período de 1995 a 2000, atendidos de janeiro de 1999 a dezembro de 2000, residentes em Belém ou áreas próximas.

Durante consulta de rotina, os responsáveis pelas crianças receberam informações relacionadas aos vírus, inclusive com esclarecimento de dúvidas e da necessidade de ser realizado teste para a pesquisa do micróbio no sangue. Aqueles que concordaram em participar do estudo, assinaram o Termo de Consentimento Livre (ANEXO 1), que foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará. Este documento possuía três vias, as quais foram destinadas ao responsável, à médica pesquisadora, com assinatura de ambos e a terceira via entregue à Instituição, que previamente tomou conhecimento da pesquisa e aprovou, após avaliação de projeto conforme o modelo do Centro de Estudos do Hospital.

Foi aplicada entrevista, com preenchimento de questionário padrão elaborado pela médica pesquisadora (ANEXO 2), com perguntas relacionadas as alterações clínicas iniciais, que poderiam ser encontradas nas doenças hematológica (L/LTA) e neurológica (PET/HAM) sabidamente relacionadas ao HTLV, como febre, anemia, alterações esfínterianas, história de aleitamento materno e transfusão sanguínea de glóbulos.

O exame físico foi realizado a seguir para investigar lesões cutâneas, procedeu-se a palpação de gânglios linfáticos periféricos e visceromegalias (fígado e baço), avaliação da motricidade através da solicitação de marcha para criança a fim de observar alterações de fraqueza muscular e pesquisa de reflexos tendinosos bilaterais e sinal de Babinsky. Os outros reflexos e o estudo da sensibilidade não foram realizados devido a idade das crianças que não possuíam entendimento para a avaliação dos mesmos.

O exame de sangue para a pesquisa do vírus foi obtido por venopunção periférica, no ato da coleta para hemograma de controle da doença, não havendo necessidade de agendamento para o procedimento.

Os pacientes incluídos no estudo foram aqueles que obtiveram remissão após indução, considerando o dia 29 de tratamento para LLA, segundo o protocolo Cooperativo do Grupo Brasileiro de Tratamento de Leucemias na Infância, para as Leucemias Linfóides Agudas de 1993 (GBTLI LLA- 93), não estavam em aplasia após quimioterapia, logo, possuíam leucometria suficiente para pesquisa, e foi avaliada a sobrevida livre de eventos a partir da remissão, com a finalidade de comparar alterações clínicas relacionadas com a doença, daquelas que aconteceram como complicação do tratamento ou da recaída da doença.

O sangue coletado foi submetido a técnica de Reação de Cadeia de Polimerase-PCR para a pesquisa de HTLV, realizada no Laboratório de Biologia Molecular da Fundação HEMOPA (Centro de Hematologia e Hemoterapia do Pará).

Foi realizada distribuição de frequências com construção de gráficos, sendo utilizado o programa Microsoft EXCEL versão 2000, não sendo aplicado nenhum teste de significância, utilizando-se análise descritiva.

5 RESULTADOS

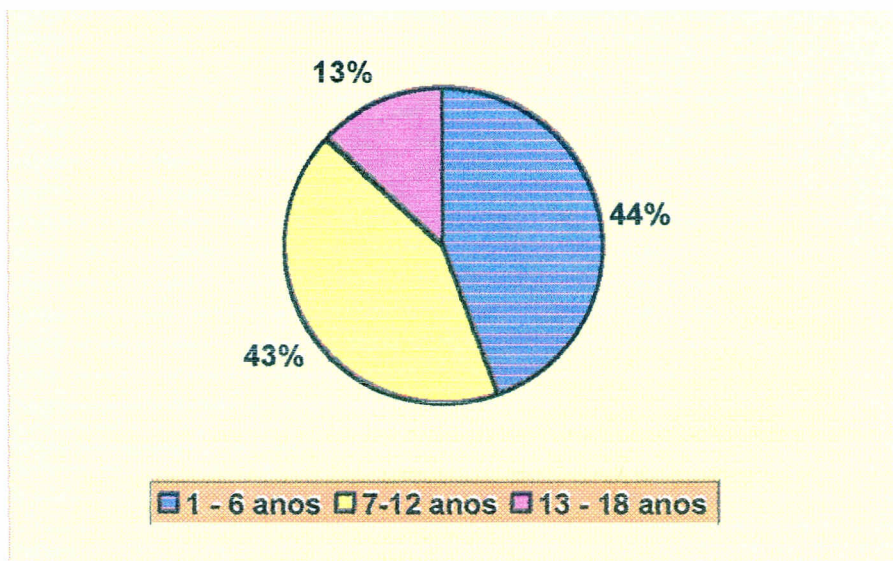


FIGURA 5 –Distribuição por idade das crianç as com LLA.

