



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

Facultad de  
**MEDICINA**

**Evolución de la carga proviral de HTLV-1 hasta 36 meses después del tratamiento antihelmíntico en pacientes coinfectados con *Strongyloides stercoralis***

Evolution of HTLV-1 proviral load up to 36 months after antiparasitic treatment in *Strongyloides stercoralis* coinfecting patients

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
MÉDICO CIRUJANO

AUTOR

Mario Suito Ferrand

ASESOR

Martin Montes Delgado

COASESORA

Elsa Violeta Gonzalez Lagos

LIMA- PERÚ

2024



## **JURADO**

Presidente: Dr. Juan Ignacio Echevarría Zarate  
Vocal: Dr. Carlos Rafael Seas Ramos  
Secretario: Dra. Frine Samalvides Cuba

Fecha de Sustentación: 15 de febrero de 2024

Calificación: Aprobado

## **ASESORES DE TRABAJO DE TESIS**

### **ASESOR**

Dr. Martin Montes Delgado

Departamento Académico de Medicina

ORCID: 0000-0002-7427-347X

### **CO-ASESORA**

Dra. Elsa Violeta Gonzalez Lagos

Departamento Académico de Medicina

ORCID: 0000-0002-8543-8188

## **DEDICATORIA**

Dedicado a mis abuelos Mario, Elena y Patricia a quienes quiero mucho

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a mis padres Mario y Janice quienes me han apoyado durante este arduo proceso, a mis asesores: Dr. Montes y Dra. González quienes me acompañaron y empujaron para finalmente terminar este proyecto.

## **FUENTES DE FINANCIAMIENTO**

El presente estudio ha sido autofinanciado. El estudio primario (The effect of *Strongyloides stercoralis* on HTLV-1 disease progression) que generó la base de datos para este proyecto obtuvo financiamiento del National Institute of Allergy and Infectious Diseases, NIH (grant R01AI136870).

## **DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS**

El autor declara no tener conflictos de interés

## RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD

Evolución de la carga proviral de HTLV-1 hasta 36 meses después del tratamiento antihelmíntico en pacientes coinfectados con *Strongyloides stercoralis*

### INFORME DE ORIGINALIDAD

<b>9%</b>	<b>9%</b>	<b>2%</b>	<b>0%</b>
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

### FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>repositorio.upch.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>3%</b>
<b>2</b>	<b>doku.pub</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>3</b>	<b>cav2017.com</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>4</b>	<b>worldwidescience.org</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1%</b>
<b>5</b>	<b>vdocuments.site</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1%</b>
<b>6</b>	<b>catalonica.bnc.cat</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1%</b>
<b>7</b>	<b>docplayer.es</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1%</b>
<b>8</b>	<b>www.researchgate.net</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1%</b>

## TABLA DE CONTENIDOS

<b><i>I. INTRODUCCIÓN</i></b> .....	<b>1</b>
<b>HTLV-1</b> .....	<b>1</b>
<b>Clonalidad y carga proviral</b> .....	<b>3</b>
<b><i>Strongyloides stercoralis</i> (SS)</b> .....	<b>4</b>
<b>SS- HTLV-1</b> .....	<b>4</b>
<b>Rol de tejido linfoide asociado a mucosas (MALT) gastrointestinal</b> .....	<b>6</b>
<b>Importancia del estudio</b> .....	<b>7</b>
<b><i>II. OBJETIVOS</i></b> .....	<b>8</b>
<b>Objetivo principal:</b> .....	<b>8</b>
<b>Objetivo secundario:</b> .....	<b>8</b>
<b><i>III. MATERIALES Y MÉTODOS</i></b> .....	<b>9</b>
<b>Diseño del estudio</b> .....	<b>9</b>
<b>Descripción del estudio primario</b> .....	<b>9</b>
<b>Población</b> .....	<b>11</b>
<b>Muestra</b> .....	<b>11</b>
<b>Definición operacional de variables</b> .....	<b>12</b>
<b>Procedimientos y técnicas</b> .....	<b>14</b>
<b>Manejo y análisis de datos</b> .....	<b>15</b>
<b>Aspectos éticos del estudio</b> .....	<b>15</b>
<b><i>IV. RESULTADOS</i></b> .....	<b>16</b>
<b>Selección de población de estudio</b> .....	<b>16</b>
<b>Características clínico-epidemiológicas iniciales</b> .....	<b>16</b>
<b>Carga proviral y carga larval inicial</b> .....	<b>17</b>
<b>Evolución de la carga proviral</b> .....	<b>17</b>
<b>Correlación de la carga larval inicial con la carga proviral inicial</b> .....	<b>18</b>
<b>Correlación de la carga larval inicial con la variación de la CPV</b> .....	<b>18</b>
<b><i>V. DISCUSIÓN</i></b> .....	<b>20</b>
<b>Fortalezas y Limitaciones</b> .....	<b>22</b>

<b>VI. CONCLUSIONES .....</b>	<b>24</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>25</b>
<b>VIII. TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS .....</b>	<b>32</b>
<b>IX. ANEXOS .....</b>	<b>38</b>

## RESUMEN

**Antecedentes:** Pacientes con HTLV-1 y *Strongyloides stercoralis* (SS) desarrollan Leucemia/ Linfoma de linfocitos T del adulto (ATLL) a edades más tempranas y presentan mayor carga proviral (CPV) de HTLV-1 que pacientes sin SS. Se desconoce si el efecto de SS sobre la CPV perdura luego de su erradicación. **Objetivo:** Describir la evolución de la CPV luego del tratamiento antihelmíntico y determinar si la variación de la CPV está correlacionada a la carga larval (CL) de SS. **Materiales y métodos:** Análisis de datos secundarios de un estudio observacional, descriptivo y longitudinal que incluyó pacientes con HTLV-1+/SS+. En el análisis principal, evaluamos la CPV y la CL antes y hasta 36 meses después del tratamiento antihelmíntico en 21 casos. **Resultados:** Se observó una CPV inicial elevada (mediana de 436 copias/ 10<sup>4</sup> PBMC's; RIC 341-974, datos disponibles en 19 sujetos), con valores mayores en hombres, mayores de 46 años, con estrongiloidiasis previa, eosinopenia y CL elevada. Tras una elevación inicial de la CPV, se observó una tendencia a la disminución; esta variación fue también mayor en hombres, mayores de 46 años y con estrongiloidiasis previa. Observamos una correlación positiva entre la CL inicial con la CPV inicial (rho de Spearman 0.59), pero no con la variación de CPV. **Conclusiones:** La correlación positiva entre la magnitud de la CL y CPV inicial sugieren que el efecto de SS sobre la infección por HTLV-1 depende de la presencia y magnitud de la infección activa por SS.

**Palabras clave:** *Strongyloides stercoralis*, HTLV-1, Carga proviral, Carga larval

## **ABSTRACT**

**Background:** Patients with HTLV-1 and *Strongyloides stercoralis* (SS) develop Adult T-cell Leukemia/Lymphoma (ATLL) earlier and exhibit a higher proviral load of HTLV-1 than patients without SS. It is unknown whether the effect of SS on the proviral load (PVL) persists after its eradication. **Objective:** To describe the evolution of HTLV-1's proviral load after antihelminthic treatment and determine if the variation in PVL is correlated with the larval load (LL) of SS. **Materials and Methods:** Secondary data analysis of an observational, descriptive, and longitudinal study. A sample of 21 HTLV-1+/SS+ patients was analyzed, evaluating PVL and LL before and up to 36 months after antihelminthic treatment. **Results:** An initial increase followed by a tendency towards decrease of PVL was noted. The decrease was more pronounced in male patients, aged over 46 and with history of strongyloidiasis. A positive correlation was observed between initial PVL and initial LL ( $p < 0.02$ ). No correlation was observed between the variation in PVL and LL load (0.71). **Conclusions:** This study found no evidence that SS has effects on PVL after its eradication. Although no correlation between LL and the variation in PVL was found, the LL and initial PVL were found to be positively correlated. These findings suggest that the effect of SS on the natural history of HTLV-1 infection depends on an active SS infection, and on its magnitude.

**Keywords:** *Strongyloides stercoralis*, HTLV-1, Proviral load, Larval load

## I. INTRODUCCIÓN

### HTLV-1

HTLV-1 es un Retrovirus ARN de cadena simple del género *Deltaretroviridae* y de la familia *Retroviridae* descrito por primera vez en 1979 que afecta a aproximadamente 5-10 millones de individuos a nivel mundial particularmente en regiones tropicales y subtropicales del mundo como América del Sur, Centroamérica, Japón y África occidental (1). El 90% de infectados permanecen asintomáticos. En la minoría sintomática suelen transcurrir décadas desde la infección hasta la aparición de las manifestaciones clínicas (2). Estas manifestaciones pueden ser leves como la dermatitis infecciosa hasta potencialmente mortales como Leucemia/ linfoma de linfocitos T del adulto (ATLL) y la Paraparesia espástica tropical/ mielopatía asociada a HTLV-1 (HAM/TSP) condiciones con un riesgo de desarrollo de 3% y 5% respectivamente (2) (3).

