



Universidade Federal do Maranhão
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Mestrado

VINICIOS OLEGARIO MESQUITA ARRAES

**POLIMORFISMO DO GENE *tax* e SEUS ELEMENTOS
RESPONSIVOS NO GENOMA PROVIRAL DO VÍRUS T-
LINFOTRÓPICO HUMANO DO TIPO 1 (HTLV-1): ANÁLISE
EM PORTADORES ASSINTOMÁTICOS E SINTOMÁTICOS
DO ESTADO DO MARANHÃO**

SÃO LUÍS/MA

2025

VINICIOS OLEGARIO MESQUITA ARRAES

**POLIMORFISMO DO GENE *tax* e SEUS ELEMENTOS
RESPONSIVOS NO GENOMA PROVIRAL DO VÍRUS T-
LINFOTRÓPICO HUMANO DO TIPO 1 (HTLV-1): ANÁLISE
EM PORTADORES ASSINTOMÁTICOS E SINTOMÁTICOS
DO ESTADO DO MARANHÃO**

Dissertação apresentada
ao Programa de Pós-
Graduação em Ciências
da Saúde (PPGCS) –
Universidade Federal do
Maranhão (UFMA), como
requisito para obtenção
do título de Mestre em
Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a Dr^a
Hivana Patricia Melo
Barbosa Dall'Agnol

Coorientador: Prof. Dr.
Silvio Gomes Monteiro

SÃO LUÍS/MA

2025

Mesquita Arraes, Vinícios Olegario.

POLIMORFISMO DO GENE tax e SEUS ELEMENTOS RESPONSIVOS NO GENOMA PROVIRAL DO VÍRUS T-LINFOTRÓPICO HUMANO DO TIPO 1 HTLV-1 : aNÁLISE EM PORTADORES ASSINTOMÁTICOS E SINTOMÁTICOS DO ESTADO DO MARANHÃO / Vinícios Olegario Mesquita Arraes. - 2025.

123 p.

Coorientador(a) 1: Silvio Gomes Monteiro.

Orientador(a): Hivana Patricia Melo Barbosa Dallagnol.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2025.

1. Caracterização Molecular. 2. Mutações. 3. Região Ltr. 4. Região Tax. I. Melo Barbosa Dallagnol, Hivana Patricia. II. Monteiro, Silvio Gomes. III. Título.

VINICIOS OLEGARIO MESQUITA ARRAES

**POLIMORFISMO DO GENE *tax* e SEUS ELEMENTOS
RESPONSIVOS NO GENOMA PROVIRAL DO VÍRUS T-
LINFOTRÓPICO HUMANO DO TIPO 1 (HTLV-1): ANÁLISE
EM PORTADORES ASSINTOMÁTICOS E SINTOMÁTICOS
DO ESTADO DO MARANHÃO**

Dissertação apresentada
ao Programa de Pós-
Graduação em Ciências
da Saúde (PPGCS) –
Universidade Federal do
Maranhão (UFMA), como
requisito para obtenção
do título de Mestre em
Ciências da Saúde.

Aprovado em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Hivana Patricia Melo Barbosa Dall’Agnol (UFMA)

Profa. Dra. Ana Paula Silva de Azevedo dos Santos (UFMA)

Profa. Dra. Flávia Castello Branco Vidal (UFMA)

Profa. Dra. Mayara Ingrid Sousa Lima (UFMA)

“Fazer uma coisa de maneira diferente é, com frequência, o mesmo que fazer tudo de maneira diferente. Ações não podem ser desfeitas dentro de uma existência (...) A única maneira de aprender é vivendo.”

A Biblioteca da Meia-Noite – Matt Haig

Dedico esse trabalho a todas as pessoas vivendo com HTLV.

Vocês não estão sozinhos!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a todos os voluntários que contribuíram para o projeto HTLV. Sem vocês não teria esse trabalho e muitos outros que são e serão frutos da contribuição de vocês.

À minha professora e orientadora, Hivana Dall'Agnol, que me acolheu desde a graduação e tem me guiado com sabedoria e paciência na jornada rumo ao profissional e mestre que estou me tornando. Agradeço profundamente pelos seus conselhos, ensinamentos e oportunidades, que me permitiram crescer e evoluir.

Ao meu coorientador, Silvío Monteiro, por ter aceitado me orientar e por ter contribuído para o desenvolvimento dos trabalhos com HTLV. Quero agradecer também ao professor Leonardo Dall'Agnol por sempre estar por perto e ajudar no que for necessário para o desenvolvimento do grupo de pesquisa.

À minha família. Minha mãe, Izabel, meu pai, Tom, e o meu irmão, Guilherme, que acompanharam e sempre estiveram ao meu lado na minha trajetória. Obrigado por sempre apoiarem as minhas decisões e estarem por perto para me acolher e cuidar de mim. Sei que a finalização desta etapa não é um sonho somente meu, é de vocês também.

Ao meu companheiro Luciano, que me acompanhou durante diversas fases da minha vida e sempre esteve ao meu lado matando a minha cabeça erguida para continuar no meu caminho. Obrigado por sempre estar ao meu lado, admiro muito a sua história e perseverança, espero que você também possa alcançar os seus sonhos.

Ao meu colega Felipe, por ter sido a minha dupla de trabalho nesses últimos anos e me ajudado no desenvolvimento deste trabalho. A sua ajuda foi imprescindível para que cada etapa até aqui fosse concluída. Deixo aqui a minha admiração pelo cuidado que você tem com o projeto e os pacientes.

Aos meus colegas do grupo de pesquisa GB3 por todos os momentos e companhias no laboratório. Fico feliz e orgulhoso com a trajetória de cada um. Agradeço a Leticia e Isaias pela amizade desde o momento que entrei no grupo, fico feliz por termos crescido juntos desde a graduação, e agora ver cada um se tornando mestre é gratificante.

Agradeço a todos os membros do Laboratório de Genética e Biologia Molecular pelas trocas, experiências e aprendizados com o trabalho de cada um. Sou grato também pela ajuda, cuidado e companhia de Santinha e Gisele, que com seus esforços mantem o laboratório em ordem e sempre estão à disposição para ajudar.

Aos meus amigos desde o primeiro dia de aula da graduação, Ana Vitoria, Carol, Ellen, Kaio, Maria Fernanda, Rubens, Sabrina e Samuel. A companhia de vocês nesses seis anos de universidade foi fundamental para mim. Obrigado, por todos os momentos compartilhados e por estarem ao meu lado em todos os momentos. Ver todos crescendo e tendo a nossa amizade fortalecido pelos anos é muito gratificante, vocês são parte da minha história.

Às minhas amigas, Anna Leticia, Rebeca, Sabrina e Thaylenne, que acompanharam todos os momentos da minha vida pessoal e acadêmica de perto. Ter vocês para contar em momentos altos e baixos da minha vida é fundamental. Obrigado por estarem sempre presentes e serem as melhores companheiras, desejo tudo de bom na trajetória de cada uma e espero contar com a nossa amizade por muitos anos.

Às amigas que fiz durante o mestrado, Ana Jessica e Rayssa, muito obrigado por todos os momentos juntos durante essa trajetória. Vocês foram uma parte essencial dessa parte da minha vida e irei carregar todas as conversas, risadas e aprendizados que tive com vocês comigo por muitos anos. Espero que vocês sejam felizes no caminho que escolherem, e podem contar comigo.

À Universidade Federal do Maranhão, por ter sido a minha segunda casa nos últimos seis anos e por ter aberto portas que me permitiram crescer e hoje me tornar mestre. Agradeço ao programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, e o seu corpo docente, pelo apoio durante a realização deste mestrado.

Agradeço a FAPEMA pelo financiamento do projeto, que possibilitou a execução deste trabalho, e pela concessão de bolsa de mestrado, que permitiu a minha permanência durante este período.

Agradeço a CNPq pelo financiamento de projeto que permite o início dos estudos com HTLV. E a CAPES pelo apoio a manutenção dos programas de pós-graduação.

RESUMO

O Vírus T-linfotrófico Humano do tipo 1 (HTLV-1) é um retrovírus oncogênico que pode levar ao desenvolvimento da leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL), além de doenças neurodegenerativas, como mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM). O HTLV-1 é endêmico em alguns países como o Brasil, no Maranhão a prevalência varia entre 0,1-0,99%. O genoma do HTLV-1 apresenta em sua extremidade 5'LTR sítios promotores, como os elementos responsivos de Tax (TRE), e codifica a proteína Tax, cuja função e polimorfismos gênicos estão relacionados com a patogênese da infecção e o quadro clínico dos portadores. Ademais a interação entre Tax e TRE ativa a transcrição dos elementos virais. Dessa forma, este estudo tem como objetivo analisar regiões promotoras e codificantes do genoma proviral, sequências de LTR e do gene *tax*, a fim de conhecer as variantes circulantes na região e a possível associação destas com doença em pessoas vivendo com HTLV. A partir de uma amostragem de conveniência, 9 indivíduos positivos para o vírus HTLV-1 foram incluídos neste estudo, 7 eram assintomáticos e 2 com HAM. A confirmação da infecção foi realizada pelos testes sorológicos de ELISA e *Western Blot*. O DNA proviral extraído foi utilizado para amplificação da região LTR, por *nested* PCR, e do gene *tax*, por PCR convencional, seguida de sequenciamento de Sanger, as sequências obtidas foram alinhadas entre si e com a sequência de referência ATK1 para avaliar a presença de polimorfismos, e as sequências de *tax* também foram utilizadas na construção da árvore filogenética. O alinhamento da região promotora das 9 sequências de LTR identificou a presença dos polimorfismos A125G (7/9 amostras) e G174A (7/9 amostras) na primeira e segunda repetição de TRE, respectivamente. O alinhamento das 7 sequências parciais da região *tax* revelou a presença dos polimorfismos C7897T, C7959T e G8208A (7/7 amostras), T7891C (5/7), C7930T (1/7). As trocas de nucleotídeos C7959T e G8208A resultam em mutações não sinônimas e conduzem as trocas de aminoácidos A→V e S→N, que ocorrem nos domínios de ativação da via NF-κB e proteína CREB presentes na proteína Tax, respectivamente. A presença dos polimorfismos encontrados estão associadas ao genótipo transcontinental cosmopolita *taxA*, revelado pela filogenia. Quando comparada a presença dos polimorfismos entre os portadores assintomáticos e com HAM, não houve diferença estatisticamente significativa. Avaliando frequências dos polimorfismos em ambas a regiões estudadas, é possível observar uma maior frequência dos polimorfismos A125G e G174A nas amostras com os polimorfismos presentes em *tax*. A análise das regiões LTR e *tax* demonstrou a presença de polimorfismos que podem influenciar na dinâmica de ativação da região promotora do genoma proviral, bem como interferir em vias que podem levar ao desenvolvimento de patologias relacionadas ao vírus. Além disso, os polimorfismos encontrados na região *tax* são característicos no Brasil, padrão esse decorrente da entrada do vírus no país que se deu, em maioria, pelo tráfico de pessoas escravizadas do continente africano e refletindo no genótipo encontrado. O achado destes polimorfismos também agrega aos restritos dados moleculares disponíveis na literatura para melhor compreensão da diversidade viral, suas implicações epidemiológicas e clínicas.