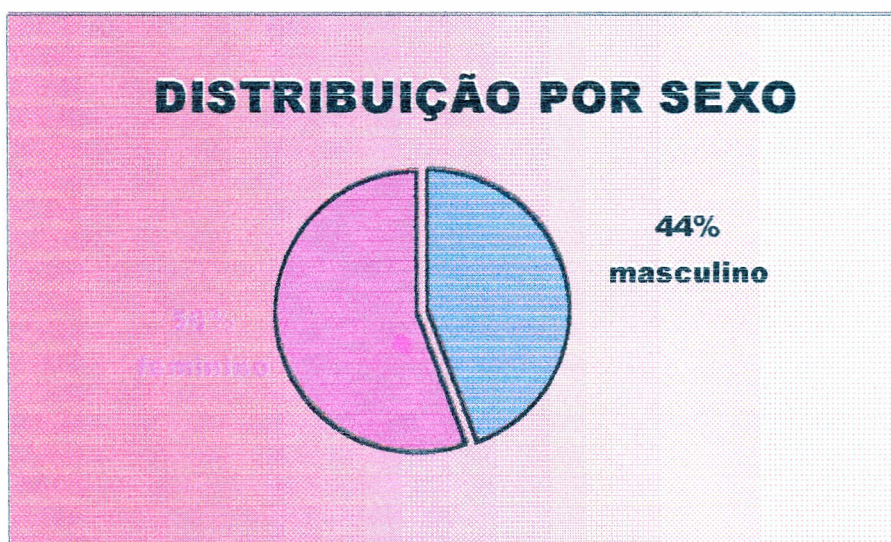


FIGURA 6 – Distribuição por sexo nas crianç as com LLA

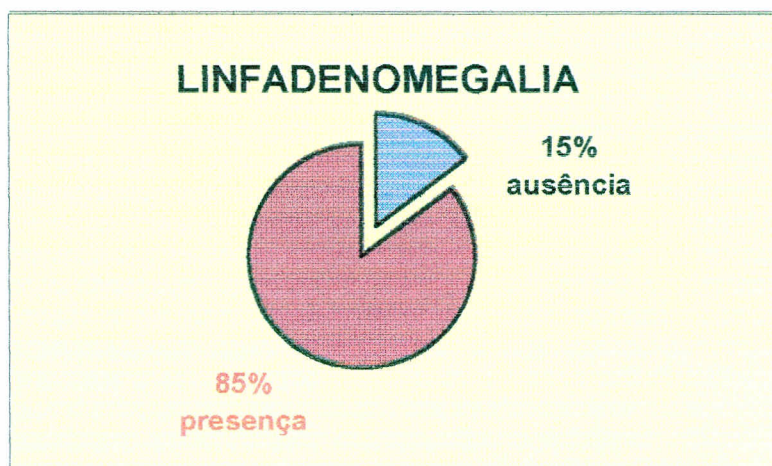


FIGURA 7 – Presença de linfadenomegalia

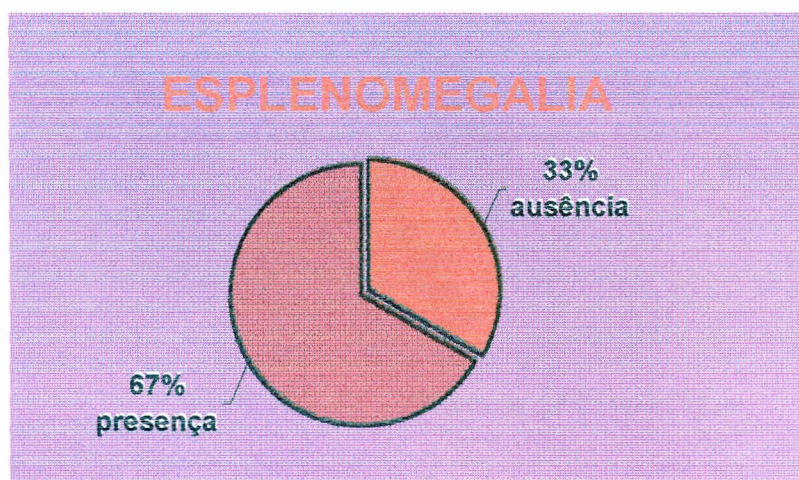


FIGURA 8 – Presença de esplenomegalia

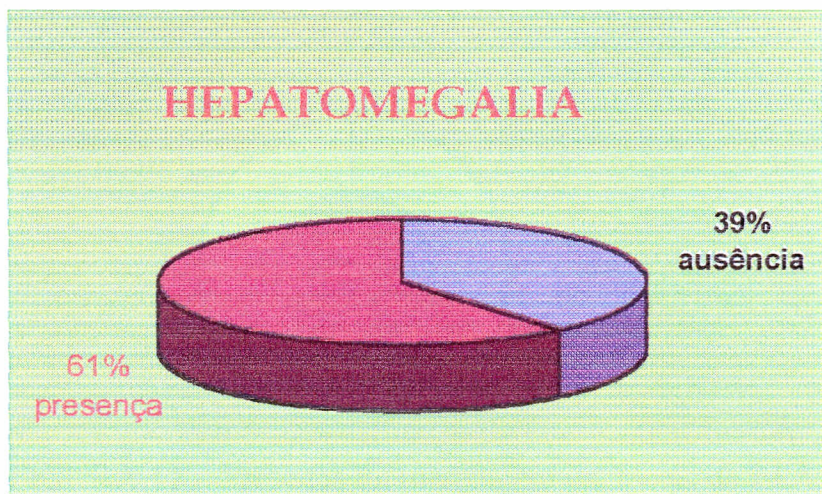


FIGURA 9 – Presença de hepatomegalia

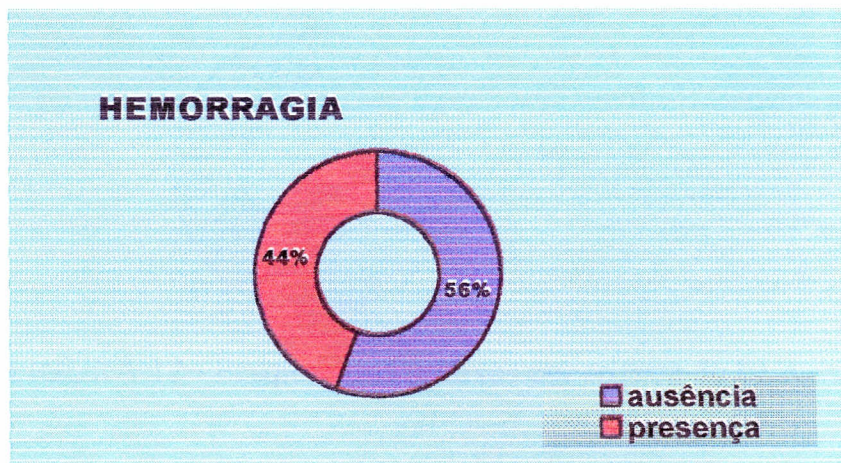


FIGURA 10 – Presença de hemorragia

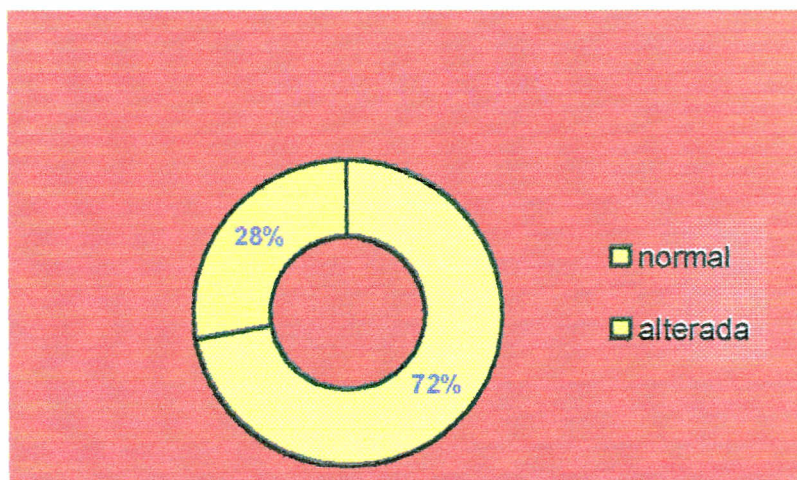


FIGURA 11 – Presença da marcha em pacientes de LLA

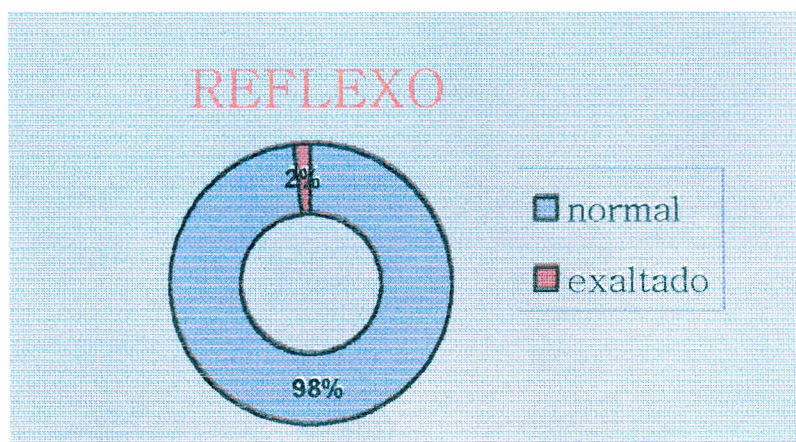


FIGURA 12 - Pesquisa dos reflexos em criança de LLA

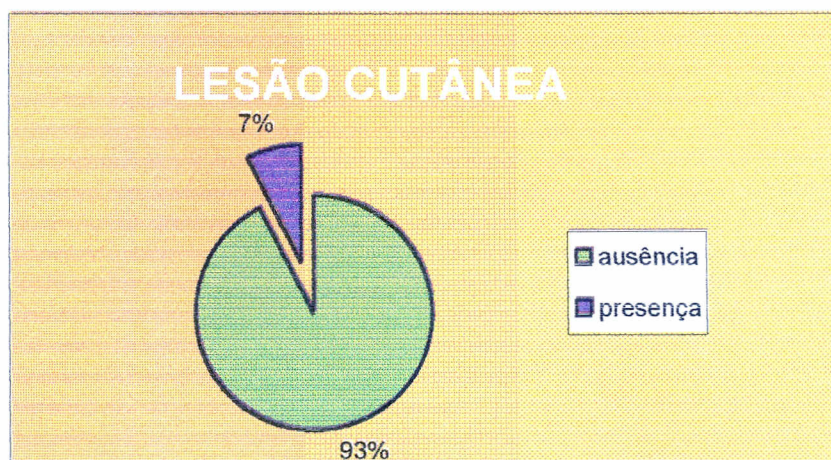


FIGURA 13 – Exame da pele para análise de lesão cutânea em LLA

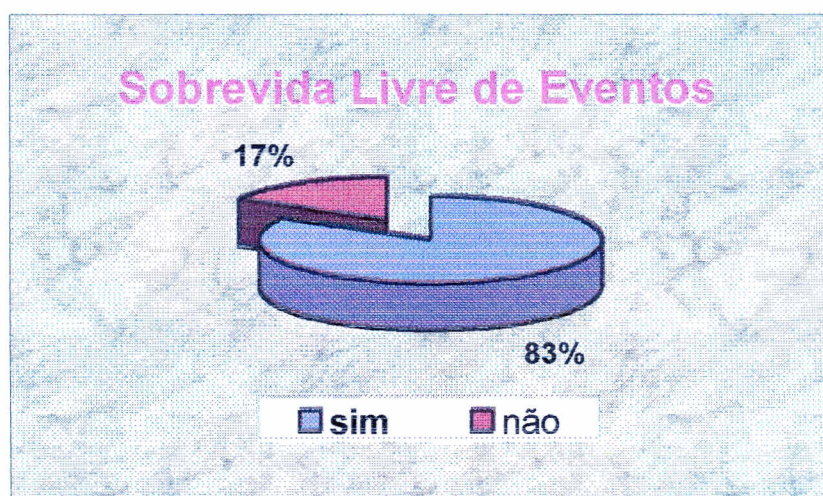


FIGURA 14 – Sobrevida livre de doença em LLA

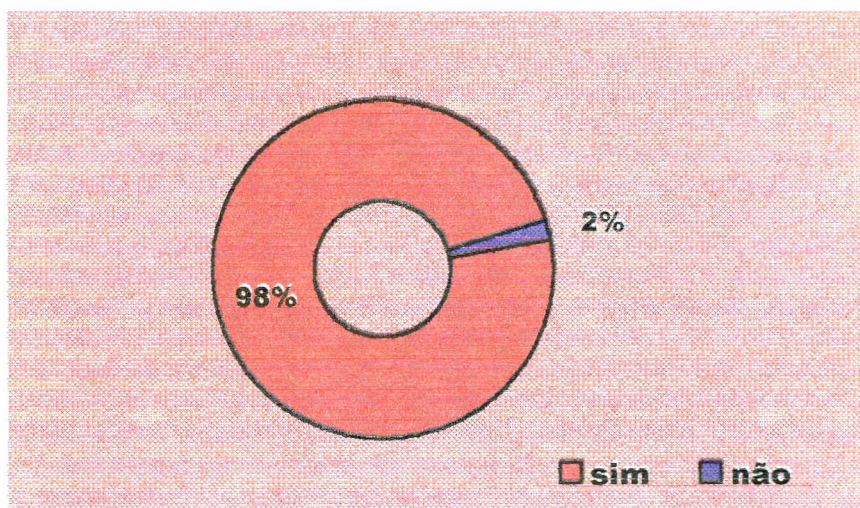


FIGURA 15 – Transfusão sanguínea nas crianças com LLA

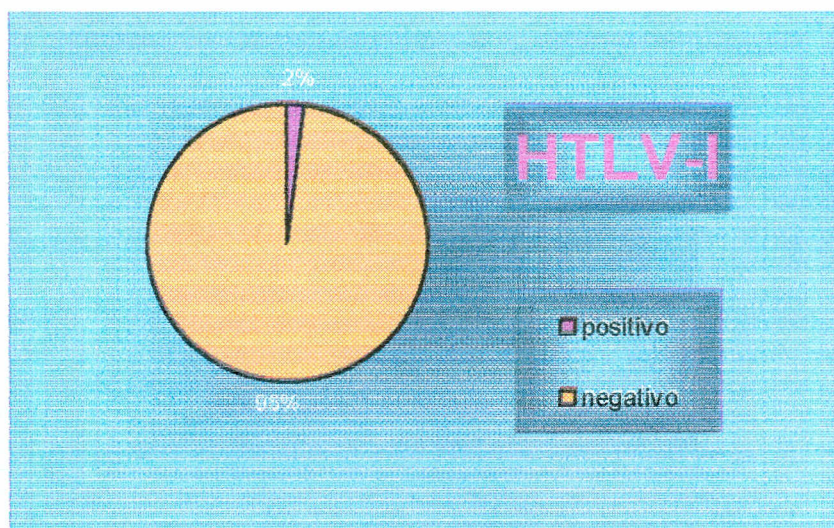


FIGURA 16 - Presença de HTLV-I em crianças de LLA

6 DISCUSSÃO

O HTLV-I foi isolado por Poiesz em cultura de células T obtidas de paciente americano de origem caribenha com diagnóstico de micose fungóide. Esta descoberta permitiu o incremento de pesquisas de culturas celulares, com a descoberta de fatores de crescimento de células T, e evidenciou a ligação entre um retrovírus e linfoma de células T periféricas. Posteriormente foram realizados vários estudos soroepidemiológicos e hoje se reconhece que a infecção pelo HTLV-I  endêmica nas ilhas sudoeste do Japão, Bacia do Caribe, sul dos Estados Unidos, Inglaterra, Chile e Brasil (Pombo de Oliveira *et al*, 1992)

As pessoas contaminadas pelo HTLV-I apresentam possibilidade que varia de 2 a 5 % de desenvolver L/LTA, outras podem desenvolver PET/HAM e algumas apresentam síndrome *viral like* a qual demonstra células linfóides anormais policlonais com integração viral. O risco de desenvolver L/LTA ou PET/HAM em portadores de HTLV-I  de 1:1.600 indivíduos por ano, com período de latência viral de 20 a 40 anos. A transmissão do HTLV-I já está estabelecida e caracterizada: de mãe para filho através da amamentação ou via transplacentária; por contato sexual de homem para mulher, principalmente, e através de transfusão de sangue (Paoletti, 1991)

