

## ANÁLISE DO LÍQUIDO CEFALORRAQUEANO E NEUROPATOGÊNESE DA INFECÇÃO PELO HTLV-I

MARZIA PUCCIONI-SOHLER\*

---

**RESUMO** - O mecanismo da mielopatia associada a infecção pelo HTLV-I (HAM), como ocorre o dano da medula espinhal e finalmente a destruição da mielina assim como do oligodendrócito não está definido. Por hipótese, a passagem de linfócitos infectados através da barreira hemato-encefálica atuaria como pedra alva na patogênese da HAM. Um aumento da produção de citocinas tais como o fator de necrose tumoral alfa (TNF alfa), potente imunomodulador, facilita a migração de linfócitos através da expressão de fatores de adesão molecular na superfície de células endoteliais. Por outro lado, a recente demonstração da elevada síntese intratecal do receptor solúvel para o TNF (sTNF-R) em pacientes com HAM tem contribuído para a melhor compreensão dos mecanismos da neuropatogênese da infecção pelo HTLV-I. Os novos conhecimentos sugerem que os efeitos deletérios do TNF alfa no sistema nervoso central podem ser o resultado do desequilíbrio entre a produção desta citocina e do seu receptor inibidor (sTNF-R).

**PALAVRAS-CHAVE:** retrovírus HTLV-I, líquido cefalorraqueano, sistema nervoso central, mielopatia, citocinas, sTNF-R.

### **Cerebrospinal fluid analysis and the pathogenesis of central nervous system infection by HTLV-I**

**ABSTRACT** - The immunopathogenesis of the HTLV-I associated myelopathy (HAM) may be studied by the CSF evaluation. The mechanism of this myelopathy remains unknown. The disturbs of the cellular and humoral immune response observed in HAM patients suggest that the immunological derangement may contribute to the disease mechanisms. For hypothesis, the migration of infected lymphocytes through the blood-brain barrier could have a main role at the pathogenesis of HAM. An increase of the production of cytokines as tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) contributes to the migration of lymphocytes through the expression of the intercellular adhesion molecule on the surface of the endothelial cells. On the other side, new knowledges suggest that the imbalance between the production of TNF alpha and its soluble receptor (sTNF-R) could result in the lesive effects of this cytokine in the central nervous system.

**KEY-WORDS:** HTLV-I retrovirus, cerebrospinal fluid, central nervous system, myelopathy, cytokines, sTNF-R.

---

A mielopatia associada ao HTLV-I (HAM) apresenta caráter progressivo com nítido envolvimento do sistema piramidal. Casos de paraparesia espástica de etiologia desconhecida são relatados desde o século passado<sup>4</sup>. Nos últimos anos, anticorpos e células contendo DNA do HTLV-I têm sido demonstrados no sangue periférico e no líquido cefalorraqueano (LCR) de muitos destes pacientes<sup>7</sup>. O isolamento do HTLV-I em linfócitos do sangue periférico, a demonstração da infecção de células gliais humanas e a presença de partículas semelhantes ao HTLV-I em tecido de medula espinhal aponta este vírus como o agente causador da HAM<sup>13</sup>. Entretanto, a escassez de células gliais infectadas indica que outros fatores devem colaborar para as lesões observadas no sistema

---

\*Neurologista, PhD, Serviço de Neurologia (Chefe: Prof. Dr. Sérgio Novis), Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Aceite: 24-outubro-1996.

nervoso central (SNC). As anormalidades da resposta humoral e celular observadas sugerem que eventos imunológicos contribuem para a neuropatogênese da infecção. Estas incluem: ativação de linfócitos B com níveis elevados de anticorpos no sangue periférico e LCR, síntese intratecal de anticorpos para HTLV-I, presença de autoanticorpos contra células endoteliais cerebrais, proliferação e ativação de linfócitos T no sangue periférico e LCR com alteração na produção de citocinas.<sup>7,11, 24,25</sup>