Palavras-chave: Caracterização Molecular. Mutações. Região LTR. Região *tax*

ABSTRACT

Human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) is an oncogenic retrovirus that can lead to the development of adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL) and neurodegenerative diseases such as HTLV-1-associated myelopathy (HAM). HTLV-1 is endemic in certain countries, including Brazil, where prevalence rates in Maranhão range between 0.1%-0.99%. The HTLV-1 genome contains promoter sites in its 5'LTR region, such as Tax-responsive elements (TRE), and encodes the Tax protein, whose function and genetic polymorphisms are associated with infection pathogenesis and the clinical outcomes of carriers. Moreover, the interaction between Tax and TRE activates the transcription of viral elements. Thus, this study aims to analyze the promoter and coding regions of the proviral genome, LTR sequences and the *tax* gene, to identify circulating variants in the region and their possible association with disease in individuals living with HTLV. Using a convenience sampling approach, nine HTLV-1-positive individuals were included in this study: seven asymptomatic carriers and two with HAM. Infection confirmation was performed through ELISA and Western Blot serological tests. Extracted proviral DNA was used for nested PCR amplification of the LTR region and conventional PCR for *tax*, followed by Sanger sequencing. The obtained sequences were aligned with each other and with the ATK1 reference sequence to assess the presence of polymorphisms, and the *tax* sequences were also used for phylogenetic tree construction. Alignment of the promoter region of the nine LTR sequences identified the presence of polymorphisms A125G (7/9 samples) and G174A (7/9 samples) in the first and second TRE repeats, respectively. Alignment of the seven partial *tax* sequences revealed the presence of polymorphisms C7897T, C7959T, and G8208A (7/7 samples); T7891C (5/7); and C7930T (1/7). The nucleotide substitutions C7959T and G8208A resulted in nonsynonymous mutations leading to amino acid changes A→V and S→N, occurring in the NF-κB pathway activation and CREB protein domains of the Tax protein, respectively. The presence of these polymorphisms was associated with the transcontinental cosmopolitan *taxA* genotype, as revealed by phylogenetic analysis. When comparing the occurrence of polymorphisms between asymptomatic carriers and individuals with HAM, no statistically significant difference was observed. Evaluating polymorphism frequencies in both studied regions, A125G and G174A were more frequent in samples that also carried polymorphisms in *tax*. The analysis of LTR and *tax* regions demonstrated the presence of polymorphisms that may influence the activation dynamics of the proviral genome promoter region, as well as interfere with pathways leading to HTLV-related diseases. Furthermore, the identified *tax* polymorphisms are characteristic of Brazil, a pattern shaped by the introduction of the virus into the country, primarily through the transatlantic slave trade from Africa, which is reflected in the observed genotype. The identification of these polymorphisms contributes to the limited molecular data available in the literature, enhancing the understanding of viral diversity and its epidemiological and clinical implications.

Keywords: Molecular characterization. Mutations. LTR region. *tax* region.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição mundial do vírus HTLV-1 em estudos realizados com populações gerais. Fonte: Legrand (2022).....	24
Figura 2. Estrutura morfológica do vírus HTLV. Fonte: Olindo e Jaennin (2014).	29
Figura 3. Organização genômica do vírus HTLV. Matriz (MA); capsídeo (CA); nucleocapsídeo (NC); transcriptase reversa (TR); integrase (IN); proteína de superfície (SU); proteína transmembrana (TM). Fonte: Adaptado de Olindo e Jaennin (2014).....	30
Figura 4. Representação esquemática dos elementos responsivos de Tax (TREs) do HTLV-1. (A) A subregião U3 da 5'LTR é considerada como uma região promotora do genoma proviral, onde é abrigada elementos essenciais para o início da transcrição; (B) Um dos principais elementos presentes nessa região são as TREs, que constituem de três repetições de 21 pb, cada uma dividida em três domínios (A, B e C), localizados a jusante da TATA box; (C) Em cada repetição é formado um complexo constituído de fatores de transcrições celulares recrutados pela proteína viral Tax. O fator CREB se liga ao domínio B, também conhecido como CRE viral (vCRE). Os domínios A e C são utilizados como apoio para a proteína Tax, e assim, estabilizar o complexo de transcrição. Fonte: Elaborado pelo próprio autor.	34
Figura 5. Etapas do ciclo de replicação do vírus HTLV. Fonte: Adaptado de Machado et al (2022).	36
Figura 6. Distribuição geográfica dos sete principais genótipos do HTLV-1 (a-g) e dos subgrupos do genótipo Cosmopolita. Fonte: Adaptado de Afonso, Cassar e Gessain (2019).....	39
Figura 7. Linfócitos T multinucleados com aspecto de flor, característica de pacientes com ATLL. Fonte: John, Abdullah, John (2020).....	42
Figura 8. O papel de Tax e HBZ na regulação da expressão de genes virais e do hospedeiro. A interação dessas proteínas com a célula pode levar a estados sintomáticos como HAM ou ATLL. Fonte: Adaptado de Miura, Naito e Saito (2022).	44
Figura 9. Representação esquemática das principais funções da proteína viral Tax. Essa proteína é transcrita a partir do genoma proviral e atua interferindo em algumas vias celulares. Tax recruta fatores transcrição, como a proteína CREB, e assim estimula a transcrição de genes do hospedeiro e do vírus. A proteína Tax também estimula de forma positiva a via NF- κ B, ocasionando a produção de citocinas que	

estimulam a proliferação celular e quimiocinas pro-inflamatórias, que contribuem para a progressão da HAM. Além da HAM, a proteína Tax interfere em fatores que podem levar ao desenvolvimento da ATLL, como inibir a atividade a proteína p53 e ativar a hTERT. Fonte: Elaborado pelo próprio autor.45

Figura 10. Fluxograma das etapas metodológicas seguidas por este trabalho. Foram utilizadas 9 amostras positivas para HTLV tipo 1 confirmadas pelos testes sorológicos de triagem e confirmatório. O material genético foi obtido a partir da extração de DNA do buffycoat das amostras coletadas. Esse material foi utilizado para os testes moleculares dos alvos de interesse.53

Figura 11. Eletroforese da PCR realizadas para a amplificação das regiões de interesse utilizando os iniciadores TAX. Altura das bandas de interesse identifica por seta.62

Figura 12. Árvore filogenética construída pelo método Neighbor Joining utilizando o software Geneious Prime v2014 com 483 pb da região tax do HTLV-1 de 41 amostras provenientes do GenBank e 7 amostras deste estudo (destacadas em negrito). O HTLV-1b (M67514.1) foi utilizado como grupo externo.66

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Polimorfismos na região <i>tax</i> do genoma do HTLV-1 descritos na literatura.	47
Tabela 2. Alinhamento dos Elementos Responsivos de Tax I e II entre as amostras obtidas neste estudo e a sequência de referência ATK1.	63
Tabela 3. Sequência de maior similaridade encontrada no BLAST de cada amostra deste estudo.....	64
Tabela 4. Alinhamento das sequências parciais da região <i>tax</i> obtidas neste estudo comparadas a sequência de referência ATK1.....	65
Tabela 5. Presença dos polimorfismos encontrados nos TREs e no gene <i>tax</i> entre os grupos de portadores assintomáticos (PA) e sintomáticos.....	67
Tabela 6. Frequência das mutações da região <i>tax</i> em comparação com polimorfismos encontrados na região LTR.....	68

ÍNDICE DE QUADRO

Quadro 1. Sequências dos primers utilizados na qPCR para diagnóstico molecular.	55
Quadro 2. Sequências das sondas utilizadas na qPCR para diagnóstico molecular.	56
Quadro 3. Sequência de primers utilizados na <i>nested</i> PCR para a região 5'LTR	57
Quadro 4. Sequências de primers utilizados na PCR para sequenciamento.	58
Quadro 5. Características e diagnóstico de HTLV-1 na população estudada.	61