As doenças associadas ao HTLV-I ocorrem principalmente em adultos entre 40-50 anos, provavelmente devido a infecção precoce nos primeiros anos de vida, e um longo período de incubação. Entretanto, Pombo de Oliveira et al. (2002), descrevem a presença de sintomas e manifestações clínicas semelhantes a L/LTA em oito pacientes jovens, nascidos no Brasil, indicando a presença de L/LTA em crianças, que embora raro, pode acontecer em áreas endêmicas de alta prevalência de HTLV. Neste estudo, os autores referem treze trabalhos da literatura que abordam L/LTA em crianças entre sete e dezessete anos, de ambos os sexos, no período de 1982 a 1988.

As publicações sobre a presença de HTLV em crianças são recentes e a relação com Leucemia Linfóide Aguda raramente citada na revisão bibliográfica pertinente, logo houve interesse de investigar a presença do HTLV neste grupo de pacientes e analisar a relação do vírus como agente etiológico em região endêmica como a Amazônia brasileira e também a via de transmissão, provavelmente a horizontal, através do aleitamento materno.

Foram analisadas 54 crianças com diagnóstico de LLA, independente do subgrupo FAB, que considera os blastos linfóides e a citoquímica como parâmetros para o diagnóstico morfológico das LLA (Lukens, 1998), sendo encontrados apenas LLA L1 e L2, e nenhuma do subtipo L3.

A idade variou de um a dezessete anos para as crianças de LLA, como descrito na literatura, com prevalência entre um a doze anos conforme mostrado no FIGURA 5. Os estudos selecionados de crianças com L/LTA por Pombo de Oliveira et al. (2002) também mostra o acometimento na faixa etária de sete a dezessete anos. Pode-se concluir que o acometimento em relação a idade é concordante nos vários trabalhos publicados, sejam sobre LLA, como L/LTA em crianças.

O sexo também foi motivo de estudo e comparando os dados, observou-se que havia predomínio do sexo feminino sobre o masculino, o que discorda dos estudos sobre sexo nas LLA, pois o número de meninos é maior que de meninas na literatura em geral. A L/LTA é mais incidente no sexo masculino, com relação homem:mulher de aproximadamente 1,2:1, embora a infecção assintomática pelo HTLV-I seja mais comum no sexo feminino. No Brasil, a relação entre sexos é de 1:1 segundo Borducchi *et al.* (1999)

Não há explicação para esta inversão, pois em recente trabalho sobre epidemiologia de LLA no HPL, observou-se o predomínio do sexo masculino sobre o feminino (Reis & Souza, 2002). A hipótese é da amostragem naquele momento ser de maior de meninas no ambulatório de hematologia, no entanto uma minoria de crianças com LLA também estavam em acompanhamento no ambulatório de oncopediatria, o que pode justificar a divergência quanto ao sexo no presente estudo.