No presente estudo faz-se revisão dos possíveis mecanismos imunológicos envolvidos na etiologia desta enfermidade. Neste sentido, a avaliação do LCR de pacientes com HAM tem contribuído para os estudos sobre a imunopatogênese da doença.<sup>3,16-20,24</sup>

## IMUNIDADE CELULAR

Juntamente com questões controversas, como surge a infecção do SNC pelo HTLV-I, tem sido sugerido que linfócitos ativados, após penetrarem através da barreira hemato-encefálica (BHE), produzem fatores citotóxicos<sup>11</sup>. As citocinas, como o fator de necrose tumoral (TNF) alfa e beta, têm um efeito tóxico nas células gliais<sup>23</sup> (Fig 1).

### Citoquinas x HTLV-I

As citocinas apresentam função importante na imunoregulação e especialmente na proliferação e diferenciação celular, como também na lesão tecidual (exemplo: substância branca). Células infectadas pelo HTLV-I sintetizam interleucina-1, -2, -3, -5 e -6 assim como TNF e interferon gama (INF)<sup>25</sup>.

Citoquinas como IL-1, INF gama e TNF alfa podem ser produzidas por astrócitos ativados e micróglia<sup>22</sup>. O efeito citotóxico do TNF alfa, especialmente nos oligodendrócitos como também seu efeito desmielinizante, foram demonstrados em cultura de células<sup>23</sup>. Estudos histopatológicos da medula espinal de pacientes com HAM revelam lesão da substância branca assim como infiltração de linfócitos no parênquima e espaço perivascular. INF gama aumenta a expressão do TNF alfa e TNF beta. Em amostras de sangue periférico e LCR de pacientes com HAM verificou-se aumento da expressão do TNF alfa RNA-m e células TNF alfa positivas<sup>16</sup>.

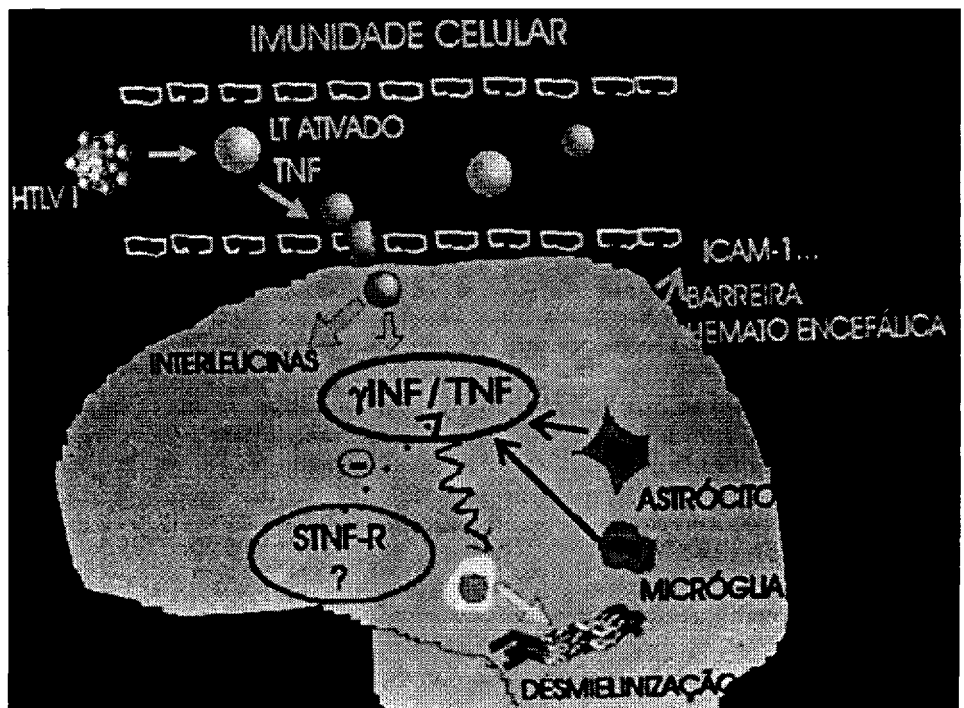


Fig 1. Anormalidades da resposta celular na infecção do SNC pelo HTLV-I.