LISTA DE SIGLAS

AP-1	Proteína Ativadora 1
ATLL	Leucemia/Linfoma de células T do adulto
ATLV	Vírus da Leucemia de Células T do Adulto
AZT	Zidovudina
BLAST	<i>Basic Local Alignment Search Tool</i>
CBP	Proteína de ligação ao CREB
CRE	Elemento responsivo cAMP
CREB	Elemento de Resposta cAMP (CREB)
CT	<i>Cycle threshold</i>
CTLs	Células T citotóxicas
DO	Densidade óptica
GLUT-1	Transportador de Glicose 1
HAM	Mielopatia associada ao HTLV-1
HSPG	Sulfato de Heparano Proteoglicano
hTERT	Transcriptase Reversa da Telomerase
HTLV-1	Vírus T-linfotrópico Humano do tipo 1
HTLV-2	Vírus T-linfotrópico Humano do tipo 2
IFN- γ	Interferon- γ
ISTs	Infecções Sexualmente Transmissíveis
LTR	Longas Terminações Repetidas
ML	<i>Maximum Likelihood</i>
MS	Ministério da Saúde
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
NF-kB	Fatores Nucleares kB
NJ	<i>Neighbor Joining</i>
NRP-1	Neuropilina 1
OMS	Organização Mundial da Saúde

ORFs	Quadros de Leitura Aberta
PA	Portadores assintomáticos
PB	Pares de bases
PVHTLV	Pessoa vivendo com HTLV
qPCR	PCR em tempo real
SUS	Sistema Único de Saúde
TAE	Tris-Acetato-EDTA
TCLE	Termo de Consentimento Livre Esclarecido
TN	Tamura-Nei
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral- α
TRE	Elementos Responsivos da Tax
Treg	Células T Regulatórias
TSS	Sítio de início da transcrição
vCRE	CRE viral

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
2. REREFENCIAL TEÓRICO.....	22
2.1 Histórico e descoberta.....	22
2.2 Epidemiologia.....	23
2.3 Políticas públicas para HTLV no Brasil	26
2.4 Transmissão.....	27
2.5 Morfologia e estrutura genômica do HTLV	28
2.6 Regulação da expressão do genoma proviral	32
2.7 Ciclo de replicação e disseminação	36
2.8 Epidemiologia molecular	38
2.9 Patologias associadas ao HTLV.....	40
2.10 O papel da Tax na patogênese da infecção	43
2.11 Polimorfismos genéticos no genoma proviral	46
3. OBJETIVOS.....	50
3.1. Geral.....	50
3.2. Específicos	50
4. MATERIAIS E MÉTODOS	51
4.1 Caracterização do estudo, amostras e critérios	51
4.2 Aspectos éticos	54
4.3 Diagnóstico sorológico para HTLV	54
4.4 Extração de DNA.....	55
4.5 Confirmação molecular.....	55
4.6 Amplificação e sequenciamento da região 5'LTR	56

4.7 Amplificação e sequenciamento do gene <i>tax</i> do HTLV-1	57
4.8 Edição das sequências	58
4.9 Análise da presença de polimorfismos	58
4.10 Construção da árvore filogenética - Genotipagem da região <i>tax</i>	59
4.11 Análise estatística	60
5. RESULTADOS.....	61
5.1 Ocorrência da infecção pelo HTLV-1 em amostras coletadas em São Luís	61
5.2 Os Elementos Responsivos de Tax apresentam-se íntegros na região 5'LTR do genoma proviral de isolados do estado.....	62
5.3 Variantes de <i>tax</i> presentes no estado alteram aminoácidos em domínios funcionais da proteína Tax	64
5.4 Mutações no gene <i>tax</i> refletem ao grupo monofilético <i>taxA</i>	66
5.5 Perfil de Polimorfismos Genéticos entre Grupos Clínicos de PVHTLV do estado	67
6. DISCUSSÃO	69
7. CONCLUSÃO	77
8. REFERÊNCIAS.....	78
9. MATERIAL SUPLEMENTAR.....	107
9.1 Quadro suplementar 1	107
9.2 Figura suplementar 1	109
9.3 Figura suplementar 2	110
10. ANEXOS	111
10.1 Termo de Consentimento Livre Esclarecido (ANEXO 1)	111
10.2 Questionário socioepidemiológico (ANEXO 2)	113
10.3 Parecer do comitê de ética (ANEXO 3)	114

1. INTRODUÇÃO

Os Vírus T-linfotrópico Humano do tipo 1 (HTLV-1) pertencem à família *Retroviridae*, subfamília *Oncovirinae*, gênero *Deltaretrovirus*. Possuem esses nomes por apresentarem tropismo preferencial pelas células do sistema imune humano conhecidas como linfócitos T CD4+ (Martinez; Al-Saleem; Green, 2019).

O HTLV-1 é um vírus com potencial carcinogênico por estar associado a manifestações agressivas de leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL), as quais são dificilmente tratáveis resultando em uma sobrevida média de um ano destes pacientes (Oliveira et al., 2016; Tagaya; Gallo, 2017). Além disso, o vírus também está relacionado ao desenvolvimento de uma doença neurodegenerativa, a mielopatia associada ao HTLV (HAM), os portadores apresentam um quadro inflamatório debilitante que leva à alta morbidade e mortalidade (Enose-Akahata; Jacobson, 2019).

A transmissão pode ocorrer pelas vias verticais e horizontais, assim como em outras Infecções Sexualmente Transmissíveis (ISTs). A via vertical ocorre a partir da transferência do vírus de uma mãe portadora para o filho, isso pode ocorrer durante o parto ou amamentação. A transmissão horizontal ocorre por contato direto com uma pessoa portadora, podendo acontecer devido a transfusões sanguíneas, objetos perfurocortantes e relações sexuais desprotegidas. Todas as vias favorecem a manutenção da circulação do vírus na sociedade (Kalinichenko; Komkov; Mazurov, 2022).

O Brasil é considerado um país endêmico para HTLV com aproximadamente 1,5 milhões de pessoas vivendo com o HTLV (PVHTLV) (Legrand *et al.*, 2022). O Maranhão figura entre os estados com maior endemicidade para o vírus, tendo estudos realizados em doadores de sangue e gestantes, que encontraram prevalências entre 0,1-0,7% (Mendes et al., 2020; de Souza et al., 2012; Viana et al., 2014). Esses dados demonstraram a transmissão e manutenção desse vírus dentro da população maranhense. No entanto, carecíamos de dados no que se refere a situação desta infecção na população geral Maranhense e em povos tradicionais.

Para suprir as informações acerca do vírus na região, nosso grupo de pesquisa integrou um projeto multicêntrico, iniciado em meados do ano 2020 e

coordenado pelo Laboratório de Virologia da Universidade Federal do Pará (UFPA), buscando preencher as lacunas acerca da prevalência deste vírus em estados do Norte, Centro-Oeste e Nordeste do Brasil. No Maranhão a sede do projeto foi o Laboratório de Genética e Biologia Molecular – UFMA, e estudos foram realizados na capital e com populações de diversas cidades do interior do estado, assim foi iniciada uma nova linha de pesquisa em HTLV no estado.

Por meio destes trabalhos foram realizadas dissertações de mestrado, monografias de graduação e iniciações científicas que demonstraram prevalências de 0,81% na população geral urbana de São Luís e de 0,99% em uma comunidade quilombola de Itapecuru-Mirim (MA) (Mohana, 2023; Sousa, 2024). Além disso, foram encontrados fatores demográficos associados a infecção na população, como renda familiar baixa e naturalidade no interior do estado. Nesse sentido, alguns fatores de risco foram identificados, principalmente histórico prévio de IST. O autor desta dissertação por meio de iniciação científica e da monografia de graduação também identificou que a idade elevada é um fator de risco para a infecção, e por isso, os idosos necessitam de mais atenção.

Estudos epidemiológicos são fundamentais para compreender o comportamento do HTLV na população. Contudo, ainda havia a necessidade de ampliar o conhecimento sobre os aspectos genéticos e a patogênese desse patógeno, que, até então, não haviam sido descritos no estado do Maranhão. Com base nessa lacuna, por meio do apoio da FAPEMA, o grupo de pesquisa deu continuidade às investigações relacionadas ao HTLV, originando esta dissertação de mestrado.

O desenvolvimento das patologias associadas à infecção pelo HTLV-1 ainda é objeto de estudo. Trabalhos sugerem que os aspectos genéticos do vírus desempenham um papel crucial nas diferentes manifestações clínicas observadas (Cucco *et al.*, 2021). A proteína Tax, transcrita a partir do genoma proviral, exerce uma função fundamental tanto no estabelecimento da infecção quanto na progressão para patologias (Enose-Akahata; Vellucci; Jacobson, 2017; Mohanty; Harhaj, 2020a). Isso ocorre devido à sua capacidade de interferir em vias celulares essenciais. Além disso, Tax potencializa a transcrição do genoma proviral ao se ligar

a regiões promotoras específicas, conhecidas como elementos responsivos de Tax (TREs), localizadas na porção 5'LTR do genoma viral (Curren *et al.*, 2012).

Sabe-se que o efeito de alterações no genoma do HTLV ainda não está completamente elucidado. Variantes do vírus podem desempenhar um papel importante nos mecanismos da patogênese, contribuindo para o desenvolvimento das diferentes manifestações clínicas da infecção. Como exemplo, a mutação C7959T na região *tax*, que vem sendo descrita na literatura com mais frequência em portadores com HAM (Lima *et al.*, 2024). Dessa forma, identificar e caracterizar marcadores prognósticos na população é essencial para prever a evolução clínica e desenvolver estratégias eficazes de prevenção e manejo clínico dos portadores.

Tendo em vista esses fatores e a necessidade de ampliar o conhecimento no estado, esta dissertação conduziu um trabalho de avaliação das regiões TREs e *tax* do genoma proviral, além de associar polimorfismos encontrados às manifestações clínicas. Com a leitura deste trabalho é possível encontrar uma vasta revisão de literatura sobre HTLV e os principais pontos aqui estudados, além de resultados inéditos acerca deste patógeno no Maranhão.