Os sintomas presentes na LLA na infância são caracteristicamente de febre, anemia e hemorragia, acompanhada de dor óssea, enfartamento ganglionar, hepatomegalia e/ou esplenomegalia e raramente a cometimento do SNC (Ribeiro, *apud* Zago *et al.*, 2001). Observou-se a presença de febre em todas as crianças e a hemorragia como sintoma inicial estava presente em 24 das 54 crianças inseridas no estudo, num total de 44%, e variavam de lesões purpúricas, como petéquias e equimoses a presença de hemorragia mucosa, notadamente gengivorragia e epistaxe.

Nos estudos de L/LTA os quadros hemorrágicos não apresentam importância para o diagnóstico das formas clínicas (Johnson & Franchini, 2001), sendo considerada a presença de organomegalias, lesão cutânea, hipercalcemia e o aumento da DHL, e principalmente o achado de linfócitos T e *flower cell* os parâmetros para o

diagnóstico, o que também foi observado nos estudos em crianç as relatados por Pombo de Oliveira *et al.*(2002)

A linfonomegalia, a esplenomegalia e a hepatomegalia estavam presentes respectivamente nas porcentagens de 85%, 66% e 61% no grupo de crianç as estudadas. Estes sinais pertencem ao quadro clínico das Leucemias Linfóides Agudas, não se deve portanto, considerar apenas característica da Leucemia /Linfoma de Células T do Adulto ou de apresentação na infância.

Em relação a hipercalcemia, dosagem da DHL e presenç a de *flower cell* não foram parâmetros considerados para análise. A DHL normalmente esta elevada na LLA e a presenç a de linfócitos at picos ou *flower cell* não foram observados quer no sangue periférico quer na medula óssea, somente a presenç a de linfoblastos ou células monocit ides compatíveis com alteração por quimioterapia citostática.

Os sintomas neurológicos foram pesquisados nesses pacientes pois o HTLV está relacionado com doenç a neurológica progressiva crônica denominada PET/HAM, cujos critérios diagnósticos foram estabelecidos pela OMS em 1988 (Menna-Barreto *et al. apud* Veronesi & Foccacia, 2000).   necessário que seja estabelecida a presenç a de alterações neurológicas pertinentes, pois trata-se de estudo em crianç as que podem apresentar comprometimento da marcha por envolvimento de linfoblastos no SNC (Lopes & Mendes *apud* Camargo & Lopes, 2000), ou limitação de movimentos devido a dor ósteo-articular pela infiltração leucêmica.

Foi possível neste grupo pesquisar a marcha, observando se houve mudanç a durante o ato de caminhar quando solicitado ao paciente, e pôde-se analisar a forçá muscular, não havendo mudanç a relacionada a fraqueza muscular nos membros inferiores como descrito para PET/HAM. Apenas foi observada alteração em quinze

crianças (37%) durante o procedimento da marcha devido a dor óssea e/ou articular. Em seguida procedeu-se ao exame dos músculos, não observando-se mudança na tonicidade. Durante o exame foi visto certo grau de edema articular nestes pacientes com alteração de marcha apenas, em joelho, calcanhar ou cotovelo por infiltração leucêmica, tanto que após a instituição da terapêutica houve desaparecimento do aumento de volume articular e a marcha voltou a ser normal, não sendo observado a paraparesia espástica progressiva típica da PET/HAM.

O sinal de Babinsky foi pesquisado bilateralmente se presente ou ausente, e apenas uma criança apresentou positividade para a pesquisa, sendo que a mesma encontrava-se com estado geral comprometido, e evolui com recaída e infiltração de SNC e de nervo craniano (cloroma), com pesquisa negativa para HTLV e presença de células leucêmicas no líquido e exames de imagem (tomografia computadorizada de crânio e ressonância magnética do crânio) compatíveis com acometimento por leucemia, e excluída a possibilidade de envolvimento do HTLV.

Os reflexos indicados para o diagnóstico de PET/HAM como os tendinosos profundos e mandibular, assim como a pesquisa da sensibilidade vibratória e distúrbios sensitivos não foram examinados devido a idade das crianças tornando impossível a execução. As alterações esfinterianas como distúrbio vesical e constipação intestinal foram investigados durante a consulta com os responsáveis e não houve quaisquer mudança de relevância nestas crianças.

As lesões cutâneas observadas nos pacientes com L/LTA se caracterizam por nódulos, pápulas e eritema semelhante a linfoma pleomórfico (Pombo de Oliveira *et al.*, 1992; Borduchi *et al.*, 1999). Os pacientes de faixa etária pediátrica em estudos de revisão de literatura demonstraram acometimento de pele em sua totalidade (Pombo

de Oliveira *et al.*, 2002). As crianças com alterações dermatológicas foram quatro (8%) e apresentaram lesões diagnosticadas como escabiose generalizada com infecção bacteriana sobreposta, a piodermite, relacionada ao próprio estado de imunodepressão seja pela doença leucêmica, seja pelo uso da terapêutica imunossupressora.

A sobrevida livre de eventos (SLE) é definida como o tempo decorrido desde o início do tratamento até a ocorrência da falha indutória, de recaída, de morte ou qualquer causa ou perda de seguimento (GBTLI LLA, 1993). A variação da SLE foi de um a 72 meses, sendo que aqueles com intercorrência de recaída em MO e/ou SNC, ou óbito representam 16%, e uma dessas crianças apresentava positividade para o HTLV-I.

A rota de transmissão foi investigada nas crianças e já é conhecido que a via horizontal com destaque para o aleitamento materno e considerada a mais eficiente para a transmissão do HTLV-I em pacientes com L/LTA, observando o tempo de incubação e a progressão lenta para o desenvolvimento da doença. Para o HTLV-II a transmissão por via endovenosa seja entre usuários de drogas endovenosas ou por transfusão sanguínea é a mais aceita. No entanto as vias de transmissão pela amamentação natural, uterina ou perinatal devem ser consideradas e necessitam de estudos para a compreensão dos mecanismos epidemiológicos. A via vertical evidenciada para o HTLV, considerando o aumento gradual de prevalência de anticorpos com a idade (Ishak *et al.*, 2003)

A presença neste estudo de apenas uma paciente com LLA na infância apresentar HTLV-I positivo foi surpreendente, por tratar-se de região endêmica para o vírus. Há de se considerar alguns aspectos para reflexão do caso em questão. A via de transmissão esperada nesta faixa etária é a horizontal, primeiramente por aleitamento natural e a via transplacentária.

Foi coletado exame dos pais para a pesquisa do HTLV-I e HTLV-II. O método utilizado também foi o PCR para a pesquisa do DNA pró-viral integrado em células CD4+, o qual foi negativo para a mãe e também no pai, logo conclui-se que a transmissão horizontal de mãe para filho foi excluída, assim como a sexual pois ambos são negativos, então não houve a possibilidade de contaminação destes para a criança.

A via de transmissão possível a ser considerada é a transfusão sanguínea. Os estudos retrospectivos demonstram a soroprevalência do HTLV em doadores de sangue em Belém, que em 1989, pelo trabalho de Saraiva et al. em 809 amostras de doadores, 1,61% foram positivos. No Brasil a soroprevalência varia de 0,47 a 1,8% dependendo do Estado brasileiro e da amostra estudada (Oliveira, 2001)

O Ministério da Saúde tornou obrigatório os testes sorológicos para HTLV-I/II nos Hemocentros e Serviços de Hemoterapia em 1993 e foram identificados a partir de então, doadores soropositivos e pôde-se impedir a transmissão transfusional desses agentes virais em procedimentos hemoterápicos que empregam hemocomponentes celulares. Entretanto, pela sorologia ainda não há como diferenciar o HTLV-I do HTLV-II, possível por técnica como o PCR. Os pacientes que receberam transfusão, também expostos a contaminação com os vírus que estão em replicação com quantidade muito pequena que não é identificada pelos métodos sorológicos são responsáveis por transmissão silenciosa (janela imunológica).