Nesta enfermidade, a IL-6 encontra-se elevada no soro e LCR e se correlaciona com os títulos de anticorpos específicos. Células infectadas pelo HTLV-1 podem produzir IL-6 induzindo ativação de células B e elevação dos títulos de anticorpos<sup>17</sup>.

As citocinas TNF alfa, IL-1 e IFN gama conduzem a aumento da adesão de linfócitos às células endoteliais cerebrais, através da expressão de moléculas de adesão como ICAM-1 (molécula de adesão intercelular), facilitando assim a introdução e transmigração continuada de células imunocompetentes<sup>6,12</sup>.

#### *Adesão de linfócitos*

O sistema imune e o SNC estão separados pela BHE, a qual através das junções entre células endoteliais limita a infiltração de células mononucleares para o SNC.

A aderência às células endoteliais representa a etapa inicial no processo de extravasamento de leucócitos do sangue periférico para os tecidos. As integrinas (MEL-14, VLA-4, LFA-1) correspondem a glicoproteínas de membrana nos leucócitos e interagem com as moléculas de adesão (MECA-325, ICAM-1, VCAM-1) das células endoteliais. O ICAM-1 é uma glicoproteína expressa pelas células endoteliais cerebrais e está relacionado com a adesão e migração de linfócitos através da BHE, facilitando o início do processo inflamatório no SNC<sup>9</sup>.

LFA-1 e ICAM-1 representam a principal via da adesão de linfócitos às células endoteliais. Endotoxinas e citocinas podem aumentar a expressão de fatores de adesão enquanto que anticorpos monoclonais para LFA-1 bloqueiam a adesão dos linfócitos às células endoteliais cerebrais<sup>27</sup>.

Valores elevados de ICAM-1 são observados em pacientes com HAM<sup>26</sup>. O surgimento do dano de mielina pode ser o resultado do afluxo para o SNC de células T transformadas ou ativadas, correspondendo assim ao estágio inicial da inflamação do SNC relacionada ao HTLV-1.

#### *Receptor solúvel para TNF (sTNF-R)*

Receptores solúveis têm sido administrados in vivo e apresentam potencial de inibir a resposta inflamatória pela ação como antagonista da atividade de citocina (IL-4 e IL-1)<sup>14</sup>.

Uma proteína com efeitos inibitórios na ação do TNF alfa foi recentemente demonstrada na urina e soro de indivíduos saudáveis e encontra-se aumentada em algumas enfermidades<sup>1</sup>. Esta proteína foi caracterizada como uma forma solúvel do receptor para o TNF e corresponde a fragmento extracelular dos receptores de superfície celular, p55 e p75. Os receptores solúveis para o TNF alfa possuem o peso molecular de 55/60 KDa e 75/80 KDa. Após a sua junção com o TNF alfa, inibem sua atividade impedindo a ligação desta citocina com o receptor de superfície celular. Por outro lado, estes receptores solúveis aumentam a sobrevivência biológica do TNF alfa evitando sua degradação espontânea.

Em estudo prévio pôde ser demonstrado elevados níveis do sTNF-R no LCR sugerindo uma síntese no SNC acima de 99% do valor encontrado. Através da comparação do quociente LCR/soro observa-se a falta de correlação entre os compartimentos assim como, entre os níveis de sTNF-R e a contagem de células no LCR, ou com a síntese intratecal de anticorpos para HTLV-1. Os dados desta análise sugerem que o sTNF-R parece ser produzido pelas células do SNC (exemplo: células gliais). Nas doenças inflamatórias do SNC tais como HAM e esclerose múltipla verifica-se a presença de níveis nitidamente aumentados, como prova de um processo imunopatológico<sup>21</sup>.

