

Artigo/Article

Soroprevalência e perfil imunofenotípico de células linfóides T em indivíduos soropositivos para o vírus linfotrópico de células T humanas**Seroprevalence and immunophenotypic profile of T lymphocyte cells in human T lymphotropic virus seropositive individuals**

Geane F. Souza¹
Silvia M. M. Magalhães²
Carlos M. C. Costa³
Francisco D. Rocha Filho⁴
Rosa M. S. Mota⁵

O vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV) é transmitido por transfusões, uso compartilhado de agulhas contaminadas, aleitamento e contato sexual. A prevalência varia de acordo com a região geográfica, grupo racial e população estudada. Cerca de 1% a 4% dos indivíduos infectados desenvolvem algum tipo de doença em decorrência da infecção. É reconhecida a associação entre o HTLV-I e leucemia de células T do adulto e paraparesia espástica tropical (PET). Embora a maioria dos portadores permaneça assintomática, existem evidências de comprometimento funcional da resposta imune celular. Os objetivos desse trabalho foram avaliar a prevalência de soropositividade para HTLV-I/II na população de doadores de sangue do HEMOCE e analisar o perfil imunofenotípico de células linfóides circulantes em 26 doadores soronegativos, 11 soropositivos para HTLV-I sintomáticos e 24 assintomáticos, comparando-os entre si. A prevalência da soropositividade para HTLV-I/II foi de 0,66%. No grupo de indivíduos contaminados pelo HTLV-I houve predomínio do sexo feminino e a maior média de idade. O grupo soropositivo apresentou menor valor de hemoglobina e o grupo sintomático evidenciou contagem de neutrófilos significativamente mais elevada. A contagem média de linfócitos não diferiu entre os grupos. A análise imunofenotípica mostrou que os valores médios de células CD3+, CD4+, CD8+ e relação CD4/CD8 não diferiram significativamente entre os grupos. Uma elevação de células CD8+ no grupo soropositivo foi observada embora não alcançasse significância estatística. A ativação de linfócitos CD8+ está envolvida na patogênese das doenças associadas ao HTLV-I. A definição do valor preditivo desse achado requer confirmação posterior. Rev. bras. hematol. hemoter. 2003;25(1):33-38.

Palavras-chave: Soroprevalência; HTLV-I; linfócitos T; imunofenotipagem.

¹Mestranda em Patologia Tropical, Departamento de Patologia e Medicina Legal, UFC.

²Professora adjunta do Departamento de Medicina Clínica, UFC – HEMOCE.

³Professor adjunto do Departamento de Medicina Clínica, UFC.

⁴Professor adjunto do Departamento de Patologia e Medicina Legal, UFC.

⁵Professora adjunta do Departamento de Estatística e Matemática Aplicada, UFC.

Correspondência para: Geane Felix de Souza
Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará – HEMOCE – Laboratório de Hematologia.
Av. José Bastos, 3390 – CEP: 60436-160 – Fortaleza-CE
Tel: (85) 9995-1914

Introdução

O vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV) é mais comumente transmitido através de transfusões de hemocomponentes, uso compartilhado de agulhas contaminadas, aleitamento materno e contato sexual. A soroprevalência entre diferentes grupos etários varia de acordo com a região geográfica, grupo racial e subpopulação de risco. No Brasil, a soroprevalência entre doadores de sangue varia de 0,08% a 1,35%, dependendo do estado brasileiro e do tamanho da amostra.^{1,2}

O HTLV-I é pouco replicativo. Seu genoma é randomicamente integrado ao DNA humano a partir da sua ligação com células linfóides CD4+. A amplificação viral deve-se principalmente à expansão oligoclonal das células infectadas. O vírus é necessário, mas insuficiente para o desenvolvimento do fenótipo maligno.

Cerca de 1% a 4% dos indivíduos contaminados desenvolvem algum tipo de doença em decorrência da infecção.³ São patologias associadas ao HTLV-I, à leucemia/linfoma de células T do adulto (LTA) e à paraparesia espástica tropical (PET). A infecção está também associada à indução de imunodeficiência e infecções oportunistas como pneumonite intersticial, gamopatias monoclonais, estromboliose, uveítes e artropatias inflamatórias.^{4,5}

Embora a maior parte dos portadores permaneça assintomática, existem evidências de comprometimento funcional da resposta imune celular. As doenças associadas caracterizam-se por diferentes eventos imunológicos e ocorrem independentemente entre indivíduos de famílias portadoras do HTLV-I.⁶ A variação da resposta imune é, provavelmente, responsável pela diversidade de manifestações clínicas apresentadas na infecção pelo HTLV-I.⁷

Esse trabalho objetivou a avaliação da prevalência de soropositividade para HTLV-I/II na população de doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará – HEMOCE e a análise das características clínico-laboratoriais dos indivíduos contaminados. Considerando que o perfil imunofenotípico de células linfóides no sangue periférico reflete o desempenho do sistema imune e, ainda, o

tropismo do HTLV por linfócitos T e seu papel na regulação da resposta imune, esse estudo objetivou ainda analisar as subpopulações linfóides T no sangue periférico de indivíduos soropositivos para o HTLV-I sintomáticos e assintomáticos no ano 2001, comparando-os com um grupo soronegativo de doadores aptos.