A criança com HTLV-I positivo em PCR apresentava LLA diagnosticada primeiramente em 1996, e iniciou terapêutica com protocolo do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas de São Paulo – USP, sob coordenação do prof. Dr. Vicente Odone, versão 1989, com remissão completa contínua e SLE por cerca de 36 meses, quando houve recaída da doença em 1999, reiniciou terapêutica para LLA-L2 com

protocolo do GBTLI LLA -93, considerada como alto risco, e em recaída isolada de medula óssea.

Os sintomas apresentados pela mesma eram febre, anemia, pequenos gânglios linfáticos palpáveis em região cervical, sub-mandibular e inguinal bilaterais. O baço encontrava-se discretamente aumentado e o fígado era impalpável. Não foram observadas lesões cutâneas e alterações neurológicas, a disbasia era devida a dor ósteo-articular apresentada pela infiltração da doença, que após introdução da quimioterapia citostática houve retorno a normalidade. No exame citológico da medula óssea e do sangue periférico não foram encontradas *flowers cells*.

A mãe relatou que a criança foi amamentada com leite materno nos primeiros meses de vida e que apresentou um parceiro durante a vida sexual.

Na observação da prevalência do HTLV em nossa região, o Mojú, local de nascimento e única residência da paciente não existem estudos sobre a soroprevalência. O biótipo a criança é de indígena, considerando a cor da pele e aspecto da face e dos pêlos, principalmente os cabelos. Os trabalhos em populações ameríndias de Ishak et al., em 1989, 2000 e 2003, mostram alta prevalência destes vírus nestas populações, no entanto como dado epidemiológico nada se pode relacionar, assim como a via de transmissão horizontal anteriormente discutida.

Quanto a transfusão sanguínea apenas um paciente não havia recebido transfusão por encontrar-se em estado geral satisfatório antes e durante o tratamento, as demais crianças receberam transfusão de concentrado de hemácias antes ou durante a terapêutica, o que é previsto no tratamento da LLA, para assegurar a continuidade da quimioterapia com necessidade de valores mínimos de hemácias, plaquetas e

leucócitos. A transfusão de plaquetas foi indicada em doze crianças a'te o momento da entrevista.

Outro fato a destacar é o desenvolvimento da L/LTA nesta faixa de idade relacionada a presença do vírus, que o período de incubação varia em torno de 30 anos, tornando impossível a presença desta entidade, e para corroborar não foram encontrados elementos clínicos e laboratoriais compatíveis com as doenças associadas ao HTLV com lesão cutânea típica, alterações neurológicas características e presença de *flower cell*.

Neste estudo as crianças diagnosticadas como LLA foram ainda classificadas segundo os parâmetros do grupo FAB (Lorenzi *et al*, **apud** Verrastro, 1989), que considera a morfologia dos blastos para o diagnóstico associada a citoquímica, esta foi realizada em grande parte dos pacientes, porém apenas a mieloperoxidase, sendo que o PAS, esterases e sudan *black* não se encontram disponíveis nos laboratórios de diagnóstico que prestam serviço ao HOL, ou seja HEMOPA e Beneficente Portuguesa.

A classificação de LLA em B ou T é de importância atualmente para a estratégia terapêutica, eos anticorpos monoclonais permitem diferenciar as células das diferentes linhagens e também nos vários estágios de maturação. No entanto, como trata-se de métodos de alto custo, não houve ainda prioridade das serviços de diagnóstico e de tratamento no Estado, em adquirir tecnologia ou terceirizar a imunofenotipagem para garantir a qualidade do diagnóstico. Desse modo a análise de células T nas crianças com LLA não foi possível, sendo realizada a técnica de PCR em todos os pacientes da amostra, sem considerar se os linfócitos predominantes eram B ou

T ou qualquer linhagem associada, o que de modo algum trouxe prejuízo à pesquisa, pois só não tornou possível o conhecimento entre o número de LLA-B e LLA-T.

Williams & Ragar (1985) estudaram 92 crianças analisando a possibilidade do HTLV-I estar associado com Leucemia Linfóide Aguda na infância. A pesquisa foi realizada através do Western blot e doze pacientes apresentavam LLA-T. A conclusão foi a ausência de anticorpo HTLV-I em crianças com leucemia no sudeste dos Estados Unidos, considerada área endêmica para o vírus HTLV.

A técnica de PCR pela amplificação do ácidos nucleicos permite a diferenciação entre o vírus HTLV-I e o HTLV-II. O método empregado na pesquisa permitiu portanto o diagnóstico de infecção em uma criança com LLA, sendo encontrado o HTLV-I, com provável transmissão por via transfusional e ausência de associação da doença linfoproliferativa com o agente etiológico.

7 CONCLUSÃO

A pesquisa dos vírus HTLV-I/II em pacientes com Leucemia Linfóide Aguda em um serviço de referência de referência, o HOL, mostrou a baixa prevalência do vírus em crianças, o que está de acordo com a literatura consultada disponível.

A via de transmissão esperada, a vertical, não demonstrou eficiência de contaminação de crianças pelo HTLV. O aleitamento materno é comum na região, principalmente na população de baixo poder econômico. A maioria das crianças foi amamentada pela própria mãe; embora seja freqüente a prática de aleitamento natural por outra mulher que não aquela que gerou a criança, por motivos que variam desde tabus como pouca quantidade de leite ou "leite fraco", até a impossibilidade por processo infeccioso associado ao período neonatal, estes não foram observados neste grupo.

Das 54 crianças, apenas uma apresentou HTLV-I positivo. Foi coletado sangue de seus pais com resultado negativo para HTLV em ambos, e interrogado se houve aleitamento natural em outra mulher, foi negado pela mãe e excluída a possibilidade de transmissão vertical de mãe para filha.

Não foram encontrados sintomas neurológicas em nenhuma das 54 crianças que pudesse ser relacionados com o HTLV e ficou descartado o diagnóstico de PET/HAM neste grupo.

Como a rota de transmissão pelo aleitamento materno e os pais não se encontrarem contaminados pelo HTLV, a transmissão aconteceu provavelmente por via transfusional. A paciente realizou a primeira transfusão em abril de 1996 com tempo decorrido de seis anos, suficiente para haver contaminação.

Com a investigação do HTLV-I/II nas 54 crianças com LLA no HOL, pode-se concluir:

- a) 1,85% destes pacientes encontrava-se contaminado pelo vírus HTLV-I;
- b) o aleitamento materno não foi o responsável pela infecção do HTLV;
- c) os sintomas desenvolvidos pela criança infectada estavam relacionado somente com a LLA;
- d) é necessária maior vigilância dos hemocentros para detectar doadores contaminados, talvez incluindo a técnica de PCR;
- e) acompanhar à paciente pois já existe alteração no linfócito(LLA) e infecção pelo HTLV, com possibilidade de desenvolver doenças associadas ao HTLV, como L/LTA e PET/HAM.

Há necessidade de estudos em imunologia, genética, doenças linfoproliferativas, populações de áreas endêmicas, vias de transmissão e hemovigilância para que seja conhecida a infecção pelo HTLV em diferentes faixas etárias e a relação com doenças degenerativas pelo longo período de incubação do HTLV.

ANEXOS

ANEXO 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

INVESTIGAÇÃO DA PRESENÇA DO VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANAS EM LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA NA INFÂNCIA.

Nome: _____

Com a presente declaro que fui esclarecido pela médica ANA VIRGÍNIA VAN DEN BERG, CRM 3707-Pa, em consulta no ambulatório de Quimioterapia do Hospital Ofir Loiola, nesta data , sobre o estudo a ser realizado para pesquisa da presença do vírus HTLV-I/II na população pediátrica desta instituição.