A presença da síntese intratecal do sTNF-R sugere seu papel na homeostase do SNC, na tentativa de bloquear o efeito lesivo do TNF alfa. O dano tecidual observado em pacientes com HAM pode ser decorrente do aumento mais acentuado desta citocina em relação ao seu inibidor, o sTNF-R a nível de SNC. Girardin et al. demonstram que a razão entre TNF alfa e seu receptor solúvel influencia a evolução da meningococcemia. Os casos fatais estão associados com a presença de concentrações séricas mais elevadas do TNF alfa, em comparação aos níveis de seu receptor solúvel<sup>8</sup>.

Valores séricos do sTNF-R têm sido correlacionados com a atividade da doença no lupus eritematoso sistêmico<sup>2</sup> e também com a progressão da infecção pelo HIV-1<sup>9</sup>. Esta proteína mostrou-se eficaz no tratamento da endotoxemia letal<sup>14</sup>.

A verificação de concentrações do sTNF-R elevadas no LCR de pacientes com doenças inflamatórias do SNC tais como HAM e esclerose múltipla sugere sua função como um novo parâmetro de inflamação, o qual em comparação ao TNF alfa, pode ser um marcador de atividade da doença.

Neste sentido, novos estudos deverão ser conduzidos na tentativa de demonstrar sua importância como marcador de progressão da HAM. Por outro lado, a capacidade do sTNF-R em antagonizar a ação do TNF alfa orienta a hipótese de um possível papel deste receptor como agente terapêutico, bloqueando a desmielinização decorrente de elevados níveis de citocinas tais como TNF alfa a nível do SNC.

## IMUNIDADE HUMORAL

### *Reação humoral para HTLV-I*

Síntese intratecal de imunoglobulinas é frequentemente observada nos pacientes com HAM. Resposta humoral para as proteínas do HTLV-I ocorre no soro e LCR de indivíduos infectados: anticorpos contra proteína do gag (p19, p24 e p53) e do env (gp46 e gp62) são habitualmente encontrados<sup>4,7</sup>. A maior parte destes anticorpos pertence à classe IgG. Entretanto IgA e IgM podem ser verificadas no soro e LCR de alguns pacientes<sup>20</sup>. Em estudo prévio, 85% dos pacientes com o diagnóstico de HAM apresentavam um índice de anticorpo para HTLV-I elevado, indicando que a síntese intratecal de anticorpos específicos ocorreu na maioria dos casos<sup>19</sup>.

A presença de bandas IgG oligoclonais no LCR de pacientes com HAM representa um dos parâmetros mais sensíveis da síntese intratecal de anticorpos<sup>19</sup>. Entretanto apenas uma fração destas imunoglobulinas é específica para HTLV-I e dirigida para a proteína p24<sup>10</sup>. O restante representa IgG oligoclonal de especificidade indeterminada. Bandas IgM oligoclonais para HTLV-I também foram observadas e interpretadas por alguns autores como indicativo de replicação ativa do HTLV-I no SNC<sup>15</sup>.

Amostras de LCR e soro de pacientes com HAM, diluídas em iguais quantidades de IgG, revelam bandas mais fortes para p24 e gp68 no LCR comparado ao soro demonstrando a presença de quantidades maiores de IgG vírus-específico no LCR para a mesma quantidade total de IgG<sup>18</sup>.

## CONCLUSÃO

As alterações observadas da resposta imune celular e humoral sugerem a participação de mecanismos imunológicos na patogênese da HAM. O processo de ativação do sistema imune não é totalmente esclarecido. Entretanto, os linfócitos após a infecção pelo HTLV-I sofrem uma alteração funcional com indução na produção de citocinas. Desta maneira, a reação inflamatória no sistema nervoso e desmielinização podem ser decorrentes da imunoativação pelo HTLV-I.