Casuística e Métodos

No Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará – HEMOCE, o doador soropositivo para HTLV, identificado na avaliação de triagem através do teste ELISA (Abbott murex HTLV-I e II) é, habitualmente, convocado pelo serviço social para nova coleta. Uma nova amostra é processada em duplicata pelo teste ELISA e confirmada pelo Western Blot (WB) (Cambridge Biotech). Os indivíduos com sorologia positiva são encaminhados para ambulatório especializado para avaliação, aconselhamento e seguimento.

Todos os indivíduos incluídos no estudo apresentaram resultados negativos para os demais testes sorológicos rotineiramente realizados em doadores de sangue. Após entrevista e consentimento prévio, foram coletadas amostras de sangue com anticoagulante ácido etilendiaminotetracético (EDTA) em 35 indivíduos soropositivos e 26 doadores clínicos e laboratorialmente aptos para doação no ano 2001. A análise dos parâmetros hematológicos, realizada em equipamento CELLDYN 3200 (Abbott), incluiu dosagem de hemoglobina e contagem absoluta de neutrófilos, linfócitos e plaquetas. A análise do perfil imunofenotípico por citometria de fluxo, realizada no equipamento FACSCount Immunocytometry System, obedeceu os procedimentos recomendados pelo fabricante (Becton-Dickinson - San Jose, CA, USA). Foram utilizados os anticorpos monoclonais anti-CD3, anti-CD4, anti-CD8 (FACSCount Reagents – 340167).

Os valores de referência utilizados para as subpopulações linfocitárias foram de 657 a 2010/mm³ para CD3+, de 430 a 1367/mm³ para o CD4+, de 205 a 717/mm³ para o CD8+ e de 1,2 a 3,1 para a relação CD4+/CD8+. A análise estatística utilizou o teste Exato de Fisher para

avaliar associações entre as variáveis categorizadas. A análise de variância no modelo com um fator fixo foi utilizada para testar a igualdade das médias de variáveis contínuas entre os grupos. O teste de contrastes independentes foi utilizado como pós-teste.

Resultados

A prevalência da soropositividade para o HTLV-I/II pelo teste de ELISA na população geral de doadores (n=264.593) variou de 0,45% a 0,74%, com um valor total de 0,66% no período de 1997 a 2001. Dentre os 1.758 casos reativos, 777 (44,2%) foram testados também pelo WB, evidenciando resultados positivos em 40,8%, indeterminados em 43,0% e negativos em 16,2%.

No ano 2001, dos 330 indivíduos com teste ELISA positivo, 97 realizaram teste confirmatório pelo WB. Dos 56 casos confirmados (57,7%), 43 exibiram padrão eletroforético compatível com o HTLV-I (76,8%).

Para a caracterização imunofenotípica das subpopulações de linfócitos T circulantes foram avaliados 35 pacientes soropositivos para HTLV-I, sendo 24 assintomáticos e 11 com sinais e sintomas neurológicos. O grupo controle foi composto por 26 doadores soronegativos. A análise da distribuição dos casos em função do sexo mostrou um maior percentual de sexo feminino no grupo de pacientes soropositivos (57,1%) quando comparado com o grupo controle (7,7%) ($p < 0,0001$).

A média de idade foi de 53,1 anos (28-76) no grupo sintomático, 43,7 anos (19-68) no grupo assintomático e 32,9 anos (19-58) no grupo controle. A análise comparativa das médias mostrou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos controle e sintomático ($p < 0,0001$), controle e assintomático (0,004), e sintomático e assintomático ($p = 0,045$).