#### Historia natural de la infección

HTLV-1 tiene tres vías de transmisión: vertical, por contacto sexual y por vía parenteral. De estas, la vía de transmisión más asociada al desarrollo de ATLL es la vertical a través de la leche materna (4). La transmisión de HTLV-1 ocurre exclusivamente por contacto directo de célula- célula (5), característica fundamentalmente distinta al otro retrovirus virus de inmunodeficiencia humano (VIH). Por esta característica intrínseca, HTLV-1 aumenta el número de células infectadas *in vivo* a través de la evasión del sistema inmune, la proliferación de células infectadas y la inhibición de la apoptosis. La proliferación celular ocurre por dos

principales mecanismos: 1) ruta infecciosa: transmisión célula- célula de viriones, formando líneas celulares con distintos sitios de inserción del provirus y 2) ruta mitótica: mitosis de células infectadas que forman, en su mayoría, células clonalmente idénticas a la célula original. Durante la primoinfección por HTLV-1 ocurre una gran diseminación de la infección a través de la ruta infecciosa con la formación de aproximadamente 1000 a 100.000 distintas líneas clonales de células infectadas (6). Una vez establecida la infección, la proliferación de las células infectadas ocurre en su gran mayoría por la ruta mitótica. La proliferación mitótica es potenciada principalmente por la expresión de los genes reguladores de HTLV-1 (Tax y HBZ (*HTLV-1* basic leucine zipper)) (7) y por la estimulación antigénica crónica. Si bien la proteína Tax tiene efectos pleiotrópicos, su efecto neto es inducir la proliferación celular. Tax es además una proteína altamente inmunogénica (8) cuya expresión tiende a ser episódica y a disminuir conforme avanza la historia natural de la infección. Recientemente se ha descrito que durante la infección crónica, Tax se expresa en estallidos replicativos inducidos por estrés celular, lo que permite la manutención del reservorio de células infectadas y la evasión de una respuesta citotóxica efectiva. Por el contrario, HBZ es una proteína expresada constitutivamente que principalmente evita la apoptosis y permite la supervivencia de células infectadas en el tiempo (9).

### **Clonalidad y carga proviral**

Luego de la infección inicial, la carga proviral de HTLV-1 aumenta hasta llegar a un pico a partir del cual disminuye (10) hasta un valor estable en el tiempo en portadores asintomáticos (11). Si bien el uso clínico de la carga proviral resulta limitado por carencia de estudios confirmatorios, es el mejor marcador laboratorial de riesgo y severidad disponible para el monitoreo de la infección por HTLV-1, incluyendo la valoración del riesgo de HAM/TSP (12–15) y ATLL (16). La magnitud de la carga proviral depende tanto de la cantidad de líneas clonales presentes en un paciente (policlonalidad) establecidas durante la primoinfección por la ruta infecciosa como de la presencia de un número reducido de líneas clonales altamente prevalentes generadas por la ruta mitótica (oligoclonalidad) (17). Se ha descrito que pacientes coinfectados con SS presentan mayores niveles de carga proviral que pacientes sin SS (18). Asimismo, un estudio reciente analizó el índice de oligoclonalidad y carga proviral en pacientes coinfectados con HTLV-1 y el virus de Hepatitis B (VHB) encontrando mayores niveles de oligoclonalidad en comparación a pacientes sin VHB y una correlación positiva entre el índice de oligoclonalidad y el título de antígeno de superficie de VHB (19). Estos hallazgos sugieren que la estimulación antigénica de linfocitos T infectados por HTLV-1 específicos sería un potencial mecanismo en la proliferación de linfocitos T infectados, y potencialmente, en la progresión a ATLL.

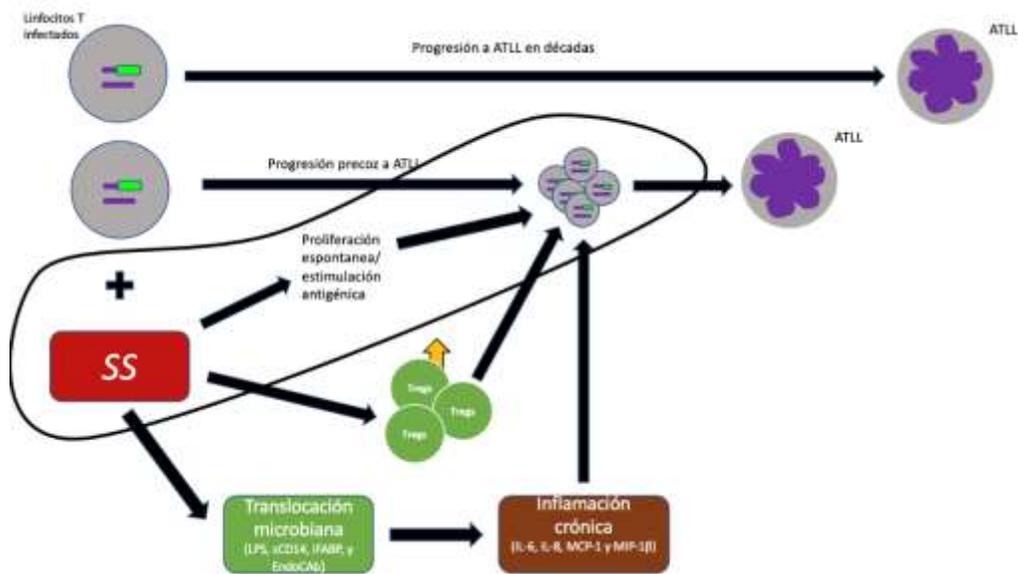
### ***Strongyloides stercoralis* (SS)**

SS es un nemátodo endémico de regiones tropicales y subtropicales del mundo con 50-100 millones de casos estimados (20). El ciclo biológico de SS se caracteriza por un ciclo de vida libre y otro parasítico. Larvas filariformes, el estadio infectante, ingresan al hospedero al penetrar áreas de piel expuestas, migran por el sistema circulatorio hasta los pulmones donde ingresan y ascienden por el tracto respiratorio hasta ser deglutidas y llegar al tracto gastrointestinal donde maduran al estadio adulto hembra. La hembra adulta reside en la mucosa intestinal y se reproduce liberando larvas rabditoides al lumen las cuales tienen la capacidad de madurar dentro del hospedero y autoinfectarlo (21). Aproximadamente el 50% de infectados con SS permanecen asintomáticos. Las manifestaciones clínicas suelen ser síntomas gastrointestinales leves y/o eosinofilia. Sin embargo, pacientes inmunosuprimidos, especialmente coinfectados con HTLV-1 y/o en corticoterapia, pueden presentar dos tipos de cuadros severos con tasas de mortalidad de 85-100% : síndrome de hiperinfección y estrongiloidiasis diseminada (21).

### **SS- HTLV-1**

HTLV-1 y SS comparten muchas de las mismas zonas endémicas incluyendo casi todo el territorio Sudamericano (22,23). Se ha identificado una relación entre ambos patógenos en la cual la frecuencia y severidad de las manifestaciones clínicas de uno aumenta ante la presencia del otro. Pacientes con HTLV-1 coinfectados con SS presentan ATLL más precozmente que pacientes no coinfectados (edad media: 39 vs 70 años) (24).

Para la progresión temprana a ATLL, se han propuesto tres posibles mecanismos (Figura 1): 1) La coinfección mediante estimulación antigénica crónica aumentaría el número de células infectadas por HTLV-1, lo que conllevaría, a través del aumento de la expresión de las proteínas Tax y HBZ, a la acumulación de mutaciones oncogénicas y la transformación maligna temprana. 2) La coinfección aumentaría la proporción de linfocitos T reguladores (Tregs) los cuales suprimirían la respuesta T citotóxica específica contra las proteínas víricas Tax y HBZ. 3) La infección por SS promovería la translocación microbiana generando un estado de inflamación crónica siendo este un estado pro- oncogénico (25). Se ha descrito que pacientes coinfectados con SS tienen mayores niveles de carga proviral que pacientes monoinfectados por HTLV-1 (18). En el mismo estudio, se analizó la carga proviral de dos pacientes coinfectados a los 12 meses de la detección de la infección por SS: uno presentó erradicación de la infección por SS, el otro paciente persistió con la parasitosis (18). A los 12 meses, el paciente con erradicación de SS presentó una disminución significativa de la carga proviral, mientras que el paciente con persistencia de la estrongiloidiasis presentó un aumento significativo de la coinfección. Sin desconocer las limitaciones ante el muy limitado número de casos de tal reporte (18), estos hallazgos sugieren que la infección activa por SS es requerida para el aumento de la carga proviral.