O trabalho tem o objetivo de conhecer o micróbio que se encontra no sangue das pessoas (e é chamado de vírus HTLV I/II) nas crianças , pois já se tem conhecimento de que este micróbio (o vírus HTLV I) é responsável pela doença que ataca as células brancas do sangue dos adultos conhecida como Leucemia /Linfoma de células T do adulto, e pela doença que se chama Paraparesia Espástica Tropical, que compromete os nervos, com fraqueza das pernas com dificuldade de caminhar, podendo causar paralisia.

Outro motivo deste estudo é por que estes micróbios são muito encontrados na região amazônica, e não existem pesquisas na população infantil.

Os critérios para a participação, constam de informações sobre as pessoas da família, como a história de doenças que já tiveram durante a vida tanto dos pais quanto da criança, e como está a saúde atual e necessidade de coletar sangue, como para os exames de rotina, ou seja do mesmo modo que faz o hemograma.

Fui informado sobre o segredo da pesquisa e que os dados resultantes serão de conhecimento público, mas o nome da criança não será revelado em hipótese nenhuma, só o resultado de presença ou não do micróbio nas crianças que já tem doneça no sangue e se tratam no Hospital Ofir Loiola. E que a qualquer momento posso não querer mais fazer parte deste estudo.

A pesquisa deverá estudar 100 pacientes, na faixa etária de zero a 18 anos, de ambos os sexos, não havendo distinção de cor ou grupo social, sendo a condição de inclusão a matrícula no ambulatório de Quimioterapia do Hospital Ofir Loiola (HOL), com o diagnóstico de doença linfoproliferativa: Leucemia Linfóide Aguda (LLA), Linfoma Não Hodgkin (LNH) e Linfoma de Hodgkin (LH), sendo que outras doenças dos, não farão parte deste estudo.

Os pacientes do estudo não serão expostos a qualquer risco, sendo necessário apenas a anamnese, exame físico, evolução clínica, dados laboratoriais já obtidos no diagnóstico e sangue obtido da veia, durante exames de rotina, conforme indicação médica para controle clínico.

O estudo destina-se ao conhecimento da frequência do vírus HTLV-I/II em pacientes pediátricos com doença linfoproliferativa, matriculados no HOL, por tratar-se de instituição de referência para tais enfermidades, recebendo pacientes de todo o Estado do Pará e de outras regiões, para o tratamento de quimioterapia e/ou de radioterapia.

Os pacientes recrutados devem possuir diagnóstico confirmado de doença linfoproliferativa, objeto do estudo, e estarem matriculados devidamente no HOL, sem o que não estarão inclusos na pesquisa.

Enfatiza-se a ausência de riscos á população estudada, bem como a insenção de qualquer obrigação de participação aqueles que não o desejarem, uma vez, que o consentimento deverá ser e acordo com os pais ou responsável naquele momento, por tratar-se de indivíduos menores de idade.

Estou ciente de que receberei cópia de Termo de Consentimento assinado por mim e pela médica, e que ficará também guardado no prontuário.

Belém, _____ de _____ de 2001.

Responsável : _____

CPF/CI : _____

Médica : _____

CRM 3707 - Pa.

ANEXO 2

FICHA PACIENTE

INVESTIGAÇÃO DA PRESENÇA DO VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANAS EM LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA NA INFÂNCIA.

Nome do paciente : _____
Matrícula: _____
Data nascimento: _____ Idade: _____
Procedência: _____
Nome do pai: _____
Nome da mãe: _____

Data diagnóstico: _____
Fase do tratamento: _____
Remissão Clínica Completa (RCC) SIM NÃO
Sobrevida livre de eventos (SLE) SIM NÃO
Tempo decorrido (meses) _____
OBS:

Aleitamento materno SIM NÃO

Transfusão sanguínea SIM NÃO
Concentrado de hemácias Concentrado de plaquetas Plasma
Outros _____

Data : _____

Sinais e Sintomas: SIM NÃO OBS:

| | | | |
|-----------------|--------------------------|--------------------------|-------|
| Febre | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | ----- |
| Adenomegalia | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | ----- |
| Fígado | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | ----- |
| Baço | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | ----- |
| Anemia | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | ----- |
| Marcha | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | ----- |
| Esfínteres: | | | |
| Micção | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | ----- |
| Evacuação | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | ----- |
| Lesões cutâneas | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | ----- |

Data: _____

Médica : _____ CRM _____

REF RENCIAS BIBLIOGR FICAS

- ALQUEZAR, A. S. & SABINO, E. C. HTLV-I/II em bancos de sangue. . In: VERONESI, R. & FOCACCIA, R. **Retroviroses humanas doenç as associadas ao HTLV**. 1 ed. São Paulo. Atheneu. 2000. p. 47-53.
- ANDRADE-SERPA, M. J. et al. Incidence of retroviruses in some brasilian groups **Immunology letters**, **18**: 15-8, 1988.
- BANGHAM, C. R. M. HTLV-I infections. **Journal of Clinical Pathology**, **53**: 581-586,2000.
- BARBOSA, H. S. Linfomas e leucemias associados à infecção pelo HTLV-I no estado da Bahia. Tese de doutorado. Salvador, Universidade Federal da Bahia 1997. 90p.
- BIGLIONE, M. M. *et al.* A cluster of human T-cell lymphotropic virus type I-associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis in Jujuy, Argentina. **J Acquir Immune Defic Syndr**, **32**: 441-445, 2003.
- BORDUCCHI, D. M. M., KERBAU, J. & OLIVEIRA, J. S. R. Linfoma. Leucemia de células T do adulto. **Revista da Associação Médica Brasileira**, **1**: 63-70, 1999.
- BRÍGIDO, H.A.Z. Prevalência de anticorpos para HTLV em indivíduos atendidos em um centro de diagnóstico para anti-HIV. Dissertação de mestrado. Belém, Universidade Federal do Pará. 2000. 104 p.
- BRUNNIG, R. D. et al. Precursor B lymphoblastic leukaemia/ lymphoblastic lymphoma. In: **WHO Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues**. JAFFE, E. S. et al.(eds). Lyon, IARC press, 2001. p. 111-114.
- BRUNNIG, R. D. et al. Precursor T lymphoblastic leukaemia/ lymphoblastic lymphoma. In: **WHO Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues**. JAFFE, E. S. et al.(eds). Lyon, IARC press, 2001. p. 115- 117.

- CABRERA, M.E. *et al.* Leucemia linfoma T del adulto en Chile. Estudio clínico patol gico y molecular de 26 pacientes. **Rev. M d.Chile**, **127**: 935-944, 1999.
- CANN, A.J. & CHEN, I.S.Y. Human T-cell leukemia v rus types I and II In: FIELDS, B.N. & KNIPE, D.M. *Fields virology*. 3 ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996. p. 1849-1880.
- CASSEB, J. & OLIVEIRA, A. C. P. The pathogenesis of tropical spastic paraparesis/human T-cell leukemia type I-associated myelopathy. **Brasilian Journal of Medical and Biological Research**, **33**: 1395-1401, 2000.
- CHORBA, T.L. *et al.* HTLV-I antibody status in hemophilia patients treated with factor concentrates prepared from U.S. plasma sources and in hemophilia patients with AIDS. **Thromb haemos**, **53**: 180 - 2, 1995.
- CONTRERAS, M. E. C. & LABRA, S. G. Leucemia linfoma T del adulto en Chile: estudio clínico patol gico y molecular de 26 pacientes. **Rev. Med. Chile.**, v. **8**, p. 935-44, 1999.
- COVAS, D. T. Retrovírus. In: ZAGO, M. A. *et al.* **Hematologia Fundamentos e Pr tica**. 1 ed. Atheneu. 2000. c. 60, p. 691-704.
- ERLICH, G. D. *et al.* Prevalence of human T-cell Leukemia/Lymphoma V rus typeII infection among high-risk individuals: type-specific identification of HTLVs by Polymerase Chain Reaction. **Blood**, **74**: 1658-1664, 1989.
- ESTES, M. C. & SEVALL, J. S. Multiplex PCR using real time DNA amplification for the rapid detection and quantitation of HTLV-I or II. **Molecular and Cellular Probes**,**17**: 59-68, 2003.
- FALCÃO, R. P. & REGO, E. M. Leucemia linfóide aguda. Características morfol gicas e imunofenot picas. **Série de Monografias da Escola Brasileira de Hematologia**, **9**, p.25-35, 2002.
- FAUCI, A. S., LONGO, D. L. Os retrovírus humanos. In: FAUCI, A. S. *et al.* **Medicina Interna**. 14 ed. Rio de Janeiro. McGraw, 1998.p.1184-90.
- FUJIYOSHI, T. *et al.* Ethnic segregation of HTLV-I and HTLV-II carriers among South American natives Indians. **Int. j. Cancer**, **63**: 510-515, 1995.
- GABBAI, A., BORDIN, J.O., VIEIRA, J.P.B., KURODA, A., OLIVEIRA, A.S.B., CRUZ, M.V., RIBEIRO, A.F., DELANEY, S.R., HENRADD. R., ROSÁRIO, J., ROMAN, G.C. Selectivity of HTLV-1and HTLV-2 Infection among different populations in Brazil. **American Journal of Medicine and Hygiene**, **49**, p. 664 - 671, 1993.