Tabela 1
Parâmetros hematológicos no sangue periférico de indivíduos soropositivos e soronegativos para HTLV- I

Grupos	Análise	Hemoglobina g/dL	Linfócitos /mm ³	Neutrófilos /mm ³	Plaquetas /mm ³
Controle	Média	15,9	2.117	4.015	201.850
	DP	2,54	0,71	1,52	75,70
Assintomático	Média	13,97	2.305	3.848	238.920
	DP	1,21	0,74	1,86	78,28
Sintomático	Média	13,70	2.158	5.350	250.090
	DP	1,89	0,64	1,45	49,32

* DP: desvio padrão

Tabela 2
Caracterização imunofenotípica de subpopulações linfocitárias em sangue periférico de indivíduos soropositivos e soronegativos para o HTLV- I

Grupos	Análise	CD3+ (mm ³)	CD4+ (mm ³)	CD8+ (mm ³)	CD4/CD8
Controle	Média	1.379	799,19	494,27	1,73
	DP	397,40	266,40	190,00	0,53
Assintomático	Média	1.616	950,75	607,79	1,71
	DP	586,73	335,28	292,36	0,52
Sintomático	Média	4,440	770,36	621,91	1,43
	DP	433,06	245,77	294,71	0,72

* DP: desvio padrão

A análise de variância dos valores médios de hemoglobina entre os grupos mostrou diferenças significativas quando se compararam o grupo controle e soropositivo assintomático ($p = 0,02$), o grupo controle e positivo sintomático ($p = 0,03$). Em ambos os casos, os indivíduos soropositivos apresentaram, em média, menor dosagem de hemoglobina. Os valores médios da contagem absoluta de linfócitos no sangue periférico não diferiram de forma significativa entre os grupos ($p = 0,63$). A análise comparativa entre as médias das contagens de neutrófilos mostrou diferença significativa entre os grupos controle e sintomático ($p = 0,02$) e soropositivo sintomático e assintomático ($p = 0,01$). Em ambos os casos, o grupo soropositivo sintomático apresentou maior valor absoluto de neutrófilos. A avaliação da contagem de plaquetas não evidenciou diferença significativa entre os grupos ($p = 0,09$) (Tabela 1).

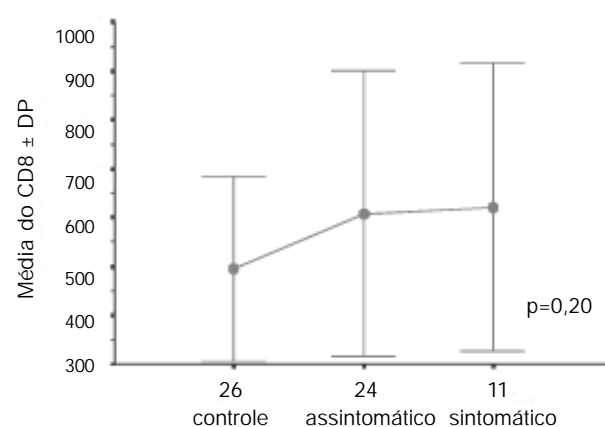


Fig. 1 – Valor médio da contagem de células CD8+ no sangue periférico nos grupos estudados

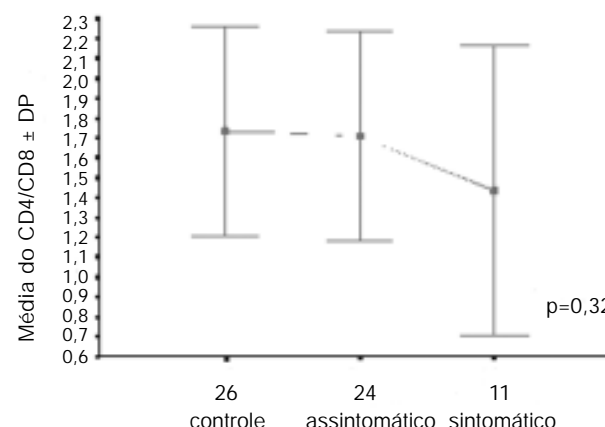


Fig. 2 – Valor médio da relação CD4+/CD8+ no sangue periférico nos grupos estudados

A caracterização imunofenotípica das subpopulações linfocitárias T, através da análise de variância dos valores médios, mostrou resultados equiparáveis entre os grupos para as contagens de células CD3+, CD4+, CD8+ e relação CD4+/CD8+ (Tabela 2). A contagem média de células CD8+ foi superior nos grupos soropositivo sintomático e assintomático (Figura 1) e, ainda, a relação CD4/CD8 foi menor no grupo soropositivo sintomático (Figura 2). Essas diferenças, no entanto, não alcançaram significado estatístico ($p=0,20$ e $p=0,32$, respectivamente).

Discussão

A obrigatoriedade dos testes de triagem para HTLV em bancos de sangue passou a classificar os doadores em três categorias com relação ao estudo sorológico: soronegativos, aptos para doação; soroindeviduados; soropositivos, inaptos para doação. Conseqüentemente surgiu uma demanda crescente por assistência médica especializada, para aconselhamento e seguimento de indivíduos contaminados, fonte potencial de infecção, após a realização de testes confirmatórios.