**Figura 1:** Esquema representativo de los mecanismos propuestos para la progresión precoz a ATLL. Tregs: Linfocitos T reguladores. ATLL: Linfoma-Leucemia de Linfocitos T del adulto

### **Rol de tejido linfoide asociado a mucosas (MALT) gastrointestinal**

Con la información mencionada previamente emerge la interrogante de por qué la única coinfección asociada a progresión precoz a ATLL es SS. Más del 90% de células infectadas por HTLV-1 son linfocitos T de memoria (Tm) (26) de los cuales una fracción significativa se encuentra en la tejido linfoide asociado a mucosa (MALT) del tracto gastrointestinal (27) como linfocitos T de memoria residentes (Tmr). Estos Tmr tienen la capacidad tanto de proliferar ante estimulación antigénica (28) como de migrar de los tejidos periféricos a los tejidos linfoides secundarios (29,30). Nuestro grupo de estudio ha descrito previamente el efecto a nivel del tejido gastrointestinal de la coinfección HTLV-1/SS en la cual HTLV-1 disminuye el número de eosinófilos y

células IgE (+) circundantes a SS, así como un aumento del número de linfocitos T reguladores circulantes (31). En este estudio, reconociendo que HTLV-1 causa efectos a nivel local sobre la respuesta inmune contra SS, **nosotros planteamos como hipótesis de investigación que SS induciría, mediante estimulación antigénica crónica en el MALT, la proliferación de linfocitos Tmr infectados por HTLV-1 lo cual se traduciría en una correlación en el tiempo entre los niveles de la carga proviral con la presencia de infección por SS.** El objetivo de investigación es describir la carga proviral de HTLV-1 antes y hasta 36 meses después del tratamiento antihelmíntico y correlacionar la CPV y la variación de la CPV con la carga larval, en una población de pacientes coinfectados con SS/HTLV-1.

### **Importancia del estudio**

Si bien escasos reportes han descrito que pacientes con HTLV-1 coinfectados con SS tienen mayores niveles de carga proviral, se desconoce si el efecto es exclusivo al tiempo de la infección activa por SS o si los efectos de la estimulación antigénica crónica perduran luego de la erradicación de la infección por SS. Nuestro estudio permitirá entender mejor la evolución natural de la carga proviral de HTLV-1 luego de la erradicación de la infección por SS. Ampliar el conocimiento sobre los efectos que tiene SS a largo plazo, incluso luego de su erradicación, en personas con infección por HTLV-1 permitirá elaborar posibles intervenciones de tamizaje, diagnósticas y/o terapéuticas para mitigar el riesgo a la progresión de ATLL.

## II. OBJETIVOS

**Objetivo principal:** Describir la variación de la CPV de HTLV-1 en pacientes coinfectados con SS antes y hasta 36 meses después del tratamiento antihelmíntico.

**Objetivo secundario:** En pacientes coinfectados con HTLV-1 y SS, correlacionar la carga larval inicial de SS con (i) la carga proviral inicial (antes del tratamiento antihelmíntico) y (ii) la variación de la carga proviral de HTLV-1 antes y después del tratamiento antihelmíntico.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **Diseño del estudio**

El presente es un estudio de análisis de datos secundarios de un estudio primario de diseño observacional, descriptivo y longitudinal (“El efecto *de Strongyloides stercoralis* en la progresión de la infección por HTLV-1” ; código SIDISI 101272).

#### **Descripción del estudio primario**

El estudio primario, liderado por el Dr. Martin Montes, se realizó entre los años 2017-2023 con el objetivo de describir los efectos de la coinfección por *Strongyloides stercoralis* en la progresión de la enfermedad por HTLV-1. Los objetivos específicos fueron: 1) probar la hipótesis que SS aumenta la carga proviral por HTLV-1, que incrementa el número de células infectadas y que conlleva a la progresión maligna temprana de linfocitos T CD4 infectados 2) probar la hipótesis de que la progresión temprana a ATLL involucra 1 o más de los siguientes 3 mecanismos: A) linfoproliferación de células infectadas por HTLV-1 (secundario a incremento de la carga proviral y/o estimulación antigénica) B) Translocación bacteriana 3) Expansión de linfocitos T reguladores. Para esto se planeó reclutar 25-50 pacientes por año que cumplieren los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

#### Criterios de inclusión

- Infección por *Strongyloides stercoralis*
- 18-65 años de edad
- Serología positiva para HTLV-1

- Firmar el consentimiento informado aprobado por CIE

#### Criterios de exclusión

- Infección por VIH

Los participantes fueron reclutados del servicio de consulta ambulatoria y de hospitalización del Departamento de Enfermedades Infecciosas y Tropicales del Hospital Cayetano Heredia.

El diagnóstico de infección por *Strongyloides stercoralis* se basó en una muestra de heces positiva a través del método de Baermann (microscopia directa) o por cultivo mediante Agar Plate Culture (APC). En todos los participantes con tal diagnóstico se realizó cuantificación de la carga larval usando el método de concentración y microscopia directa de Baermann modificado en copa y se complementó con un coprocultivo. Este procedimiento se repitió en cada visita de control, las cuales se programaron a las 2 semanas, 1 mes, 2 meses, 3 meses, 6 meses y luego cada 6 meses hasta la culminación del estudio.

En el caso de participantes con HTLV-1 se realizó la medición de carga proviral en la primera visita y luego se repitió en los controles de 2 semanas, 1 mes, 3 meses, 6 meses y luego cada 6 meses hasta la culminación del estudio. Para la cuantificación de la carga proviral se realizó la prueba de reacción en cadena de polimerasa en tiempo real (qPCR) SYBR Green cuyo método se encuentra descrito en el Anexo 2.

Todos los procedimientos de laboratorio previamente descritos fueron realizados por personal calificado en laboratorios del Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt (IMT AvH).

Todos los participantes recibieron el mismo tratamiento antihelmíntico: Ivermectina 200mcg/kg/ día vía oral por 2 días repetido dos semanas después (en la primera visita control de las 2 semanas). Dado que cierto periodo del estudio coincidió con la pandemia, durante las visitas se obtuvo información sobre consumo adicional de ivermectina.

### **Población**

Nuestro estudio analizó datos sobre carga proviral y carga larval de la base de datos del estudio primario (código SIDISI 101272). No se tuvo contacto directo con ningún participante.

Para este estudio, se mantuvieron los criterios de inclusión del estudio primario. El único criterio de exclusión adicional fue que los pacientes no hubieran accedido al almacenamiento y uso futuro de las muestras obtenidas.

### **Muestra**

Se analizaron datos sobre carga larval y carga proviral de pacientes coinfectados con HTLV-1 y SS de la base de datos del estudio primario SIDISI 101272 hasta los 36 meses de seguimiento.

### Muestreo

El muestreo utilizado fue de tipo no probabilístico por conveniencia analizándose los registros de todos los pacientes que formaron parte del estudio SIDISI 101272 que cumplieren con los criterios de inclusión y exclusión previamente mencionados.

### Tamaño muestral

Se seleccionaron a todos los registros de pacientes con HTLV-1 y SS reclutados por el estudio principal que contasen con  $\geq 1$  medición de CPV  $> 0$  copias/  $10^4$  PBMC's.

## **Definición operacional de variables**

### Enfermedades asociadas a HTLV-1

- Definición operacional: infecciones severas (síndrome de hiperinfección o estrongiloidiasis diseminada), paraparesia espástica tropical/ mielopatía asociada a HTLV-1 (HAM-TSP), leucemia- linfoma de linfocitos T del adulto (ATLL).
- Variable: Categórica politómica en escala de medición ordinal
- Registro: digital

### Infección por HTLV-1

- Definición operacional: Enzimoimmunoanálisis (EIA) reactivo para HTLV-1 confirmado vía Western Blot
- Variable :Categórica dicotómica en escala de medición nominal
- Registro: Digital

### Infección por *Strongyloides stercoralis*

- Definición operacional: Método de sedimentación de Baermann modificado en copa por Lumbreras y/o cultivo de heces en agar positivo para *Strongyloides stercoralis*.
- Variable: Categórica dicotómica en escala de medición nominal
- Registro: Digital

### Carga proviral

- Definición operacional: número de copias de ADN de HTLV-1 sobre un número fijo de PMBC's medido mediante la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativo (qPCR) mediante SYBR Green I dye como registro fluorescente entre dos tiempos de medición determinados. La medición de la CPV es utilizada ampliamente con fines de investigación, pero su aplicación clínica es hasta la fecha es limitada por complejidad en el procesamiento y variabilidad inter e intra-laboratorial (32).
- Variable: Cuantitativa continua, en escala de medición de intervalo
- Registro: Digital

### Carga larval

- Definición operacional: Número de larvas por campo de muestra en heces mediante el método de concentración y microscopia directa de Baermann modificado en copa.
- Variable: cuantitativa discreta en escala de medición de intervalo

- Registro: Digital

### **Procedimientos y técnicas**

#### **Objetivo principal**

Se describió la CPV y la variación de la CPV de HTLV-1 antes y hasta 36 meses después del tratamiento antihelmíntico mediante medidas de resumen y de dispersión. Se emplearon gráficos de cajas y bigotes tanto en la muestra total como en subgrupos definidos por las siguientes variables de interés: sexo, edad, estrongiloidiasis previa, eosinopenia ( $< 50$  cel/mL) y carga larval.