2. REREFENCIAL TEÓRICO

2.1 Histórico e descoberta

O vírus T-linfotrópico humano foi o primeiro retrovírus humano a ser identificado, em 1980, quando pesquisadores americanos relataram o isolamento desse vírus a partir da análise dos linfócitos de um paciente com suspeita de linfoma de células T cutâneo, e então foi denominado como HTLV (Poiesz *et al.*, 1980). Concomitante a essa descoberta, no Japão, a partir de uma linhagem de células humanas identificaram a presença de um retrovírus, o vírus da leucemia de células T do adulto (ATLV) (Yoshida; Miyoshi; Hinuma, 1982). Ao comparar os perfis moleculares e biológicos dos vírus isolados nessas diferentes abordagens, foi constatado que ambos se referiam ao mesmo agente infeccioso, o que consolidou a nomenclatura HTLV para designar o vírus (Watanabe; Seiki; Yoshida, 1984).

Pouco tempo após a descoberta do HTLV-1, pesquisadores identificaram um novo tipo viral, o HTLV-2, isolado inicialmente de um paciente com leucemia de células pilosas, também conhecida como tricoleucemia (Kalyanaraman *et al.*, 1982). Embora sua identificação tenha ocorrido num contexto clínico relacionado a uma doença hematológica, estudos subsequentes indicaram que a associação entre o HTLV-2 e a manifestação de leucemia não é consistente nem tão evidente quanto no caso do HTLV-1, portanto é considerado pela literatura como assintomático (Martinez; Al-Saleem; Green, 2019b; Stufano *et al.*, 2021).

No Brasil, o HTLV-1 foi descrito pela primeira vez em 1986 em uma comunidade de migrantes japoneses residentes em Campo Grande, no Mato Grosso do Sul, onde foi encontrada uma soroprevalência de aproximadamente 13%, com a maioria dos indivíduos oriundos de Okinawa no Japão (Kitagawa *et al.*, 1986).

Paralelo ao período em que o HTLV estava sendo descrito, os primeiros casos da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) foram registrados em 1981. Dois anos depois, em 1983, identificou-se que o agente etiológico dessa síndrome era outro retrovírus humano, inclusive inicialmente chamado de HTLV-III, mas que por fim foi nomeado como o vírus da imunodeficiência humana (HIV), (Broder; Gallo, 1984). Embora o HTLV tenha sido descoberto primeiro, o HIV acabou se tornando mais conhecido devido ao seu impacto epidemiológico e clínico, pois o vírus se

espalhou rapidamente e a AIDS apresentava alta mortalidade, em uma época em que não havia tratamento disponível, levando assim a uma pandemia (de Cock; Jaffe; Curran, 2021).

Na primeira metade dos anos 2000, foram identificados os tipos HTLV-3 e HTLV-4, ambos descobertos em 2005 em regiões isoladas da República de Camarões, na África Central. Esses tipos foram detectados pontualmente em caçadores de animais silvestres, e não foram relacionados a nenhuma manifestação clínica, desde então, esses foram os únicos casos relatados (Calattini *et al.*, 2005; Wolfe *et al.*, 2005).

2.2 Epidemiologia

Acredita-se que o HTLV-1 tenha se originado no continente africano, onde evidências filogenéticas e epidemiológicas apontam para uma longa história com mais de 50 mil anos de infecção em populações humanas e símios (Van Dooren; Salemi; Vandamme, 2001). À medida que os primeiros grupos humanos migraram para outras regiões do planeta, o vírus se espalhou e se estabeleceu em focos endêmicos notáveis, entre eles, a África Central, o Sudoeste do Japão, e até mesmo entre os aborígenes australianos (Einsiedel *et al.*, 2016; Gessain *et al.*, 2023; Sagara *et al.*, 2018). Essa disseminação não ocorreu apenas por migrações pré-históricas, mas também foi reforçada por fluxos históricos, como o tráfico de pessoas escravizadas, que contribuiu para a propagação do HTLV-1 em populações com forte influência africana, como o Brasil (Ishak *et al.*, 2020a). Em contraste, o HTLV-2 é encontrado predominantemente em populações nativas do continente americano, sugerindo que esse tipo acompanhou as primeiras ondas migratórias que colonizaram as Américas, via Estreito de Bering (Ishak *et al.*, 2020a; Switzer *et al.*, 1996; Vallinoto *et al.*, 2002). Dessa forma, os movimentos migratórios foram fundamentais para a distribuição e os diferentes focos de prevalência do HTLV no mundo.

Devido a origem e disseminação do HTLV pelo globo ao longo da história, o HTLV-1 possui uma distribuição geográfica heterogênea. É endêmico no sudoeste do Japão, em partes da África (Benin, em Camarões, na Guiné-Bissau), nas ilhas do

região ocidental, um estudo feito nos anos 2000 reportou uma prevalência de 3,6%, e na região rural de Caió esse número subiu para 5,9% (Larsen *et al.*, 2000; van Tienen *et al.*, 2010); estudos mais recentes apresentaram uma prevalência de 2,8% em populações urbanas (Jensen *et al.*, 2019). No Gabão, África Central, em uma população rural foi encontrada uma prevalência de 8,7% com um aumento em mulheres e pessoas com idades avançadas (Djuicy *et al.*, 2018).

A região caribenha também é endêmica para o HTLV e possui alguns países em que a população é majoritariamente de origem africana. A Jamaica, apresenta uma prevalência entre 6,1 e 7,0%, e ao contrário de outras áreas, os portadores foram em sua maioria do sexo masculino (Manns *et al.*, 1993; Murphy *et al.*, 1991; Oliveira; de Carvalho; Bittencourt, 2016). Em relação a Trinidad e Tobago, a diversidade racial é mais heterogênea e a soroprevalência é de aproximadamente 6% (Manns *et al.*, 1993).

Outra área com um grande endemismo para o HTLV é a América do Sul (Gessain; Cassar, 2012; Legrand *et al.*, 2022). Um estudo realizado na população geral de Tumaco na Colômbia obteve uma prevalência de 2,8% (Trujillo *et al.*, 2009); em doadores de sangue do Peru e Chile a prevalência foi de 3,4% e 1,24%, respectivamente (Ramírez-Soto; Huichi-Atamari, 2018; San Martín *et al.*, 2016).

É estimado que o Brasil possua aproximadamente 1,5 milhões de PVHTLV, assumindo assim o posto de um dos países mais endêmicos (Rosadas *et al.*, 2018). Na maioria dos estados da região Norte poucos estudos têm sido realizados no sentido de descrever a real prevalência da infecção pelo HTLV-1, sendo boa parte desses estudos realizados em bancos de sangue. O Maranhão tem sido considerado um dos estados brasileiros com maiores números de casos de infecção pelo HTLV-1 (Ishak; Ishak; Vallinoto, 2020).

Em relação à capital São Luís, um estudo realizado com doadores de sangue encontrou uma prevalência de 0,15% em um estrato de 165.000 testados (Viana *et al.*, 2014). Além disso, mulheres grávidas também foram alvo de estudos, sendo descrita uma prevalência de 0,38%-0,7% (Mendes *et al.*, 2020; Souza *et al.*, 2012). Em relação a população geral, na capital uma recente análise epidemiológica estratificada, incluindo todas as faixas etária, mostrou a prevalência de 0,81%

(Mohana, 2023), e no interior do estado, em uma comunidade quilombola foi observada a prevalência de 0,99% (Sousa, 2024).

A soroprevalência do HTLV-1 possui uma tendência a aumentar conforme a faixa etária e é normalmente mais frequente no sexo feminino. Em adultos, a prevalência é estimada em pelo menos 1-2%, entretanto em pessoas com idade superior a 50 anos, como os idosos (≥ 60), esses números podem chegar a 20-40% em alguns grupos com alta taxa de endemismo (Gessain; Cassar, 2012).

2.3 Políticas públicas para HTLV no Brasil

O HTLV vem sendo tratado como uma infecção negligenciada, principalmente por estar mais presente nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento (Garcia; Hennington, 2019). Além disso, a grande quantidade de assintomáticos e o difícil acesso aos testes permite com que a transmissão aconteça de forma despercebida, dificultando o trabalho dos profissionais de saúde e um levantamento epidemiológico detalhado. Essa lacuna impacta na implementação de políticas públicas associadas a esse vírus, políticas essas que vêm sendo adotadas nos últimos anos no Brasil (Rosadas *et al.*, 2021).

Algumas políticas de controle da infecção dos vírus HTLV-1/2 no Brasil foram adotadas desde os anos 90. Primeiramente, houve a implementação da triagem para o HTLV nas bolsas de sangue em 1993 e em receptores e doadores de órgãos essa prática foi adotada em 2009. Para suprir a ausência de informação quanto ao manejo de pacientes com HTLV, em 2003 o Ministério da Saúde (MS) realizou a primeira publicação do primeiro protocolo para manejo clínico desses pacientes, o segundo foi publicado em 2013 e o terceiro em 2021. Um decreto ministerial de 2016 regulamentou os testes confirmatórios para pessoas com ATLL, além disso, foi liberado o uso de Zidovudina (AZT), um fármaco antirretroviral muito utilizado no tratamento de pessoas com HIV. Como estratégia para prevenir a transmissão vertical, o MS recomenda desde 2021 o uso de cabergolina e fórmula láctea. O sucesso da implementação de estratégias nos últimos anos se deu devido à integração e responsabilidade do HTLV ao Departamento de Doenças Crônicas e IST (Miranda *et al.*, 2022).

Um dos desafios enfrentado no combate a esse vírus, é a disponibilidade de centros especializados para pacientes com HTLV. Segundo o MS, existem 33 centros médicos especializados no país divididos em serviços públicos e privados, entretanto, menos da metade dispõe dos serviços adequados para um melhor acolhimento às PVHTLV. O Maranhão dispõe de um centro especializado, o Hospital Getúlio Vargas em São Luís. Além disso, esses centros não apresentam uma distribuição abrangente e se concentram nas capitais dos estados (Miranda *et al.*, 2022).