- GAMPEL, O. Doença de Hodgkin. In: **Manual de condutas diagnósticas e terapêuticas em oncologia da Fundação Antonio Prudente Hospital A. C. Camargo**. São Paulo: Âmbito Editores, 1996 p.177- 187.
- GALLO, R. C. Human retroviruses: a decade of discovery and link with human disease. **The Journal of Infectious Diseases**, **164**, p. 235-43, 1991.
- GALLO, R. C. & WONG-STAAAL, F. Retroviruses as etiologic agents of some animal and human leukemias and lymphomas and as tools for elucidating the molecular mechanism of leukemogenesis. **The Journal of American Society of Hematology**, **3**: p. 545-57, 1992.
- GRANADA, L. L. *et al.* Childhood dermatite in the tropics: with special emphasis on infective dermatites, a marker for infection with human T-cell leukemia virus-I. **Pediatric Dermatology**, **58**: 115-118.1996.
- GERMAIN, M. *et al.* Smoldering HTLV-I induced T cell lymphoma localized within the skin; a radiation-resistant tumor. **Int. Dermatol**, **11**: p.815-21, 2000.
- GILLI, S. C. O. & SAAD, S. T. O. Mecanismo de ativação do linfócito T e indução da leucemia linfoma T do adulto pelo HTLV I. **Revista Brasileira de Clínica e Terapêutica**, **5**: p.185- 189, set 1997.
- GONÇALVES, D. V. *et al.* HTLV-I associated infective dermatites may be an indolent HTLV-I associated lymphoma. **The Brazilian Journal of Infection**, **2**: 100-102. 2000.
- GONZÁLEZ-PEREZ, M. P. *et al.* Human T-cell leukemia virus type I infection in various recipients of transplants from the donor. **Clinical Transplantation**, **75**: 1006-1011,2003.
- HARRISON, L. H. Retroviruses: HTLV. In : SCHECHTER, M& HOFFBRAND, A. V. & PETTIT, J. E. Leucemias agudas. In: _____ **Hematologia clínica e ilustrada**. São Paulo, Manole, 1994. p. 149 - 178.
- HTLV-I. Doenças associadas. Disponível em <http://www.htlv.com.br/epidemiologia5.htm> Acesso em: 22 jan. 2003
- HTLV-I.Introdução. Disponível em <http://www.htlv.com.br/epidemiologia7.htm> Acesso em: 07 jan. 2003
- HJELLE, B. Human T-cell leukemia/lymphoma viruses. **Acta. Pathol. Lab. Med**,**115**: p. 444 – 450, may 1991.
- HOFFBRAND, A. V. & PETTIT, J. E. Linfomas malignos. In: _____ **Hematologia clínica e ilustrada**. São Paulo: Manole, 1991, p. 10.1 - 10.24.

- HOIUNATO, D. *et al.* Intrafamilial clustering and 4-year follow-up of asymptomatic human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I) infection in Benin (West Africa). **International Journal of Epidemiology**, **27**: 146-152, 1998.
- ISHAK, R., AZEVEDO, V.N. & ISHAK, M.O.G. HTLV na Amazônia brasileira. In: MARANGONI, D. V. **Doenças infecciosas: conduta diagnóstica e terapêutica**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998, c. 21, p. 8.1 - 8.16.
- ISHAK, R. *et al.* HTLV em populações indígenas no Brasil. In: VERONESI, R. & FOCACCIA, R. **Retrovíroses humanas doenças associadas ao HTLV**. 1 ed. São Paulo. Atheneu. 2000, p. 55-63.
- ISHAK, R. *et al.* Epidemiological aspects of retrovirus (HTLV) infection among Indian populations in the Amazon Region of Brazil. **Cad. Saúde Pública**, **19**: 901-914, 2003
- JOHNSON, J. M. *et al.* Molecular biology and pathogenesis of the human T-cell leukemia /lymphoma virus type-I (HTLV-I). **Exp. Path**, **82** : 135-47, 2001.
- KALYANARAMAN, V. S. *et al.* A new subtype of T-cell leukemia virus (HTLV-II), associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia. **Science**, **218** : 571-80, 1982.
- KAUFFMAN, H. M. & TARANTO, S. E. Human T-cell lymphotropic virus type-I and organ donors. **Transplantation**, **76**: 745-746, 2003.
- KIKUCHI, M. *et al.* Adult T-cell leukaemia/ lymphoma. In: **WHO Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues**. JAFFE, E. S. *et al.* ed. IARC press. Lyon, 2001. p. 200-203.
- KITAGAWA, T. *et al.* Antibodies to HTLV-I in Japanese immigrants in Brazil. **J. Amer. Med. Ass**, **256**: 23-42, 1986.
- LANGHORN, F. R. Epidemiologia. In: VERONESI, R. & FOCACCIA, R. **Retrovíroses humanas doenças associadas ao HTLV**. 1 ed. São Paulo. Atheneu. 2000, p. 11-17
- LATORRE, M. R. D. O. Epidemiologia dos tumores na infância. In: CAMARGO, B. de & LOPES L. F. **Pediatria oncológica: noções para o pediatra**. São Paulo: Le mar, 2000, p. 7 - 27.
- LEVINE, P.H., BLATTNER, W.A., CLARK, J., TORONE, MALONEY, E.M., MURPHY, E.M., GALO, R.C., GUROFF, M.R., SAXINGE, W. C. Geografic distribution of HTLV-I and identification of a new risk population. **Int. J. Cancer**, **42**: 7 - 12, 1988.