#### **Objetivo secundario**

Se representó la CL inicial mediante un gráfico de cajas y bigotes. Luego, se correlacionó la CL inicial con (i) la CPV inicial y (ii) con la variación de la CPV entre hasta los 12 meses. Para determinar la correlación entre los niveles de CPV y CL se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman. Utilizamos una matriz de correlación para la representación gráfica de las unidades de análisis. Se consideró un nivel de significancia ( $\alpha < 0.05$ ) como estadísticamente significativo.

Todas las pruebas y mediciones estadísticas se realizaron utilizando el Software Stata/BE v 18 (licencia personal).

### **Manejo y análisis de datos**

La información clínica y de laboratorio fue obtenida de una base de datos en la cual la información fue codificada. No se incluyeron los nombres y datos de los participantes presentes en las bases de datos que pudiesen identificarlos fuera del estudio. La base de datos fue manejada exclusivamente por los investigadores y personal autorizado..

### **Aspectos éticos del estudio**

Este protocolo fue presentado y aprobado por el Comité Institucional de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH). El análisis de la información recolectada se realizó en computadoras del Instituto de Medicina Tropical AvH a las cuales se pudo acceder únicamente con códigos personales de los investigadores correspondientes.

El protocolo y consentimientos del estudio primario (SIDISI 101272), fueron también revisados y aprobados por el Comité Institucional de Ética de la UPCH . El consentimiento informado original del estudio primario SIDISI 101272 se encuentra en el Anexo 1.

## **IV. RESULTADOS**

### **Selección de población de estudio**

En el estudio primario (SIDISI 101272) se identificaron 21 registros de pacientes con coinfección SS+/HTLV-1+ . De ellos, 5 ( 23%) presentaron por lo menos 4 mediciones de carga proviral que incluían los tiempo 0-2s, 1-3m, 6-12m o 24-36 meses; 14 (67%) presentaron entre 1 a 3 mediciones de carga proviral; un paciente no presentó ninguna medición de carga proviral y un paciente presentó 3 mediciones de carga proviral de 0 copias/  $10^4$  PBMC's , situación que cuestionaba el status de infección por HTLV-1. Por estos motivos, se decidió retirar a estos dos últimos pacientes del análisis quedando 19 para los análisis de interés (figura 1).

### **Características clínico-epidemiológicas iniciales**

De los 19 pacientes analizados, 11 fueron hombres (58%) y 9 mujeres (42%) (tabla 1). La mediana de la edad fue 46 (RIQ 29-51); ninguno presentó ATLL al momento del diagnóstico o durante el seguimiento. Cinco pacientes presentaron HAM/TSP al momento del inicio del tratamiento antihelmíntico y dos pacientes presentaron estrongiloidiasis severa. El promedio de hemoglobina antes del tratamiento antihelmíntico fue de 12.59 mg/dL (DE 2.36), la mediana de leucocitos 7100 cel/mL (RIQ 5600-9400), la mediana de linfocitos 2020 cel/mL (RIQ 1460-2570) y la mediana de eosinófilos 140 cel/mL (RIQ 278-600). Ningún paciente se automedicó con Ivermectina durante la pandemia COVID-19.

### **Carga proviral y carga larval inicial**

La medición de CPV inicial (0s) estuvo disponible en 14 de 19 pacientes, encontrándose una mediana de 436 copias/  $10^4$  PBMC's) (RIC 341-974) (figura 2). La mediana de CL inicial (disponible en 18 de 19 pacientes) fue 19.5 larvas/gramos (RIC 12-27) (figura 3); un paciente presentó un valor extremo de 8700 larvas/ gramo. Clínicamente este paciente presentó diarrea y dolor abdominal, mas no hallazgos sugerentes de estrongiloidiasis severa.

Observamos que la mediana de CPV fue mayor en hombres ( 513 copias/ $10^4$  PBMC's (441-1029) vs. 341 (331-974) en mujeres), en menores de 46 años (974 (341-993) vs. 436 (357-513) en mayores de 46 años) y en pacientes con eosinopenia (727 (481-974) vs 431 (333-993) en pacientes con recuentos normales de eosinófilos. Asimismo, la CL inicial fue mayor en mujeres, en pacientes mayores de 46 años y en pacientes con eosinopenia (tabla 2). No hubo diferencias notables tanto en CPV y CL según el antecedente de estrongiloidiasis. Por ultimo describimos la CPV inicial según la carga CL, definiendo como elevada valores por encima de la mediana calculada (19.5 larvas/gramos). Observamos que pacientes con CL elevada presentaron una mediana de CPV mayor que pacientes con CL no elevada (figura 4).

### **Evolución de la carga proviral**

En la Figura 5 se puede apreciar la carga proviral en los puntos de medición de 0, 2, 4, 12 y 24 semanas post. tratamiento antihelmíntico. Si bien no se dispuso de mediciones completas, observamos un aumento de la mediana de CPV a las 2 semanas lo cual se

mantuvo hasta las 12 semanas de seguimiento, luego de lo cual presentó una tendencia a disminuir a las 24 semanas. Estas observaciones no variaron al retirar a los dos pacientes con estrongiloidiasis severa (figura 6). Esta tendencia se volvió a observar al analizar la variación de la CPV basal con la última medición disponible por paciente obteniendo una mediana de variación de 9 copias/ $10^4$  PBMC's (figura 7).

Al analizar la variación de CPV en los puntos de medición de 0, 2, 4, 12 y 24 semanas post. tratamiento antihelmíntico según sexo, edad y estrongiloidiasis previa, la variación fue mayor en pacientes de sexo masculino, en mayores de 46 años y en pacientes con antecedente de estrongiloidiasis (tabla 3).

#### **Correlación de la carga larval inicial con la carga proviral inicial**

La figura 8 grafica la matriz de correlación entre los valores iniciales de carga proviral y carga larval. La correlación fue moderada (rho de Spearman de 0.59, p 0.02).

#### **Correlación de la carga larval inicial con la variación de la CPV**

Dado el limitado número de mediciones de CPV luego de los 12 meses, para evaluar la correlación entre la carga larval inicial y la variación de carga proviral por paciente se consideraron como valores iniciales de CPV las mediciones (0, 2s) y como valores finales de CPV la última medición disponible hasta los 12 meses. No se observó correlación, con un rho de Spearman fue de (-)0.1, p 0.76. El gráfico de la matriz de dispersión se muestra en la figura 8.

Hasta el término del seguimiento, dos de 19 pacientes presentaron un segunda muestra en heces con SS luego de lo cual recibieron nuevamente tratamiento antihelmíntico.

## V. DISCUSIÓN

Los hallazgos principales de este estudio son compatibles con la hipótesis inicial: SS induciría la proliferación de linfocitos infectados por HTLV-1, lo cual sería dependiente de la presencia de infección activa de SS.

En pacientes con HTLV-1 inicialmente coinfectados con SS, el aumento más notorio de la CPV ocurrió durante el tratamiento antihelmíntico (a las dos semanas de las primeras dosis de Ivermectina), previamente a las segundas dosis. Tal aumento se mantuvo hasta las 12 semanas de seguimiento y partir de entonces se observó una tendencia a la disminución. El aumento inicial de CPV podría corresponder a la liberación antigénica masiva relacionada con el efecto antiparasitario de la Ivermectina; este fármaco induce la parálisis y subsecuente eliminación del parásito por el sistema inmune gracias a la respuesta celular tipo Th2 mediada principalmente por eosinófilos (35). Precisamente la tendencia a disminuir a las 24 semanas es compatible con la interrupción de la fase de estimulación antigénica inicial: tras el tratamiento antihelmíntico eficaz, ya erradicado SS, se interrumpirían sus efectos sobre la carga proviral a través de la proliferación de células infectadas por HTLV-1.

HTLV-1 es un factor de riesgo para el desarrollo de estrongiloidiasis severa (42) por lo que un ciclo vicioso de potenciación mutua puede estar en el centro de la patogénesis de las complicaciones de ambas infecciones. En tal sentido, la correlación positiva entre los valores de carga larval y carga proviral iniciales, hallazgo que, hasta donde conocemos, no ha sido previamente descrito, contribuye también a la plausibilidad de la hipótesis inicial, incluso si en nuestra muestra de estudio, el número de casos con

formas severas de estrongiloidiasis fue limitado y no afectó al caso con valor extremo de carga larval inicial. Ya que la estrongiloidiasis severa habitualmente involucra mayores niveles de carga larval, corresponde mencionar múltiples reportes de casos de ATLL en personas con tal antecedente o comorbilidad (39–41). La información epidemiológica indica además una presentación de ATLL a edades más tempranas en regiones con SS. Estas observaciones previas, junto a nuestros hallazgos, sugieren que el efecto de SS sobre la proliferación de células infectadas por HTLV-1 y el riesgo de progresión a ATLL dependería no solo del tiempo sino también de la magnitud de la infección por SS.