Baseado no que se sabe acerca do diagnóstico de HTLV, outra dificuldade encontrada é o acesso aos testes confirmatórios pelo sistema público. Devido ao decreto de 2016, esses testes estão disponíveis para a população geral, somente para aqueles com suspeita de ATLL; vale ressaltar que os hemocentros não são obrigados a realizarem os testes confirmatórios (Miranda *et al.*, 2022). Ademais, uma forma de prevenir a transmissão vertical do HTLV é pela testagem de gestantes durante o pré-natal, sendo assim, recentemente o MS publicou a portaria SECTICS/MS Nº 13/2024, que torna público a decisão de incorporar no SUS para a detecção pré-natal da infecção pelo HTLV-1/2 em gestantes. Além disso, somente também em 2024, através de outra portaria, o HTLV foi incluído na lista de agravos de notificação compulsória (GM/MS Nº 3.148).

2.4 Transmissão

A transmissão do HTLV-1 para um indivíduo não infectado ocorre pelo contato célula-célula via verticalmente, sexualmente ou por exposição a sangue contaminado. Tendo como as possíveis vias de transmissão a transfusão de sangue, compartilhamento de seringas e de agulhas contaminadas, contato sexual desprotegido, transmissão mãe/filho, durante a gravidez, pelo parto e aleitamento materno (Kalinichenko; Komkov; Mazurov, 2022).

Vários fatores de risco têm sido associados à transmissão do HTLV e estão relacionados a outras infecções sexualmente transmissíveis (ISTs), como o HIV. O comportamento sexual pode ser um desses fatores, visto que, relações sexuais desprotegidas, múltiplos parceiros e feridas genitais facilitam a transmissão do HTLV

(Kalinichenko; Komkov; Mazurov, 2022). A presença maior do vírus no sexo feminino ocorre, pois, a transmissão entre parceiros sexuais de sexos opostos é mais eficiente do homem portador para a mulher saudável, com uma taxa de aproximadamente 60% (Bandeira *et al.*, 2018; Kajiyama *et al.*, 1986). Além do comportamento sexual, o compartilhamento de objetos perfurocortantes também está associado com essa disseminação, como os usuários de drogas, um grupo de risco em países desenvolvidos e subdesenvolvidos (Paulino-Ramirez *et al.*, 2019).

A transmissão vertical pelo aleitamento se dá pela presença de linfócitos infectados no leite materno de uma mãe portadora, a quantidade desses linfócitos é reflexo da carga proviral (Rosadas; Taylor, 2019). Esse risco pode aumentar com um maior tempo de amamentação, podendo chegar a 30% de chance. É estimado que no Brasil haja pelo menos 2.600 novos casos por ano de HTLV originado pelo aleitamento (Rosadas *et al.*, 2018).

A transfusão sanguínea também é um fator de risco para a infecção do HTLV. No entanto, desde 1993 o Brasil adotou o teste de HTLV na triagem das bolsas sanguíneas, assim esse risco é reduzido atualmente. No entanto, aqueles que receberam transfusões antes de 1993 apresentam maior risco de terem contraído o vírus HTLV por essa via (Lopes; Proietti, 2008).

Aproximadamente 90% dos portadores de HTLV permanecem assintomáticos ao longo da vida, no entanto, ainda apresentam a capacidade de transmissão do vírus (Millen; Thoma-Kress, 2022). Além disso, por se tratar de uma infecção negligenciada e os testes serem de difícil acesso, a transmissão acontece de forma despercebida, dificultando o trabalho dos profissionais de saúde e um levantamento epidemiológico detalhado. Vale ressaltar que não existe cura ou um tratamento específico para o HTLV, até então todos os cuidados são paliativos (Rosadas *et al.*, 2021).

2.5 Morfologia e estrutura genômica do HTLV

O HTLV é um vírus envelopado esférico de tamanho médio entre 80 e 120 nm, possuindo estrutura similar a outros retrovírus (Figura 2). O envelope tem constituição lipoprotéica, na sua superfície é possível encontrar as glicoproteínas

estruturais gp46, que realiza a interação vírus-célula, e a gp21; na superfície interna do envelope se encontra a proteína de matriz p19. Em seu capsídeo é encontrado a proteína p15, essa estrutura possui um formato icosaédrico e protege o material genético. No nucleocapsídeo, estão presentes as duas fitas de RNA genômico viral e as enzimas associadas, transcriptase reversa, integrase e protease (Mahieux, 2011).

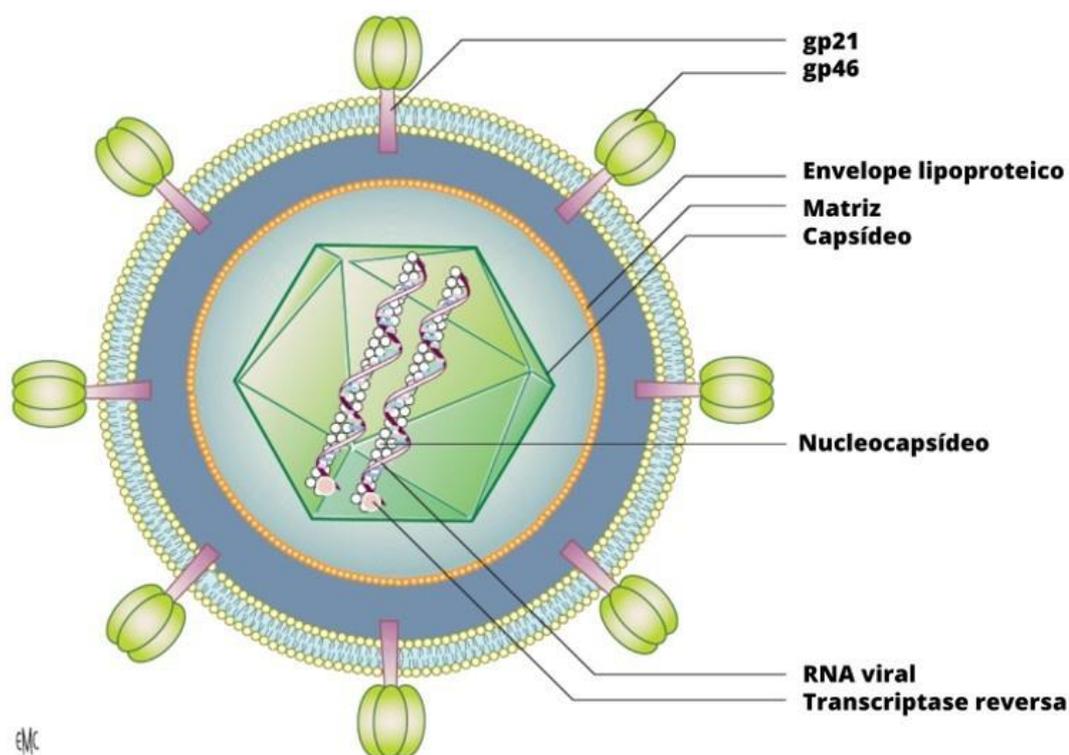


Figura 2. Estrutura morfológica do vírus HTLV. Fonte: Olindo e Jaennin (2014).

O HTLV-1 e o HTLV-2 possuem, respectivamente, um genoma composto por 9.032 e 8.952 nucleotídeos. Quando comparados, ambos os tipos virais possuem uma semelhança de 65% em seus genomas (Gessain, 2004). Assim como os demais retrovírus, possuem os genes essenciais para a replicação viral, *gag*, *pol* e *env*, que se encontram entre longas terminações repetidas (*long terminal repeats*, LTR) nas extremidades 3' e 5' do RNA genômico viral. Adicionalmente, os vírus T-lymfoftrópicos humanos apresentam uma região característica chamada *pX*, que

contém alguns genes específicos, como *tax* e *rex*, além dos genes *hbx* para HTLV-1 e *aph-2* para HTLV-2 (Figura 3) (Gessain, 2004; Martinez; Al-Saleem; Green, 2019)