- LI, F. P. Epidemiology of cancer in childhood. In: NATHAN, D.G. OSKI, F. A. **Hematology of infancy and childhood**. 4 ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1993, p. 1102-1119.
- LIN, B. T-Y *et al.* Human T cell limphotropoic vírus-1-positive T-cell leukemia/lymphoma in a child. **Arch. Pathol. Lab. Méd**, **121**: 1282-1286. 1997.
- LOPES, L. F. & MENDES, W. L. Leucemias na Infância. In: CAMARGO, B. de & LOPES, L. F. **Pediatria oncológica : noções para o pediatra**. São Paulo : Le mar, 2000, c.2, p. 109 - 118.
- LOPES, L. F. Leucemia na Infância. In: **Manual de condutas diagnósticas e terapêuticas em oncologia da Fundação Antonio Prudente Hospital A. C. Camargo**. São Paulo : Âmbito Editores, 1996, p.165-172.
- LORENZI, T. F. Doenças proliferativas da linhagem linfóide. In: VERRASTRO, T. *et al.* **Hematologia e hemoterapia: fundamentos de morfologia, fisiologia, patologia e clínica**. São Paulo: Atheneu, 1996, c. 16, p. 139-173.
- LUKENS, J. N. Leucemia linfocítica aguda. In: LEE, G. R. *et al.* **Wintrobe Hematologia clínica**. 1 ed. São Paulo. Manole. 1998. V.2, c. 72, p. 2083- 2113.
- MARRA, V. L. M. Linfoma de células T periféricas : apresentação de 22 casos. Tese livre docente Rio de Janeiro: Universidade Gama Filho, ago 1992. 202 p.
- MENNA-BARRETO, M. *et al.* Paraparesia espástica tropical (HAM). In: VERONESI, R. & FOCCACIA, R. **Retrovíroses Humanas Doenças Associadas ao HTLV**. Ed. Atheneu, São Paulo, 2000, p. 71-88.
- MILITO, C. B. & MORAES, J. C. Leucemia linfoma de células T do adulto no Rio de Janeiro OLIVEIRA,; estudo clínico de dez casos. **J. Bras. Patol**, **1**: 45-53, 2000.
- MONCHIZUKI, M. *et al.* Human T lymphotropic virus type I uveitis. **Br. J. Ophthalmol**, **78**: 149-154. 1994
- NAKAUCHI, C. M. *et al.* Prevalence of HTLV-I antibody among two distinct ethnic groups inhabiting the amazon region of Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop**, **34**: 323-328, 1992.
- OHSHIMA, K. *et al.* Clonal HTLV infected CD4+ T-lymphocytes and non-clonal non-HTLV-I infected giant cells in incipient ATLL with Hodgkin-like histologic features. **Int. J. Cancer**, **72**: 592-598.1997.
- OKOCHI, K., SATO, H., HINUMA, Y. Aretrospective study on transmisson of adult T-cell keukemia virus by blood transfusion: seroconversion in recipients. **Vox sang**, **46**: 2445-53, 1984.

- OLIVEIRA, M.S.C. Avaliação clínica de doadores de sangue portadores do vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV-I/II). Dissertação de mestrado. Belém: Universidade Federal do Pará, 2001. 94 p. Orientador: José Alexandre R. de Lemos.
- OLIVEIRA, M.S.P. de , ESTEVES, C., GOLLNER, A. M. CARVALHO, S. M. F. de. Etiologia de leucemia/linfoma T do adulto (HTLV +) e Incidência no Brasil. **Revista Brasileira de Cancerologia**, 4: 131-136, out/dez 1992.
- PAOLETTI, E. *et al.* Virus y linfoma: linfoma. **CM Publicacion Médica**, 3: 62-68. 1991.
- POIESZ, B. J. Et al. Prevalence of HTLV-I associated T cell lymphoma. **Am. J. Hematol**, 66: 32-8, 2001.
- POPLACK, D. & MARGOLIN, J. F. Acute lymphoblastic leukemia. In: PIZZO, P. A. & POPLACK, D. **Pediatric oncology**. 3 ed Philadelphia: Lippincott-Raven . 1997, c. 17, p. 409-462.
- RAMOS, C. V. C. & BRITO, R. C. Leucemia /linfoma de célula T do adulto. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Estadual do Pará, 2002. Orientadora: Ana Virgínia van den Berg.
- REIS, M. L. & SOUZA, S. M. P. Estudo epidemiológico dos casos de leucemia do Hospital Ofir Loiola no período de 1995 a 1999. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Estadual do Pará, 2002. Orientadora: Ana Virgínia van den Berg.
- RIBEIRO, R. Leucemia linfóide aguda na criança e adolescente. In: ZAGO, M. A., FALCÃO, R. P. & PASQUINI, R. **Hematologia. Fundamentos e prática**. 1 ed. São Paulo Atheneu, 2001. c.46, p.487- 518.
- ROSEMBLAT, J. D. et al. Integrated human T-cell leukemia virus II genome in CD8+ T cells from a patient with "atypical" hairy cell leukemia: evidence for distinct T and B lymphoproliferative disorders. **Grune & Stratton, Inc** : 365-369, 1988.
- SAWADA, T. & col. High risk of mother-to-children transmission HTLV-I in p40tax – Antibody-positive mothers. **Jpn. J. Cancer Res**, 80: 506 - 508, 1989.
- SEGURADO, A.C. HTLV-I: Aspectos virológicos e caracterização de sub tipos virais. In: VERONESI, R. & FOCCACIA, R. **Retrovíruses Humanas Doenças Associadas ao HTLV**. Ed. Atheneu, São Paulo, 2000, p. 3-9.
- SOARES, B. C. C. et al. Infecção pelos vírus linfotrópicos de células T humanas (HTLV): o que sabemos? **Atualização científica Conselho Federal de Medicina** : 3-14 , 2003.

- SULLIVAN, A. K. Classificação, patogênese e etiologia das doenças neoplásicas do sistema hematopoético. In: LEE, G. R. et al. **Wintrobe Hematologia clínica**. 1 ed. São Paulo. Manole.1998. V.2, c. 68, p. 1897 – 1970.
- TAJIMA, K. Malignant lymphomas in Japan: epidemiological analysis of adult T-cell leukemia/lymphoma (L/LTA). **Cancer and metast. Res**,7: 223-40, 1988.
- TAKAYANAGUI, O. M. Mielopatia associada ao HTLV-I/ Paraparesia espástica tropical (HAM/TSP). In: PROIETTI, A. B. et al. **HTLV-I/II Cadernos Hemominas**. Minas Gerais, 2000, p. 109-129.
- VALLE, A. C. F. et al. Adult T-cell leukemia/lymphoma associated with HTLV-I infection in a brasilian adolescent. **Rev. Inst. Med. Trop**, 43: 283-286, 2001.
- VALLINOTO, A. C. et al. Serological evidence of HTLV-I and HTLV-II coinfections in HIV-1 positive patients in Belém, State of Pará, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 93: 407-409, 1998.
- VALLINOTO, A. C. R. Caracterização molecular, filogenia e origem do vírus linfotrópico de células T humanas, tipo II (HTLV II), de populações humanas na amazônia brasileira. Tese de doutorado Belém: Universidade Federal do Pará 2000. 128 p. Orientador: Prof. Dr. Ricardo Ishak.
- VERONESI, R. et al.. HTLV e doenças associadas. In: VERONESI, R. & FOCCACIA, R. **Tratado de infectologia** . Ed. Atheneu, São Paulo 1997, p.400-23.
- VERONESI, R. **Tratado de infectologia**. São Paulo : Atheneu, 1996 , p.1487.
- VERONESI, R. Introdução. In: VERONESI, R. & FOCCACIA, R. **Retrovíroses Humanas Doenças Associadas ao HTLV**. Ed. Atheneu, São Paulo, 2000, p. 1-2.
- WILLIAMS, D. L. & RAGAS, A. H. HTLV-I antibodies in childhood leukemia. **Jama**, 253: 2496. 1985.
- WENDEL, S. FACHINI, R. & LEVI, J.E. Diagnóstico laboratorial da infecção pelo HTLV. . In: VERONESI, R. & FOCCACIA, R. **Retrovíroses Humanas Doenças Associadas ao HTLV**. Ed. Atheneu, São Paulo, 2000, p. 93-97.
- YAMAGUCHI, K. Leucemia e linfoma de linfócitos-T do adulto. . In: VERONESI, R. & FOCCACIA, R. **Retrovíroses Humanas Doenças Associadas ao HTLV**. Ed. Atheneu, São Paulo, 2000, p. 65-69.
- YAMAMOTO, J.H. Uveíte associada ao HTLV-I. In: VERONESI, R. & FOCCACIA, R. **Retrovíroses Humanas Doenças Associadas ao HTLV**. Ed. Atheneu, São Paulo, 2000, p.89-92.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, Rio de Janeiro. Informação e documentação. *Apresentação de citações em documentos*. NBR 10520. Rio de Janeiro, 2001

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, Rio de Janeiro. Informação e documentação. *Trabalhos acadêmicos - apresentação*. NBR 14724. Rio de Janeiro, 2001

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, Rio de Janeiro. Informação e documentação. *Referências – Elaboração*. NBR 6023. Rio de Janeiro, 2000

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ. Núcleo de Medicina Tropical. Curso de Mestrado em Doenças Tropicais. *Normalização de dissertação*. Belém, 2003.