Dado que todos los pacientes analizados tuvieron resultados negativos para SS en las muestras de heces en la primera visita control, antes de la tercera y cuartas dosis de tratamiento antihelmíntico, la ausencia de una correlación entre la carga larval inicial y la variación de la carga proviral desde la medición inicial (0, 2s) hasta 12 meses luego del tratamiento antihelmíntico, igualmente sugiere el cese del impacto de SS sobre la magnitud de la carga proviral luego de la erradicación de la parasitosis. El reciente estudio de efectividad de Ivermectina en estrongiloidiasis de Buonfrate et al. (2019) sostuvo que en pacientes con estrongiloidiasis no severa la respuesta a tratamiento fue igual en pacientes con una sola dosis comparado a cuatro dosis (38).

En cuanto a otros resultados, la carga proviral inicial de pacientes coinfectados con SS/HTLV-1 fue elevada, considerando un valor alto como  $> 1\%$  en las células mononucleares de sangre periférica (PBMC's). Aunque la literatura es limitada, esta

observación es compatible con reportes previos (33). Asimismo, se observó que los pacientes de sexo masculino presentaron valores mayores de CPV que pacientes de sexo femenino. Este hallazgo es compatible con la descripción de que son los hombres quienes tienen mayor riesgo de progresar a ATLL en comparación a mujeres (34) Asimismo se observó que pacientes con eosinopenia presentaron mayor CPV y mayor CL que pacientes con recuento eosinofílico normal. Montes et al. describió que pacientes con SS con HTLV-1 presentan menores niveles de IL-5 luego de estimulación antigénica, interleucina esencial en el desarrollo y funcionamiento de los eosinófilos (34).

### **Fortalezas y Limitaciones**

Este estudio cuenta con múltiples fortalezas. En primer lugar, el estudio primario del cual obtuvimos los datos es el primero en describir una cohorte de pacientes con SS y HTLV-1 de manera secuencial y longitudinal con múltiples mediciones durante el seguimiento. A diferencia de estudios previos en los que se ha descrito de manera cualitativa o semicuantitativa la carga larval, en este estudio dispusimos de una medición cuantitativa de la misma. En cuanto a las limitaciones del estudio no contamos con las mediciones de carga proviral en cada punto de corte para todos los pacientes evaluados, pues la concurrencia del estudio primario con la pandemia por COVID-19 en los años 2020-2022 generó limitaciones para el cumplimiento de visitas de seguimiento para la evaluación de la carga proviral, carga larval y evaluación clínica.

En resumen, los hallazgos tanto en la variación de la carga proviral como en la ausencia de una correlación entre la magnitud de la carga larval con la variación de la carga proviral sugieren que el efecto patogénico de *Strongyloides stercoralis* sobre la dinámica de la proliferación celular en células infectadas por HTLV-1, reflejado mediante la carga proviral, depende de la presencia de una infección activa de *Strongyloides stercoralis*. Asimismo, la correlación entre la CL y CPV inicial sugiere que el efecto SS aparte de ser tiempo dependiente, es magnitud dependiente.

Nuestros hallazgos son relevantes pues indicarían que tratar la infección por SS no solamente es de importancia para disminuir sintomatología, mejorar calidad de vida y disminuir las complicaciones propias de la infección por SS, sino que potencialmente contribuiría a disminuir los riesgos asociados con el desarrollo temprano a ATLL mediados por la estimulación antigénica crónica por SS. Es importante mencionar que dado el carácter descriptivo del estudio y en ausencia de exploración de mecanismos biológicos específicos, los hallazgos ni descartan ni confirman la posibilidad de los otros mecanismos propuestos como potenciales explicaciones de la progresión precoz a ATLL en pacientes con HTLV-1 coinfectados con SS.

## **VI. CONCLUSIONES**

En pacientes con HTLV-1, el efecto de *Strongyloides stercoralis* sobre la proliferación celular, reflejado mediante la variación de la carga proviral, sería dependiente de la actividad y magnitud de la infección por *Strongyloides stercoralis*. Nuestros hallazgos sugieren que la estimulación antigénica crónica por *Strongyloides stercoralis* sobre las células infectadas por HTLV-1 sería uno de los potenciales mecanismos y que dependería de una infección activa por SS. Este estudio sienta las bases para sustentar la ampliación de futuras investigaciones que examinen a profundidad las variables mencionadas.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gessain A, Cassar O. Epidemiological aspects and world distribution of HTLV-1 infection. Vol. 3, *Frontiers in Microbiology*. Frontiers Research Foundation; 2012.
2. Murphy EL, Figueroa JP, Gibbs WN, Lofters WS, Camp Bell M, Goedert JJ, et al. Modelling the risk of Adult T- Cell Leukemia/ Lymphoma in Persons infected with Human T- Lymphotropic Virus Type I. Vol. 43, *Int. J. Cancer*. 1989.
3. Orland JR, Engstrom; J, Fridey ; J, Sacher ; R A, Smith ; J W, Nass ; C, et al. Prevalence and clinical features of HTLV neurologic disease in the HTLV Outcomes Study. 2003.
4. Cleghorn FR, Manns A, Falk R, Hartge P, Hanchard B, Jack N, et al. Effect of Human T-Lymphotropic Virus Type I Infection on Non-Hodgkin's Lymphoma Incidence [Internet]. Disponible en: <http://jnci.oxfordjournals.org/>
5. Bard. E, Hamelin B, Fairbanks RG, Zindler A, Bard; E. Spread of HTLV-I Between Lymphocytes by Virus-Induced Polarization of the Cytoskeleton. 24 A F Fanning, A J Weaver, *Paleoceanogr* [Internet]. 1990;345(2):962. Disponible en : [www.sciencemag.org](http://www.sciencemag.org)
6. Melamed A, Fitzgerald TW, Wang Y, Ma J, Birney E, Bangham CRM. Selective clonal persistence of human retroviruses in vivo: radial chromatin organization, integration site and host transcription. Disponible en: <https://doi.org/10.1101/2021.11.10.467892>

7. Jeang KT, Giam CZ, Majone F, Aboud M. Life, death, and tax: Role of HTLV-I oncoprotein in genetic instability and cellular transformation. Vol. 279, Journal of Biological Chemistry. 2004. p. 31991–4.
8. Grassmann R, Aboud M, Jeang KT. Molecular mechanisms of cellular transformation by HTLV-1 Tax. *Oncogene*. 2005 Sep 5;24(39):5976–85.
9. Philip S, Zahoor MA, Zhi H, Ho YK, Giam CZ. Regulation of Human T-Lymphotropic Virus Type I Latency and Reactivation by HBZ and Rex. *PLoS Pathog*. 2014;10(4).
10. Manns A, Miley WJ, Wilks RJ, St Morgan OC, Hanchard B, Wharfe G, et al. Quantitative Proviral DNA and Antibody Levels in the Natural History of HTLV-I Infection [Internet]. Disponible en: <https://academic.oup.com/jid/article/180/5/1487/802154>
11. Kubota R, Fujiyoshi T, Izumo S, Yashiki S, Maruyama I, Osame M, et al. Fluctuation of HTLV-I proviral DNA in peripheral blood mononuclear cells of HTLV-I-associated myelopathy. Vol. 42, *Journal of Neuroimmunology*. 1993.
12. Olindo S, Lézin A, Cabre P, Merle H, Saint-Vil M, Kaptue ME, et al. HTLV-1 proviral load in peripheral blood mononuclear cells quantified in 100 HAM/TSP patients: A marker of disease progression. *J Neurol Sci*. 2005 Oct 15;237(1–2):53–9.
13. Takenouchi N, Yamano Y, Usuku K, Osame M, Izumo S. Usefulness of proviral load measurement for monitoring of disease activity in individual patients with human T-lymphotropic virus type I-associated myelopathy/tropical spastic

- paraparesis. Vol. 9, *Journal of NeuroVirology*. Taylor and Francis Ltd.; 2003. p. 29–35.
14. Matsuzaki T, Nakagawa M, Nagai M, Usuku K, Higuchi I, Arimura K, et al. HTLV-I proviral load correlates with progression of motor disability in HAM/TSP: Analysis of 239 HAM/ TSP patients including 64 patients followed up for 10 years. Vol. 7, *Journal of NeuroVirology*. 2001.
  15. Talledo M, López G, Huyghe JR, Verdonck K, Adai V, González E, et al. Evaluation of host genetic and viral factors as surrogate markers for HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis in peruvian HTLV-1-infected patients. *J Med Virol*. 2010;82(3):460–6.
  16. Akbarin MM, Shirdel A, Bari A, Mohaddes ST, Rafatpanah H, Karimani EG, et al. Evaluation of the role of TAX, HBZ, and HTLV-1 proviral load on the survival of ATLL patients. *Blood Res*. 2017;52(2):106–11.
  17. Gillet NA, Malani N, Melamed A, Gormley N, Carter R, Bentley D, et al. The host genomic environment of the provirus determines the abundance of HTLV-1-infected T-cell clones. 2011; Disponible en: [www.bloodjournal.org](http://www.bloodjournal.org)
  18. Gabet AS, Mortreux F, Talarmin A, Plumelle Y, Leclercq I, Leroy A, et al. High circulating proviral load with oligoclonal expansion of HTLV-1 bearing T cells in HTLV-1 carriers with strongyloidiasis. Disponible en: [www.nature.com/onc](http://www.nature.com/onc)
  19. Turpin J, Yurick D, Khoury G, Pham H, Locarnini S, Melamed A, et al. Impact of Hepatitis B Virus Coinfection on Human T-Lymphotropic Virus Type 1 Clonality in an Indigenous Population of Central Australia. *Journal of Infectious Diseases*. 2019 Jan 29;219(4):562–7.