No Brasil, a soroprevalência média para HTLV-I/II entre doadores de sangue é de cerca de 0,46%, com valores que oscilam entre 0,08% e 1,35%. Valores mais baixos são observados na região sul (0,08%) e mais elevados na região nordeste (1,35%).^{1,2,8,9} A prevalência mé-

dia encontrada nesse estudo foi de 0,66%, um valor baixo quando comparado a outro estado nordestino, mas elevado quando comparado à soroprevalência de 0,025% relatada em população de doadores americanos.¹⁰ É provável que a soroprevalência para a população geral, baseada em doadores de sangue, esteja ainda subestimada, quando se considera que a maioria dos doadores é composta por indivíduos jovens, do sexo masculino, e a soropositividade para o HTLV-I em zonas endêmicas é, sabidamente, mais elevada em mulheres com idade superior a 60 anos.¹¹

Uma tendência para maior positividade nas mulheres tem sido observada mundialmente. São justificativas prováveis a maior vulnerabilidade para transmissão da infecção pelo homem e a maior freqüência de transfusões sanguíneas em mulheres.¹² Indivíduos soronegativos são, em geral, mais jovens que aqueles soropositivos. Essa inclinação ascendente em relação à idade decorre do longo período que transcorre entre a infecção e as manifestações de doença.¹³

Poucos estudos investigaram a contagem de neutrófilos em pacientes infectados. Brito-Melo e colaboradores não observaram diferença significativa entre indivíduos infectados e não infectados.¹⁴ No presente estudo, uma maior contagem média de neutrófilos no grupo soropositivo sintomático foi observada, embora sem neutrofilia.

A integração do vírus ao genoma das células T resulta na produção continuada de quanti-

dades aumentadas de interleucina-2 e seu receptor. Essa estimulação autócrina participa no processo leucemogênico envolvido na gênese da LTA. Na PET, observa-se um estado de hiperimunidade, com elevação dos níveis de anticorpos no soro e líquido cefalorraquidiano e aumento da resposta dos linfócitos T ao HTLV.^{6,15}

Resultados conflitantes de análise imunofenotípica de células linfóides em sangue periférico de indivíduos soropositivos para HTLV têm sido relatados. Lal e colaboradores observaram contagem de células CD4+ e CD8+ comparáveis no grupo soropositivo e controle.¹⁶ No estudo de pacientes portadores de PET, realizado por Blank e colaboradores, os valores de CD3+, CD4+ e CD8+ se apresentaram dentro dos limites normais.⁷ Brito-Melo e colaboradores, na análise imunofenotípica de pacientes soropositivos assintomáticos, sintomáticos com PET e oligossintomáticos, verificaram que a média das contagens de CD3+, CD4+ e CD8+ foi significativamente maior no grupo de soropositivos com PET. No presente estudo, uma contagem de células CD8+ aumentada foi observada no grupo soropositivo, embora a diferença não alcançasse significância estatística. O papel da ativação de células T na patogênese da PET tem sido discutido em muitos estudos. O mecanismo imunopatológico, no entanto, não está ainda definido. É provável que esse aumento de células CD8+ resulte da ativação e proliferação aumentadas de células CD4+. O aumento de células CD8+ pode representar ativação de resposta imune e início de desenvolvimento de doença. Estudos posteriores são necessários para definir o valor preditivo desse achado.

Abstract

Human T lymphotropic virus (HTLV) can be transmitted by transfusions of cellular blood products, shared use of contaminated syringes, breast feeding and sexual intercourse. The prevalence of the infection varies according to geographic region, racial group, and population under risk. About 1% to 4% of the infected individuals develop some form of infection-related disease. The association of HTLV-I with Adult

T-Cell Leukaemia, as well as the Tropical Spastic Paraparesis, is presently well recognised. Although most HTLV-I-infected individuals remain asymptomatic, there are indications that cellular immune responses are functionally impaired. The aims of this study were to determine the prevalence of HTLV-I/II seropositivity among blood donors in HEMOCE and analyse the immunophenotypic profile of peripheral lymphocytes in 26 HTLV-I seronegative blood donors, 11 symptomatic and 24 asymptomatic HTLV-I seropositive individuals. The prevalence of HTLV-I/II was 0,66%. In the infected group a predominance of females was observed as well as a higher average age. The mean hemoglobin value was found to be significantly lower in this group and the mean polymorphonuclear neutrophil count was significantly higher among the symptomatic individuals. The mean lymphocyte and platelet count were not significantly different between the groups. Immuno-phenotyping evaluation revealed that the mean CD3+, CD4+, CD8+ T cell counts, as well as the CD4+/CD8+ ratio were not significantly different between the groups. A slightly higher mean CD8+ T lymphocyte count was observed in the seropositive individuals, although it did not reach statistical significance. The activation of CD8+ subset is known to be part of pathogenesis of HTLV-I-related diseases. The predictive value of this immunological finding needs further and long-range studies. Rev. bras. hematol. hemoter. 2003;25(1):33-38.