O TNF juntamente com o INF gama são produzidos e liberados por células T ativadas pelo HTLV-I, as quais migram para o SNC. Ambos conduzem a aumento da adesão de linfócitos às células endoteliais cerebrais, facilitando a contínua migração de células imunocompetentes. Este parece representar a etapa inicial do processo inflamatório no SNC mediado pelo HTLV-I e o resultado de uma disfunção na liberação de citocinas<sup>25</sup>.

No LCR, o índice de anticorpo para o HTLV-I aumentado é uma prova direta da síntese intratecal de anticorpos dirigidos contra o organismo específico, sendo considerado como um marcador da presença do vírus e o índice mais sensível de uma reação inflamatória no SNC<sup>18-20</sup>. Este índice é mais informativo do que o valor absoluto do anticorpo no LCR, pois permite diferenciar a fração sintetizada no SNC, demonstrando a síntese intratecal verdadeira de imunoglobulina em resposta a infecção, mesmo na presença de disfunção da barreira hêmato-LCR<sup>18-20</sup>. Sendo assim, a síntese intratecal de anticorpo específico apresenta maior relevância como apoio ao diagnóstico de HAM do que a simples análise da concentração do anticorpo no LCR<sup>4,7,18</sup>.

A recente descoberta da síntese intratecal do sTNF-R em pacientes com doenças inflamatórias do SNC (HAM e esclerose múltipla), sugere seu papel como possível marcador de atividade e progressão de doença<sup>21</sup>. Por outro lado, como esta proteína apresenta a capacidade de inibir a ação lesiva do TNF alfa, pode ter importante ação terapêutica, bloqueando a reação inflamatória secundária a nível de SNC<sup>14</sup>.