20. Puthiyakunnon S, Boddu S, Li Y, Zhou X, Wang C, Li J, et al. Strongyloidiasis—An Insight into Its Global Prevalence and Management. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(8).
21. Carvalho EM, Da Fonseca Porto A. Epidemiological and clinical interaction between HTLV-1 and *Strongyloides stercoralis*. *Parasite Immunol*. 2004;26(11–12):487–97.
22. Chieffi PP, Chiattoni CS, Feltrim N, Alves RC, Paschoalotti MA. Coinfection by *Strongyloides stercoralis* in Blood Donors Infected with Human T-Cell Leukemia/Lymphoma Virus Type 1 in São Paulo City, Brazil. Vol. 95, *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*.
23. Saito A. Strongyloidiasis: Epidemiology, Clinical Manifestations and New Methods for Diagnosis and Treatment. Vol. 1, Review Article *J Infect Chemother*. 1995.
24. Plumelle Y, Gonin C, Edouard A, Bucher BJ, Thomas L, Brebion A, et al. Effect of *Strongyloides stercoralis* Infection and Eosinophilia on Age at Onset and Prognosis of Adult T-Cell Leukemia [Internet]. Vol. 107, Original Article) *Am J Clin Pathol*. 1997. Disponible en: <http://ajcp.oxfordjournals.org/>
25. Grivennikov SI, Karin M. Inflammation and oncogenesis: a vicious connection. Vol. 20, *Current Opinion in Genetics and Development*. 2010. p. 65–71.
26. Richardson JH, Edwards AJ, Cruickshank JK, Rudge P, Dalglish AG. In Vivo Cellular Tropism of Human T-Cell Leukemia Virus Type 1. *JOURNAL OF VIROLOGY*. 1990.

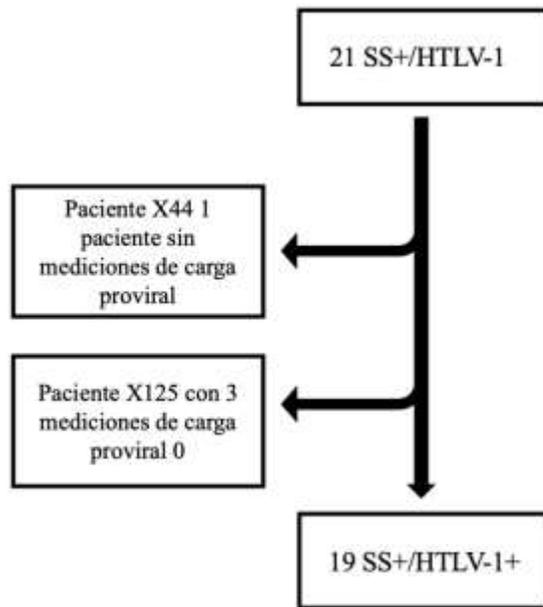
27. Preza GC, Yang OO, Elliott J, Anton PA, Ochoa MT. T lymphocyte density and distribution in human colorectal mucosa, and inefficiency of current cell isolation protocols. *PLoS One*. 2015 Apr 9;10(4).
28. Park SL, Zaid A, Hor JL, Christo SN, Prier JE, Davies B, et al. Local proliferation maintains a stable pool of tissue-resident memory T cells after antiviral recall responses article. *Nat Immunol*. 2018 Feb 1;19(2):183–91.
29. Beura LK, Wijeyesinghe S, Thompson EA, Macchietto MG, Rosato PC, Pierson MJ, et al. T Cells in Nonlymphoid Tissues Give Rise to Lymph-Node-Resident Memory T Cells. *Immunity*. 2018 Feb 20;48(2):327-338.e5.
30. Fonseca R, Beura LK, Quarnstrom CF, Ghoneim HE, Fan Y, Zebley CC, et al. Developmental plasticity allows outside-in immune responses by resident memory T cells. *Nat Immunol*. 2020 Apr 1;21(4):412–21.
31. Malpica L, Clinton White A, Leguia C, Freundt N, Barros N, Chian C, et al. Regulatory T cells and IgE expression in duodenal mucosa of *Strongyloides stercoralis* and Human T lymphotropic virus type 1 co-infected patients. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019 Jun 1;13(6).
32. Kamihira S, Yamano Y, Iwanaga M, Sasaki D, Satake M, Okayama A, et al. Intra- and inter-laboratory variability in human T-cell leukemia virus type-1 proviral load quantification using real-time polymerase chain reaction assays: A multi-center study. *Cancer Sci*. 2010 Nov;101(11):2361–7.
33. Montes M, Sanchez C, Verdonck K, Lake JE, Gonzalez E, Lopez G, et al. Regulatory T cell expansion in HTLV-1 and strongyloidiasis co-infection is

- associated with reduced IL-5 responses to *Strongyloides stercoralis* antigen. *PLoS Negl Trop Dis*. 2009;3(6):4–11.
34. Montes M, Sanchez C, Verdonck K, Lake JE, Gonzalez E, Lopez G, et al. Regulatory T cell expansion in HTLV-1 and strongyloidiasis co-infection is associated with reduced IL-5 responses to *Strongyloides stercoralis* antigen. *PLoS Negl Trop Dis*. 2009;3(6).
35. Ômura S. Ivermectin: 25 years and still going strong. Vol. 31, *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2008. p. 91–8.
36. Nilla Olavarria V, Nascimento Gomes A do, de Almeida Kruschewsky R, Galvão-Castro B, Rios Grassi MF. Evolution of HTLV-1 proviral load in patients from Salvador, Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2012 Jul;16(4):357–60.
37. Cook LBM, Melamed A, Demontis MA, Laydon DJ, Fox JM, Tosswill JHC, et al. Rapid dissemination of human T-lymphotropic virus type 1 during primary infection in transplant recipients. *Retrovirology*. 2016 Jan 8;13(1).
38. Buonfrate D, Salas-Coronas J, Muñoz J, Maruri BT, Rodari P, Castelli F, et al. Multiple-dose versus single-dose ivermectin for *Strongyloides stercoralis* infection (Strong Treat 1 to 4): a multicentre, open-label, phase 3, randomised controlled superiority trial. *Lancet Infect Dis*. 2019 Nov 1;19(11):1181–90.
39. Lage LA de PC, Costa R de O, Mariano LCB, Xavier EM, Pereira J. Resistant and disseminated strongyloides stercoralis infection in a young patient with adult T-cell leukemia/lymphoma. Vol. 34, *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2012. p. 464–6.

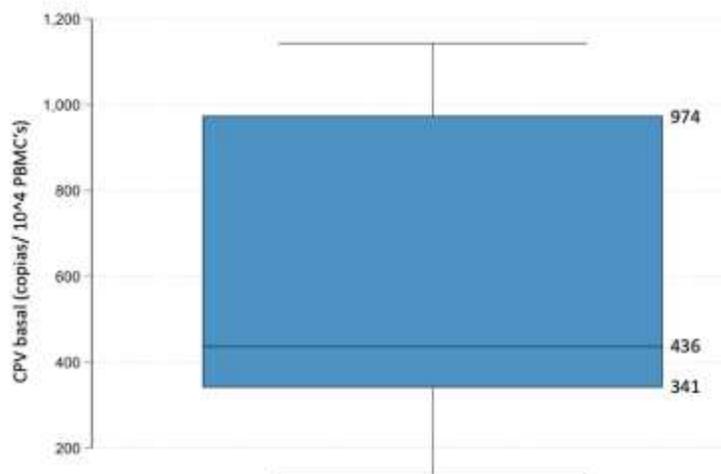
40. Kwon R, Duffield AS. HTLV-1-associated adult T-cell leukemia/lymphoma with disseminated strongyloidiasis. Vol. 133, Blood. American Society of Hematology; 2019. p. 2623.
41. Guérin E, Poirier P, Nervo M, Le Terrier C. Fatal Multiorgan Failure Syndrome in a Strongyloides -HTLV-1 Coinfected Patient, after Treatment with Ivermectin. Case Rep Crit Care. 2021;2021.
42. Lia AA, Porto F, Neva FA, Bittencourt H, Lisboa W, Thompson R, et al. HTLV-1 decreases Th2 type of immune response in patients with strongyloidiasis.