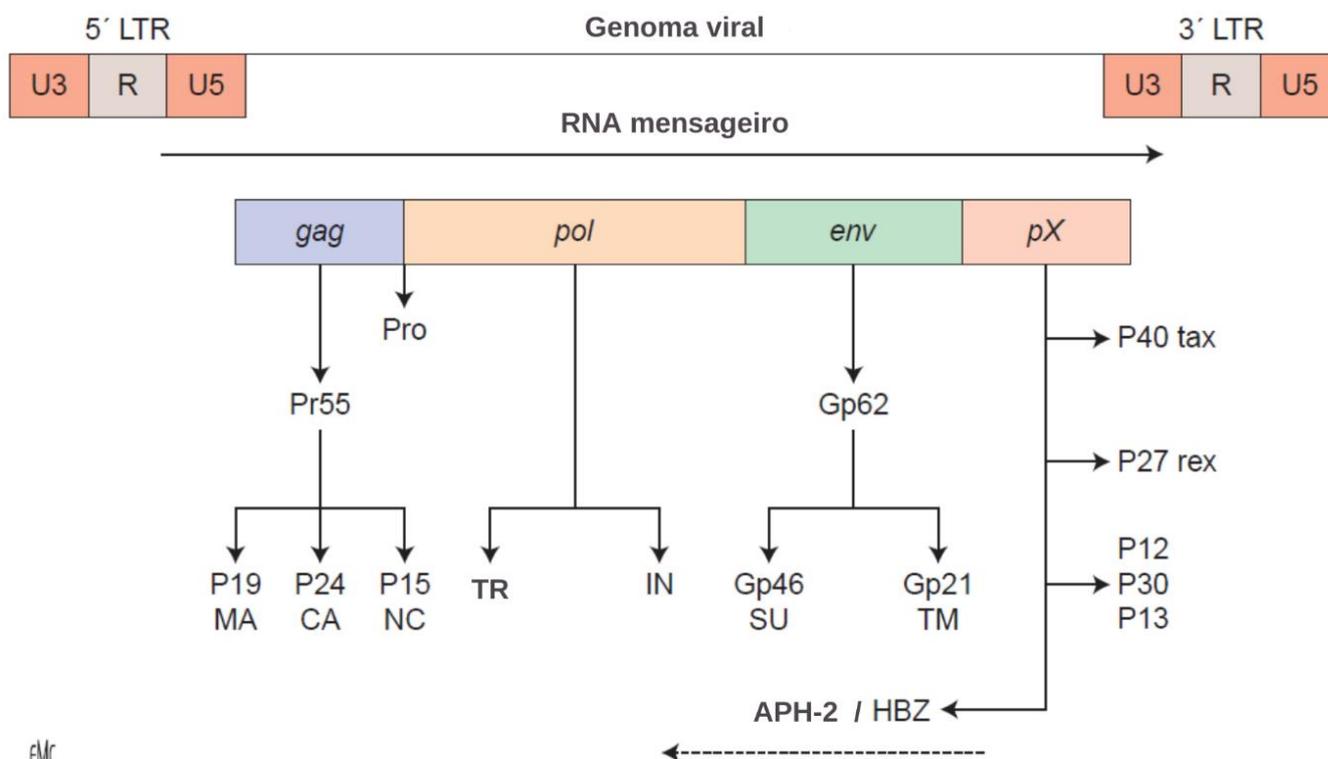


Figura 3. Organização genômica do vírus HTLV. Matriz (MA); capsídeo (CA); nucleocapsídeo (NC); transcriptase reversa (TR); integrase (IN); proteína de superfície (SU); proteína transmembrana (TM). Fonte: Adaptado de Olindo e Jaennin (2014).

As regiões LTR se encontram nas extremidades 5' e 3' do genoma proviral, ou seja, flanqueiam todos os genes do genoma do HTLV. Essas regiões são importantes por atuarem na integração do DNA proviral no genoma da célula hospedeira, e por possuírem elementos promotores e regulatórios (Seiki *et al.*, 1983; Shimotohno *et al.*, 1985). Além disso, pode ser dividida em três sub-regiões, U3, R e U5, em que a primeira abriga os elementos essenciais para o início da transcrição viral, como a TATA box e os elementos responsivos da Tax (*Tax responsive elements* – TREs), que são constituídos por 21 pares de bases (Shimotohno *et al.*, 1985; Tan; Horikoshi; Roeder, 1989).

Quando se trata dos genes comuns aos retrovírus, o gene *gag* codifica proteínas estruturais da matriz p19, capsídeo p24 e nucleocapsídeo p15 (Fogarty *et al.*, 2011). Os componentes enzimáticos são codificados pelo *pol*, e são eles a transcriptase reversa, que realiza a transcrição do RNA viral em DNA; a integrase, responsável pela inserção do material genético viral no genoma hospedeiro (Gessain, 2004). Ademais, a região *Pro*, sobreposta aos genes *gag* e *pol*, codifica a protease, que cliva as proteínas codificadas desses dois genes (Shuker *et al.*, 2003). Ainda sobre os genes em comum, o gene *env*, codifica os elementos do envelope viral: as glicoproteínas gp46, com a função de realizar a interação vírus-célula; e a gp21, uma proteína transmembranar com função de sustentar a gp46, como é mostrado na Figura 2 (Maksimova; Panfil, 2022).

Em relação às particularidades do genoma do HTLV, têm-se a região *pX* localizada próxima à extremidade 3'. Essa região possui quatro quadros de leitura aberta (*open reading frames* ou ORFs), que codificam proteínas acessórias e regulatórias importantes para a expressão viral, associadas a processos patológicos e de imortalização dos linfócitos infectados (Feuer; Green, 2005).

A primeira ORF codifica a proteína p12, uma proteína hidrofóbica localizada no retículo endoplasmático e complexo de Golgi (Koralnik; Fullen; Franchini, 1993). Esse produto desempenha um papel importante no aumento dos níveis de cálcio intracelular, interação com outras proteínas e modifica algumas funções celulares, o que favorece a diferenciação celular e replicação viral (Bai; Nicot, 2012; Ding *et al.*, 2002). A p12 pode ser clivada na proteína p8, essa clivagem exclui o sinal de retenção do retículo endoplasmático, assim a p8 pode ser localizada na membrana plasmática (Koralnik; Fullen; Franchini, 1993). Por possuir essa localização, é sugerido que essa proteína favorece a transmissão do vírus via célula-célula (Bai; Nicot, 2012; Van Prooyen *et al.*, 2010a).

As proteínas p30 e p13 são produtos da ORF-II, que desempenham papéis distintos, porém interligados, na biologia do vírus (Harrod, 2019). A proteína p30 é localizada no núcleo e atua como um regulador negativo da expressão viral, inibindo a atividade da proteína Tax, e assim, modula a transcrição do genoma viral (Bai; Nicot, 2012; Ghorbel *et al.*, 2006). Além disso, a p30 influencia a expressão de genes hospedeiros relacionados à resposta imune inata e adaptativa, o que favorece

a infecção e persistência viral (Moles *et al.*, 2019). Por outro lado, a proteína p13, localizada na mitocôndria, aumenta o fluxo de cálcio pela membrana mitocondrial, o que estimula a produção de espécies reativas de oxigênio, e influencia no apoptose (Ciminale *et al.*, 1999).

Como derivados das ORFs III e IV, destacam-se as proteínas regulatórias Tax (p40) e Rex (p27). A primeira é uma fosfoproteína transativadora, visto que atua induzindo a transcrição viral a partir da região promotora LTR, ativa genes celulares para a produção de citocinas e oncogenes, atuando como um importante fator no desenvolvimento das patologias associadas ao HTLV (Kannagi *et al.*, 2019; Mohanty; Harhaj, 2020b). Em relação à proteína Rex, essa atua como reguladora da expressão gênica viral nos processos pós-transcricionais, além disso, promove o transporte do RNA mensageiro do núcleo para o citoplasma, favorecendo a expressão dos genes comuns aos retrovírus (D'agostino *et al.*, 2019; Nakano; Watanabe, 2022).

Ainda na região *pX*, no HTLV-1 encontra-se na fita negativa um transcrito antisense, conhecido como *basic leucine Zipper (HBZ)* (Barbeau; Mesnard, 2011). A proteína HBZ atua inibindo as funções da proteína Tax. Portanto, estas proteínas atuam como antagonistas desempenhando funções inversas, pois a Tax promove a multiplicação de células infectadas, enquanto a HBZ impede a transcrição viral (Enose-Akahata; Vellucci; Jacobson, 2017).

2.6 Regulação da expressão do genoma proviral

A proteína Tax possui um papel fundamental na regulação da expressão dos elementos virais, regulação essa mediada pela região 5' LTR (Ernzen; Panfil, 2022; Pluta; Jaworski; Douville, 2020). Essa região possui um papel fundamental, visto que, entre as subregiões U3 e R está localizado o sítio de início da transcrição (*transcription start site* – TSS), assim U3 é considerado um promotor viral (Lemasson *et al.*, 2004) (Figura 4).

A subregião U3 contém os elementos de resposta ao Tax (TRE) (Figura 6A), localizado na porção *upstream* em relação a sequência TATA box. Esses elementos são formados por três repetições de 21 pares de bases (pb) denominadas, de

acordo com sua posição em relação ao TSS, distal, central e proximal (Lemasson *et al.*, 2004; Martella; Waast; Pique, 2022; Montagne *et al.*, 1990; Yao; Wigdahl, 2000). Cada repetição de 21 pb contém três domínios conservados (A, B e C), sendo que um deles, o domínio B, possui um papel fundamental na transativação mediada por Tax por possuir uma sequência similar ao elemento responsivo cAMP (CRE), assim, o domínio B também é conhecido como CRE viral (vCRE) (Currer *et al.*, 2012; Goren; Tavor; Honigman, 1999; Kannian; Green, 2010) (Figura 6). Os domínios A e C correspondem, por sua vez, a sequências ricas em GC às quais Tax pode se ligar diretamente, aumentando assim a afinidade dos elementos da transcrição ao DNA (Boxus *et al.*, 2008; Currer *et al.*, 2012; Kannian; Green, 2010; Tie *et al.*, 1996). Em conjunto, os três domínios são os responsáveis pelo início da transcrição mediada por Tax (Martella; Waast; Pique, 2022).