## REFERÊNCIAS

1. Aderka D, Engelmann H, Shemer-Avni Y et al. Variation in serum levels of the soluble TNF receptors among healthy individuals. *Lymphokine Cytokine Res* 1992; II:157-159.
2. Aderka D, Wysenbeek A, Engelmann H et al. Correlation between serum levels of soluble tumor necrosis factor receptor and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arth Rheumat* 1993;36:1111-1120.
3. Cavalcanti M, Ferreira O, Puccioni M, Novis S, Schechter M. HTLV-I associated neurologic manifestations in four generations of a Brazilian family. *J AIDS* 1993;6:213-217.
4. Ceroni M, Picardo P, Rodgers-Johnson P et al. Intrathecal synthesis of IgG antibodies to HTLV-I supports an etiological role for HTLV-I in tropical spastic paraparesis. *Ann Neurol* 1988;23 (Suppl):S188-S191.
5. Chang Y, Allbright S, Lee F. Cytokines in the central nervous system: expression of macrophage colony stimulating factor and its receptor during development. *J Neuroimmunol* 1994;52:9-17.
6. Doukas J, Pober JS. IFN-gamma enhances endothelial activation induced by tumor necrosis factor but not IL-1. *J Immunol* 1990;145:1727-1733.
7. Gessain A, Caudie C, Gout O et al. Intrathecal synthesis of antibodies to human T lymphotropic virus type I and the presence of IgG oligoclonal bands in the cerebrospinal fluid of patients with endemic tropical spastic paraparesis. *J Infect Dis* 1988;157:1226-1234.
8. Girardin E, Roux-Lombard P, Grau GE, Suter P, Gallati H. Imbalance between tumor necrosis factor-alpha and soluble TNF receptor concentrations in severe meningococcaemia. *Immunology* 1992;76:20-23.
9. Godfried MH, van-der-Poll T, Jansen J et al. Soluble receptors for tumor necrosis factor: a putative marker of disease progression in HIV infection. *AIDS* 1993;7:33-36.
10. Grimaldi LM, Roos RP, Devare SG et al. HTLV-I associated myelopathy: oligoclonal immunoglobulin G bands contain anti-HTLV-I p24 antibody. *Ann Neurol* 1988;24:727-731.
11. Hölsberg P, Hafler DA. Pathogenesis of diseases induced by human lymphotropic virus type I infection. *N Engl J Med* 1993;328:1173-1182.
12. Hughes CCW, Male DK, Lantos PL. Adhesion of lymphocytes to cerebral microvascular cells: effects of interferon-gamma, tumor necrosis factor and interleukin-1. *Immunology* 1988;64:677-681.
13. Kira J -I, Itoyama Y, Koyanagi Y et al. Presence of HTLV-I proviral DNA in central nervous system of patients with HTLV-I associated myelopathy. *Ann Neurol* 1992;31:39-45.
14. Mohler KM, Torrance DS, Smith Ca et al. Soluble tumor necrosis factor receptors are effective therapeutic agents in lethal endotoxemia and function simultaneously as both TNF carriers and TNF antagonists. *J Immunol* 1993;151:1548-1561.
15. Nagasato K, Nakamura T, Ohishi K et al. Active production of anti-human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) IgM antibody in HTLV-I associated myelopathy. *J Neuroimmunol* 1991;32:105-109.
16. Nakamura S, Nagano I, Yoshioka M, Shimazaki S, Onodera J, Kogure K. Detection of tumor necrosis factor-a-positive cells in cerebrospinal fluid of patients with HTLV-I associated myelopathy. *J Neuroimmunol* 1993;42:127-130.
17. Nishimoto N, Yoshizaki K, Eiraku Net al. Elevated levels of interleukin-6 in serum and cerebrospinal fluid of HTLV-I associated myelopathy/ tropical spastic paraparesis. *J Neurol Sci* 1990;97:183-193.
18. Puccioni-Sohler. Immunologic parameters of cerebrospinal fluid in HTLV-I associated myelopathy (Abstract). Thesis. Göttingen, Alemanha, 1994. Arq Neuropsiquiatr 1995;53:348-349.
19. Puccioni-Sohler M, Kitz B, Felgenhauer K. HTLV-I associated myelopathy in patients from Brazil and Iran. Arq Neuropsiquiatr 1995;53:213-217.
20. Puccioni-Sohler M, Kitz B, Felgenhauer K et al. The value of CSF analysis for the differential diagnosis of HTLV-I associated myelopathy and multiple sclerosis. Arq Neuropsiquiatr 1995;53:760-765.
21. Puccioni-Sohler M, Rieckmann P, Kitz B, Lange P, Albrecht M, Felgenhauer K. A soluble form of tumor necrosis factor receptor in cerebrospinal fluid and serum of HTLV-I-associated myelopathy and other neurological diseases. *J Neurol* 1995;242:239-242.
22. Robbins DS, Shirazi Y, Drysdale BE, Lieberman A, Shin ML. Production of cytotoxic factor for oligodendrocytes by stimulated astrocytes. *J Immunol* 1987;139:2593-2597.
23. Selmaj KW, Raine CS. Tumor necrosis factor mediates myelin and oligodendrocyte damage in vitro. *Ann Neurol* 1988;23:339-346.
24. Spina-França A, Livramento JA, Machado LR, Gomes HR, Vianna LS. HTLV-I antibodies in serum and cerebrospinal fluid in tropical spastic paraparesis in Brazil. Arq Neuropsiquiatr 1990;48:441-447.
25. Tendler CL, Greenberg SJ, Burton JD et al. Cytokine induction in HTLV-I. *J Cell Biochem* 1991;46:302-311.
26. Tsukada N, Miyaguchi K, Matsuda M, Yanagisawa N. Increased levels of circulating intercellular adhesion molecule-1 in multiple sclerosis and human T-lymphotropic virus type I-associated myelopathy. *Ann Neurol* 1993;33:646-649.
27. Vries HE, Moor ACE, Bloom-Roosemalen MCM et al. Lymphocyte adhesion to brain capillary endothelial cells in vitro. *J Neuroimmunol* 1994;52:1-8.