## VIII. TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS

**Figura 1:** Selección de pacientes de la cohorte de SS+/HTLV-1+



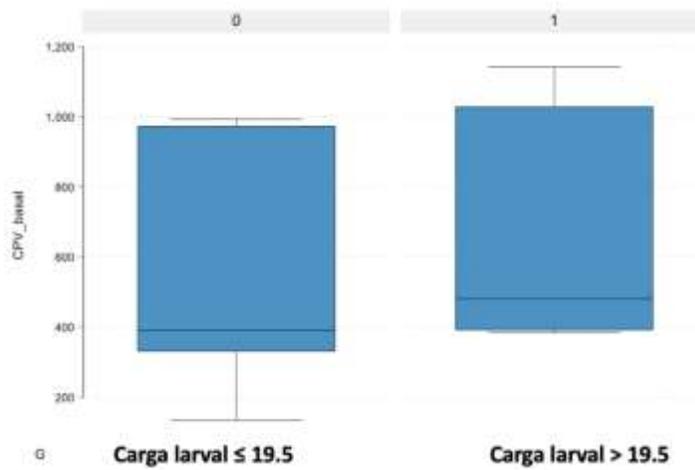
**Figura 2:** Gráfico de cajas y bigotes de CPV inicial



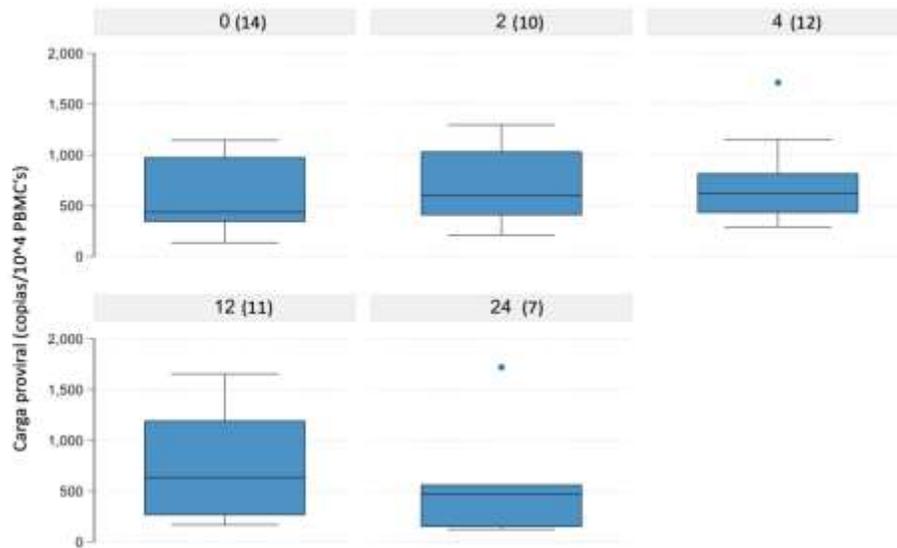
**Figura 3:** Gráfico de cajas y bigotes de carga larval inicial



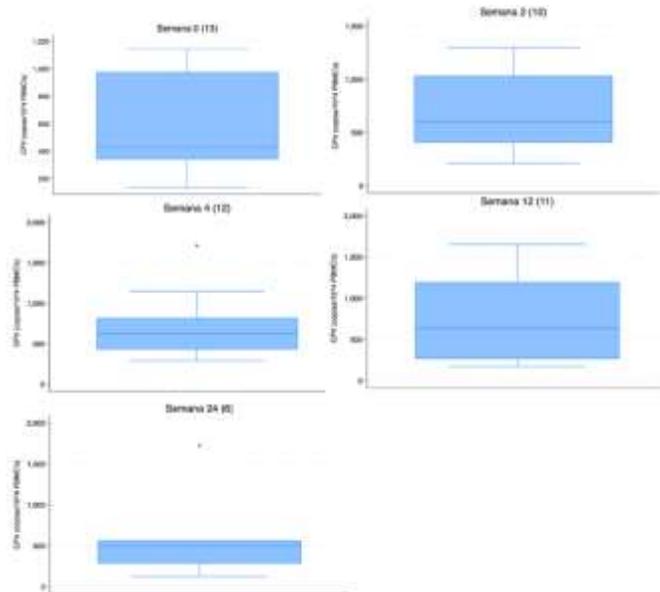
**Figura 4:** CPV estratificada según carga larval



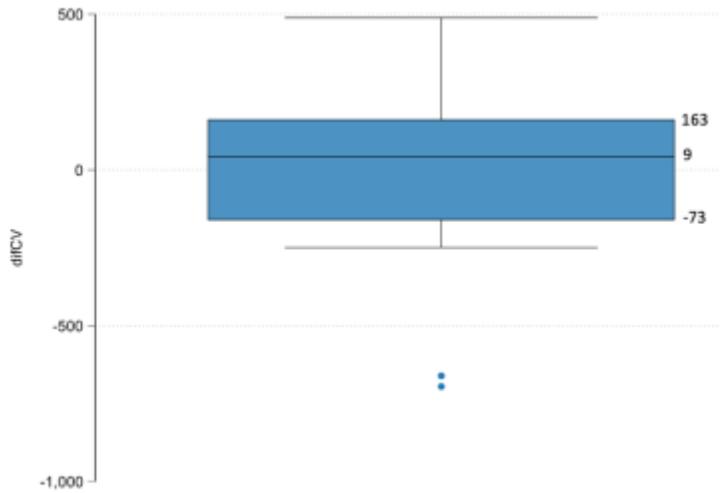
**Figura 5:** Evolución de carga proviral (semanas)



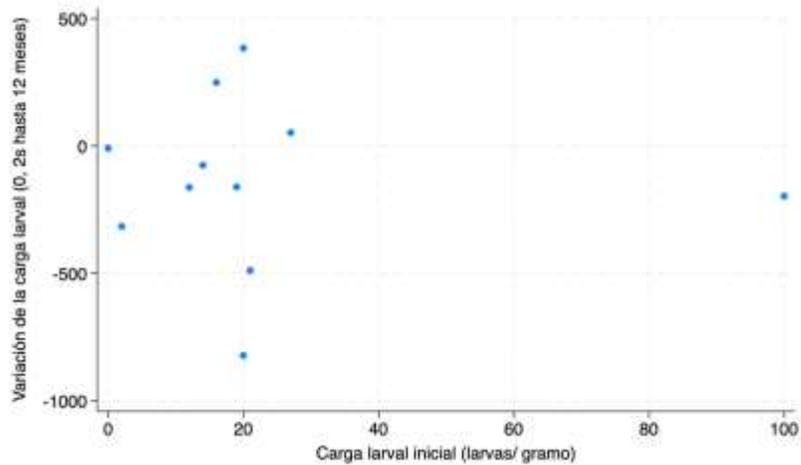
**Figura 6:** Evolución de la CPV (semanas) excluyendo a pacientes con estrongiloidiasis severa



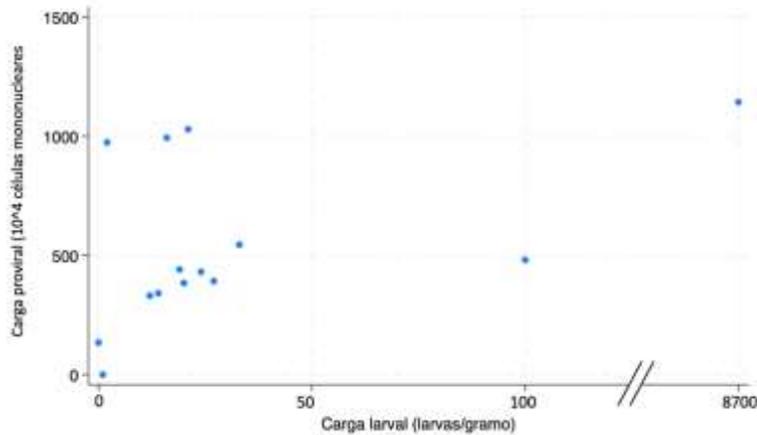
**Figura 6:** Gráfico de cajas y bigotes de mediana de variación de CPV (basal a última medición disponible)