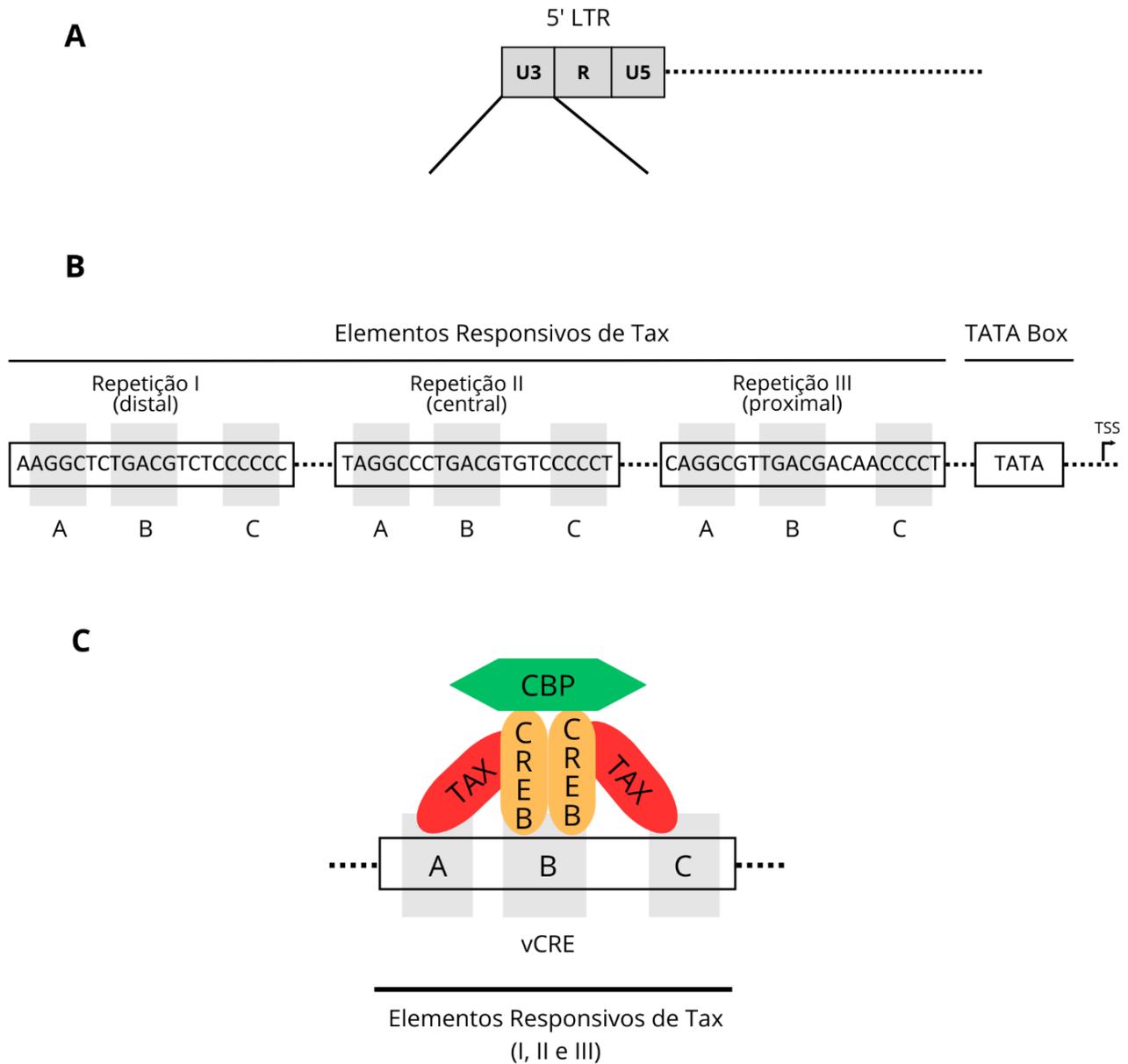


Figura 4. Representação esquemática dos elementos responsivos de Tax (TREs) do HTLV-1. (A) A subregião U3 da 5'LTR é considerada como uma região promotora do genoma proviral, onde é abrigada elementos essenciais para o início da transcrição; (B) Um dos principais elementos presentes nessa região são as TREs, que constituem de três repetições de 21 pb, cada uma dividida em três domínios (A, B e C), localizados a jusante da TATA box; (C) Em cada repetição é formado um complexo constituído de fatores de transcrições celulares recrutados pela proteína viral Tax. O fator CREB se liga ao domínio B, também conhecido como CRE viral (vCRE). Os domínios A e C são utilizados como apoio para a proteína Tax, e assim, estabilizar o complexo de transcrição. Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

A transcrição viral é iniciada mediante a interação entre proteínas constituída, principalmente, pela proteína de ligação ao elemento responsivo cAMP (CREB), Tax e a proteína de ligação ao CREB (CBP) (Figura 4C) (Azran; Schavinsky-Khrapunsky; Aboud, 2004; Currer *et al.*, 2012; Giebler *et al.*, 1997). A dimerização entre as proteínas CREB e Tax ocorre na região vCRE do TRE, formando um homodímero entre essas moléculas. A proteína Tax, como dito anteriormente, se associa aos domínios A e C do TRE, que flanqueiam o vCRE, e assim, confere maior especificidade de ligação do dímero CREB ao DNA (Akbarin *et al.*, 2024; Currer *et al.*, 2012; Giebler *et al.*, 1997; Montagne *et al.*, 1990; Yao; Wigdahl, 2000). Como pode ser observado, a interação entre os elementos proteicos Tax e CREB ao TRE, possuem um papel fundamental para o início da transcrição na região 5'LTR.

Para auxiliar no processo iniciado por Tax e CREB, a proteína Tax recruta a proteína de ligação CBP (Zhang *et al.*, 2008). Essa proteína possui atividade de acetiltransferase de histonas, que modifica a cromatina, tornando-a mais acessível para os fatores de transcrição, facilitando as funções de CREB (Mohanty; Harhaj, 2023; Zhang *et al.*, 2008). Dessa forma, CBP atua como uma ponte entre o complexo Tax/CREB e a maquinaria transcricional basal, estabilizando a interação e promovendo a ativação eficiente da transcrição dos elementos virais (Currer *et al.*, 2012; Nyborg; Egan; Sharma, 2010; Zhang *et al.*, 2008).

A interação entre a proteína Tax, os elementos responsivos TRE e os fatores de transcrição CREB e CBP, destaca a complexidade do controle da transcrição mediada por fatores virais e do hospedeiro (Plant; Bellefroid; Van Lint, 2023). Essa interação é fundamental para a replicação do HTLV-1, contribuindo para a capacidade de manutenção da infecção e progressão para diferentes estados clínicos associados ao HTLV-1 (Ernzen; Panfil, 2022). Compreender esses mecanismos e os papéis que a proteína Tax possui nessa relação pode revelar potenciais alvos terapêuticos para o desenvolvimento de estratégias antivirais que visem interromper a transcrição de HTLV-1 e mitigar os impactos clínicos associados à infecção (Pluta; Jaworski; Douville, 2020; Schnell; Kohrt; Thoma-Kress, 2021).

2.7 Ciclo de replicação e disseminação

O ciclo de replicação do HTLV segue a base de todos os retrovírus, tendo como início a adsorção do vírus pela célula hospedeira. Esse processo ocorre devido à interação entre a glicoproteína viral gp46 e os receptores de superfície da membrana GLUT-1 (transportador de glicose 1), NRP-1 (neuropilina 1) e HSPG (sulfato de heparano proteoglicano) (Figura 5), o principal alvo desse vírus são os linfócitos T CD4+, mas podem infectar outras células do sistema imune, como os linfócitos T CD8+ (Martin *et al.*, 2016).

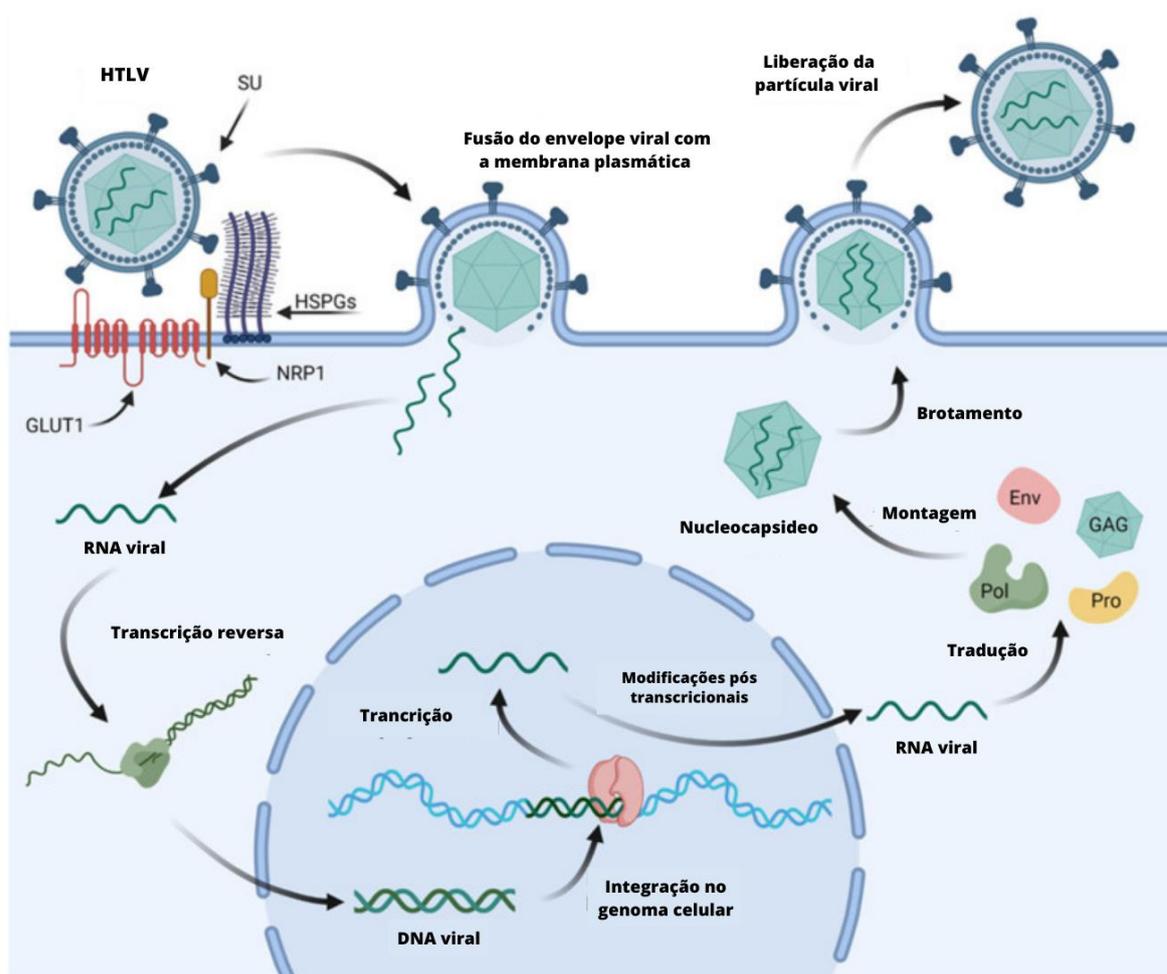


Figura 5. Etapas do ciclo de replicação do vírus HTLV. Fonte: Adaptado de Machado et al (2022).