Key words: Seroprevalence; HTLV-I/II; T lymphocytes; immunophenotyping.

Referências Bibliográficas

1. Pombo de Oliveira MS, Hamerschlack N, Chiattoni CS, Loureiro P. HTLV-I infection and adult T-cell leukemia in Brazil: an overview. São Paulo Med J 1996;114:1177-85.
2. Soares BCC, Castro MSM, Proietti FA. Epidemiologia do HTLV-I/II. Cad. Hemominas - HTLV-I/HTLV-II 2000;11: 53-75.
3. Kaplan J, Khabbaz RF. The epidemiology of human T-lymphotropic virus types I and II. Med Virol 1993;33: 137-48.
4. Halesberg P, Hafler DA. Pathogenesis of disease induced by HTLV-I infection. N Engl J Med 1993;328:1173.
5. Manns A, Blattner WA. The epidemiology of the T-cell lymphotropic virus type I and II: etiologic role in human disease. Transfusion 1991;31:67-75.
6. Sonoda S. Determinantes genéticos e inmunológicos de las enfermedades asociadas con el HTLV-I. In: Zaninovic V, Galindo J, Blank A. Enfermedades asociadas con el virus HTLV-I. Cali: Fundacion MAR. 1992, p.167-76.

7. Blank CM. Aspectos inmunológicos en la infección por HTLV-I. In: Zaninovic V, Galindo J, Blank A. Enfermedades asociadas com el virus HTLV-I. Cali: Fundacion MAR. 1992. P.167-76.
8. Galvão B, Proietti F, Rodrigues L, Franco F, Santana A, Loures L. HTLV-I/II differential geographic distribution in Brazil. In: International Conference on AIDS, 10, 1994.
9. Gabbai AA, Bordin JO, Vieira-Filho JPB, Kuroda A, Oliveira ASB, Cruz MV, Ribeiro AAF, Delaney SR, Henrard DR, Rosario J, Roman GC. Selectivity of human T lymphotropic virus type-I (HTLV-I) and HTLV-II infection among different population in Brazil. Am J Trop Med Hyg 1993;49:664-71.
10. Williams AE, Fang CT, Slamon DJ, Poiesz BJ, Sandler SG, Darr WF, Schulman G, McGowan EI, Douglas DK, Bowman RJ, Peetoom F, Kleinman SH, Lenes BN, Dodd RY. Seroprevalence and epidemiological correlates of HTLV-I infection in US blood donors. Science 1988; 240:643-6.
11. Mueller N. The epidemiology of HTLV-I infection. Cancer Causes Cont 1991;2:37-52.
12. Andrade-Filho AS, Brites C, Santos SRS, Harrington Jr W, Reinhardt ICB, Freitas FMS, Silva MC, Badaró R. HTLV-I/II as a common etiology of myelopathies in Bahia, Bahia. Braz J Med Biol Res 1996;29:757-61.
13. Pombo de Oliveira MS. Leucemia/Linfoma de células T do adulto. In: Zago M, Falcão RP, Pasquini R. Hematologia: fundamentos e prática. São Paulo: Atheneu, 2001. Cap. 63, p. 717-27.
14. Brito-Melo GEA, Martins Filho AO, Carneiro-Proietti ABF, Catalan-Soares B, Ribas LG, Thorum GW, Barbosa-Stancioli EF. Phenotypic study of peripheral blood leucocytes in HTLV-I-infected individuals from Minas Gerais, Brazil. Scan J Immunol 2002;55:621-8.
15. Prince HE, Jensen ER, York J. Lymphocyte subsets in HTLV-II-infected former blood donors: relationship to spontaneous lymphocyte proliferation. Clin Immunol Pathol 1992;65:201-6.
16. Lal RB, Rudolph DL, Schmid DS, Lairmore MD. Concomitant augmentation of CD4+CD29+ helper inducer and diminution of CD4+CD44RA+ suppressor inducer subset in patients infected with human T cell lymphotropic virus types I or II. Clin Exp Immunol 1992;87:293-97.

Recebido: 19/11/2002

Aceito:18/01/2003