**Figura 7:** Variación de la carga proviral y la carga larval inicial.



**Figura 8:** Carga proviral inicial y la carga larval inicial.



**Tabla 1: Características clínico- epidemiológicas**

Características	SS+/HTLV-1+ (n=19)
Sexo Masculino	11 (58%)
Edad (años)	46 (RIQ 29-51)
<b>Manifestaciones clínicas</b>	
- ATLL	0
- HAM/TSP	5 (26%)
- SS severa	2 (11%)
- Estrongiloidiasis previa	4 (21%)
<b>Comorbilidades</b>	
- Diabetes mellitus	4 (21%)
- <i>H. pylori</i>	4 (21%)
<b>Hemograma inicial</b>	
- Hb (mg/dL)	12.59 (DE 2.36)
- Leucocitos (cel/mL)	7100 (RIC 5600-9400)
- Linfocitos (cel/mL)	2020 (RIC 1460-2570)
- Eosinófilos (cel/mL)	140 (RIC 278-600)

**Tabla 2: CPV y CL iniciales según variables clínico-epidemiológicas**

Características (n)	Mediana de CPV inicial (RIC)	Mediana de carga larval inicial (RIC)
<b>Sexo</b>		
• Masculino (11)	513 (441-1029)	12 (2-16)
• Femenino (8)	341 (331-974)	20.5 (19-100)
<b>Edad (años)</b>		
• 18-46 (9)	974 (341-993)	16 (10-20)
• > 46 (10)	436 (357-513)	22 (15.5-66.5)
<b>Estrongiloidiasis previa</b>		
• Sí (4)	431 (341-481)	21 (16-62)
• No (10)	441 (333-993)	19.5 (10-27)
<b>Eosinopenia (&lt; 50 cel/mL)</b>		
• No (16)	431 (333-993)	18.5 (12-21)
• Sí (3)	727 (481-974)	100 (2-100)

**Tabla 3: Variación de CPV según características clínico- epidemiológicas**

Características (n)	Mediana variación CPV (RIC)
<b>Sexo</b>	
• Masculino (11)	155 (0-431)
• Femenino (8)	-4 (-367 – 42.5)
<b>Edad (años)</b>	
• 18-46 (9)	38 (-73 – 431)
• > 46 (10)	60.5 (-124.5 -162)
<b>Estrongiloidiasis previa</b>	
• Sí (16)	112.5 (-309 – 173)
• No (3)	0 (-73 – 163)

## IX. ANEXOS

### Anexo 1

Consentimiento informado estudio principal SIDISI 101272: “El efecto de *Strongyloides stercoralis* en la progresión de la infección por HTLV-1”

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN	
[Adultos]	
Título del estudio:	El efecto de <i>Strongyloides stercoralis</i> en la progresión de la infección por HTLV-1
Investigadores:	Dr. Martín Montes Delgado, Dr. Eduardo Gotuzzo Herencia, Dra. Elsa González Lagos
Institución:	Universidad Peruana Cayetano Heredia – UPCH Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt

**Propósito del Estudio:**

Lo estamos invitando a participar en un estudio llamado: “El efecto de *Strongyloides stercoralis* en la progresión de la infección por HTLV-1”. Este es un estudio desarrollado por investigadores de la cohorte de seguimiento de pacientes con HTLV-1, del cual usted participa. Los investigadores pertenecen a la Universidad Peruana Cayetano Heredia y al Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt.

Estamos realizando este estudio para evaluar cómo el parásito *Strongyloides stercoralis* modifica la progresión de la infección del virus linfotrópico de células T humanas tipo 1 (HTLV-1).

El virus HTLV-1 infecta a un gran número de personas alrededor del mundo. La mayoría de personas infectadas no tienen síntomas durante toda su vida, pero un porcentaje puede sufrir enfermedades asociadas. Una de esas enfermedades es la leucemia / linfoma de células T del adulto (ATL), un cáncer de elevada mortalidad que puede ocurrir en 3 a 5% de pacientes con HTLV-1 luego de varios años de haberse infectado con el virus.

El parásito *Strongyloides stercoralis* infecta a muchas personas en el mundo, incluyendo Perú. La mayoría de personas sanas no tiene síntomas de esta infección parasitaria, pero aquellos que también están infectados con HTLV-1 pueden presentar un cuadro muy grave de la strongyloidiasis, que incluso puede causar la muerte.

Existe evidencia de estudios previos que indican que la infección por *S. stercoralis* podría disminuir el tiempo de aparición de la leucemia / linfoma de células T del adulto en personas con HTLV-1. Sin embargo, existen pocos datos al respecto. Este estudio explorará el efecto de *S. stercoralis* en la progresión de la infección por HTLV-1.

**Procedimientos:**

Si decide participar en este estudio se realizará lo siguiente (enumerar los procedimientos del estudio):

1. Se tomará una muestra de sangre de 20ml del antebrazo, esto es aproximadamente 4 cucharaditas de té, en una única ocasión. De estas muestras de sangre se realizarán pruebas en el laboratorio para analizar lo descrito anteriormente.
2. Se le entregarán 2 frascos de plástico para realizar un examen de heces que busca la presencia del parásito *Strongyloides stercoralis*.



**Riesgos**

La toma de sangre es ligeramente dolorosa y existe un riesgo muy pequeño de que se pueda infectar si no se mantiene la higiene adecuada. Además, la toma de muestra del antebrazo le puede ocasionar un pequeño hematoma (moretón) el cual desaparecerá en un tiempo aproximado de 5 días.

La muestra de heces no le ocasionará molestia alguna.

**Beneficios**

Si bien Ud. no recibirá ningún beneficio directo por participar en este estudio, el presente trabajo aportará información relevante sobre la progresión de la infección por HTLV-1 en pacientes coinfectados con *S. stercoralis*. Dicha información ayudará a que futuros estudios analicen el beneficio de realizar tratamientos masivos de estrongiloidiasis en áreas endémicas de HTLV-1 para disminuir el riesgo de desarrollar enfermedades asociadas al virus.

**Costos e Incentivos**

No deberá pagar nada por participar en el estudio. Igualmente, no recibirá ningún incentivo económico ni de otra índole, solo una compensación por gastos de transporte si así lo requiere.

**Confidencialidad**

Nosotros guardaremos su información con códigos y no con nombres. Si los resultados de este seguimiento son publicados, no se mostrará ninguna información que permita la identificación de las personas que participan en este estudio. Sus resultados particulares no serán mostrados a ninguna persona ajena al estudio.

**Uso futuro de la información obtenida**

Deseamos conservar sus muestras de sangre almacenándolas por 10 años. Estas muestras serán usadas para realizar estudios posteriores de los componentes genéticos del virus HTLV-1.

Estas muestras solo serán identificadas con códigos.

Si no desea que sus muestras permanezcan almacenadas ni utilizadas posteriormente, aún puede seguir participando del estudio.

Autorizo a tener mis muestras de sangre almacenadas SI ( ) NO ( )

**Derechos del paciente**

Si usted decide participar en el estudio, puede retirarse de este en cualquier momento, o no participar en una parte del estudio sin perjuicio alguno. Si tiene alguna duda adicional, por favor



pregunte al personal del estudio o llame al Dr. Martín Montes Delgado (investigador principal) al

Si tiene preguntas sobre los aspectos éticos del estudio, o cree que ha sido tratado injustamente puede contactar a la Dra. Pina Samalvides Cuba, presidenta del Comité Institucional de Ética en Investigación de la Universidad Peruana Cayetano Heredia al teléfono 01-3190000 anexo 201355 o al correo electrónico: [quid.ogh@oficinat-epch.pe](mailto:quid.ogh@oficinat-epch.pe)

Una copia de este consentimiento informado le será entregada.

#### Consentimiento

Acepto voluntariamente participar en este estudio, comprendo qué cosas me van a pasar al participar en el proyecto, entiendo que puedo decidir no participar y que puedo retirarme del estudio en cualquier momento.

Participante (Nombres y Apellidos)

Fecha y hora:

Testigo (Nombres y Apellidos)  
Si el participante es analfabeto

Fecha y hora:

Investigador (Nombres y Apellidos)

Fecha y hora:

## Anexo 2

### **Procedimiento de Reacción en cadena de polimerasa en tiempo real (qPCR)**

#### **SYBR Green**

- 1) Sangre anticoagulada se recolectó en tubos con EDTA.
- 2) De estas muestras de sangre periférica se obtuvieron células mononucleares de sangre periférica (PBMC's por sus siglas en inglés) utilizando la centrifugación por gradientes y un doble lavado con solución salina balanceada de Hank.

- 3) Se extrajo ADN de estas células mononucleares utilizando el kit: QIAamp DNA Blood kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante.
- 4) Se realizó el ensayo de reacción en cadena de polimerasa en tiempo real (qPCR) SYBR Green utilizando 5 microlitros de muestra de ADN y luego se amplificó la muestra utilizando el sistema LightCycler 480 Real-Time PCR.
- 5) Por último, se analizará las medias del número de copias de carga proviral y se reportará el valor como número de copias de carga proviral por cada 10000 células mononucleares.