Após a penetração, o cerne viral é liberado no citoplasma da célula, sendo iniciado o processo de transcrição reversa do RNA viral pela enzima transcriptase reversa para a formação de um DNA de fita dupla (Hulme; Perez; Hope, 2011). Esse

DNA é transportado até o núcleo e com o auxílio da enzima integrase, ocorre integração ao genoma da célula hospedeira, passando a ser chamado de DNA proviral (Tekeste *et al.*, 2015). A integração no genoma da célula hospedeira não é totalmente aleatória, o vírus favorece a integração próximo a genes do hospedeiro, ilhas de CpG e locais com marcas epigenéticas associadas a regulação gênica (Melamed *et al.*, 2013; Satou *et al.*, 2016).

Com a estabilização do DNA proviral, moléculas de RNA são transcritas. Na primeira etapa são codificadas as proteínas do envelope gp46 e gp21; em seguida são sintetizadas as proteínas regulatórias Tax e Rex; por último é transcrito o RNA que compõem o genoma do HTLV e auxilia na transcrição das regiões *gag* e *pol* (Kashanchi; Brady, 2005). Finalizadas as etapas de transcrição, o RNA viral e as proteínas do capsídeo são montadas no citoplasma (Zhang *et al.*, 2015).

Nas pessoas vivendo com o HTLV, partículas livres do vírus são normalmente indetectáveis no plasma (Demontis *et al.*, 2015). Sendo assim, a difusão do vírus ocorre por meio de infecções *de novo* ou por expansão clonal (Futsch; Mahieux; Dutartre, 2017; Wattel *et al.*, 1996). A primeira forma ocorre pelo contato entre uma célula T infectada e outra célula livre da infecção (transmissão célula-célula), em que os componentes virais são transferidos para a célula alvo (Bangham, 2003). A outra forma de disseminação, e a mais comum, é a expansão clonal de células infectadas, via mitose (Wattel *et al.*, 1996).

A transmissão célula-célula pode ocorrer de três principais formas, sinapse viral, formação de conduítes e biofilme viral (Igakura *et al.*, 2003; Pais-Correia *et al.*, 2009; Van Prooyen *et al.*, 2010b). A primeira forma é caracterizada por uma reorganização do citoesqueleto e moléculas de adesão da célula infectada, que forma uma área de contato especializada (Bangham, 2003; Igakura *et al.*, 2003; Nejmeddine; Bangham, 2010). Essa área de contato permite a passagem direta de partículas e material genético do HTLV, levando a um novo ciclo na célula alvo (Futsch; Mahieux; Dutartre, 2017).

Além da sinapse viral, foi relatado que a proteína viral p8 é capaz de induzir a formação de conduítes celulares (nanotubos intercelulares), que facilita a passagem de algumas proteínas codificadas pelos genes *gag* e *env* (Futsch; Mahieux; Dutartre, 2017; Van Prooyen *et al.*, 2010b). Por fim, a última forma de infecção pelo contato

célula-célula é proporcionada pela formação de biofilmes, em que a célula infectada forma uma estrutura na matriz extracelular, rica em carboidratos que retém partículas do HTLV (Pais-Correia *et al.*, 2009).

A transmissão célula-célula tem como mediador principal a proteína M-Sec do hospedeiro (Hiyoshi *et al.*, 2021). Estudos mostraram que a inibição desta proteína em células infectadas reduziu a infecção viral em experimentos *in vitro* e modelo animal, sugerindo que a M-Sec desempenha um papel importante na disseminação do HTLV (Hase *et al.*, 2009; Hiyoshi *et al.*, 2025). Essa proteína é capaz de regular a indução de protusões de membrana e estabilizar os conduítes celulares, facilitando a sinapse virológica descrita anteriormente (Hase *et al.*, 2009).

A forma mais eficiente de disseminação do vírus é por meio da expansão clonal das células infectadas (Cimarelli *et al.*, 1996; Wattel *et al.*, 1996). Nessa forma, as células infectadas passam por sucessivas divisões mitóticas, e assim, o DNA proviral é replicado junto com o material genético da célula hospedeira durante a divisão celular (Bangham; Cook; Melamed, 2014).

2.8 Epidemiologia molecular

O HTLV é um vírus com baixa taxa evolutiva, mas algumas regiões do seu genoma, como a LTR, apresentam uma alta variabilidade (Afonso; Cassar; Gessain, 2019; Van Dooren *et al.*, 2004). Utilizando essa região para análises filogenéticas, o HTLV pode ser classificado em sete genótipos (subtipos), sendo eles: -a/Cosmopolita, encontrado em diversas áreas endêmicas do globo (Miura *et al.*, 1994); -b/Africano Central (Vandamme *et al.*, 1994); -c/Australo-Melanesio (Bastian *et al.*, 1993); e outros genótipos foram encontrados em algumas populações remotas da África Central, sendo eles os subtipos -d, -e, -f e -g (Mahieux *et al.*, 1997; Salemi *et al.*, 1998; Wolfe *et al.*, 2005). A distribuição desses genótipos pode ser observada na Figura 6.

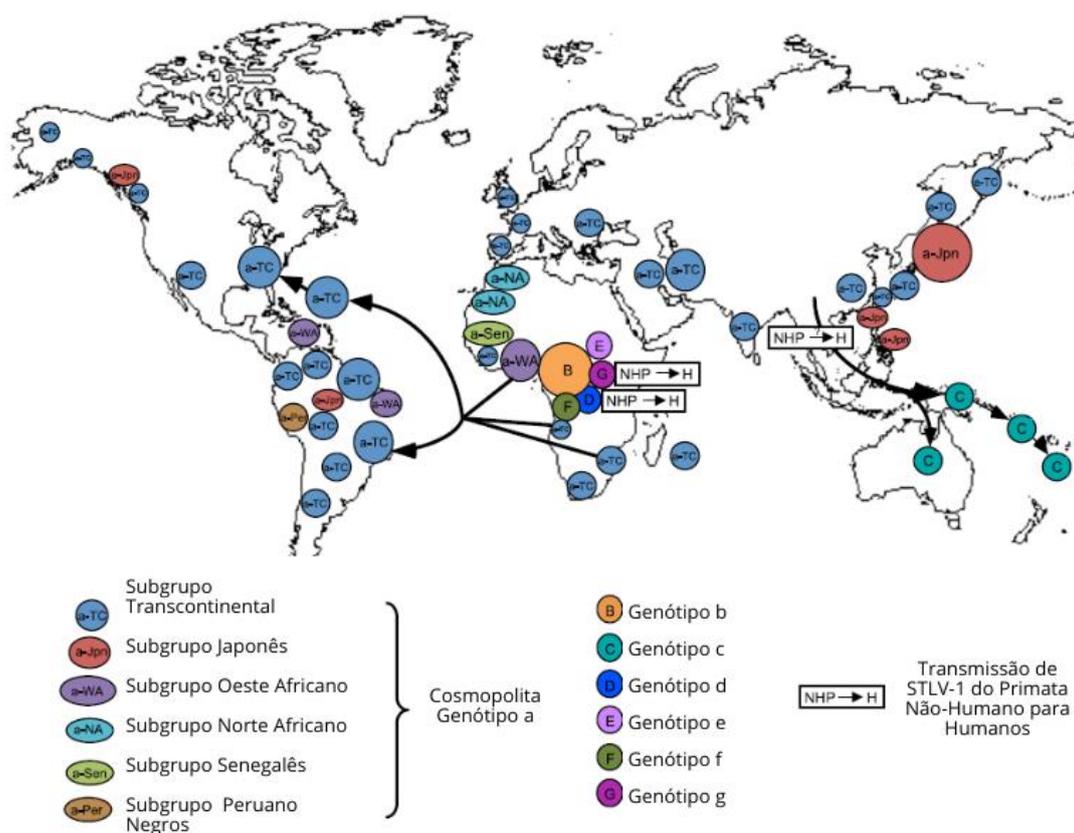


Figura 6. Distribuição geográfica dos sete principais genótipos do HTLV-1 (a-g) e dos subgrupos do genótipo Cosmopolita. Fonte: Adaptado de Afonso, Cassar e Gessain (2019).

O subtipo Cosmopolita é o mais prevalente e amplamente distribuído, sendo relatado em quase todos os continentes. Por possuir essas características, esse genótipo pode ser subdividido em seis subgrupos: A/Transcontinental, B/Japonês, C/Oeste Africano, D/Norte Africano, E/Peruanos Negros e F/Senegalês (Afonso; Cassar; Gessain, 2019).

No Brasil, o genótipo mais encontrado é o cosmopolita HTLV-1a, desse subtipo, o subgrupo mais prevalente é o Transcontinental, e em seguida, o Japonês. Essa característica se deve ao fato do processo de colonização do Brasil, durante o período pós-colombiano, o subgrupo Transcontinental teve a sua chegada por meio do tráfico de escravos (Amoussa et al., 2017; Ishak et al., 2020). Já o subgrupo Japonês teve a sua entrada mais recente, por meio da imigração japonesa no século

XX, e até então, esse genótipo só foi relatado em imigrantes japoneses (Pessoa *et al.*, 2014).

A epidemiologia molecular do HTLV-1 também pode ser estudada a partir das variações genéticas de regiões codificantes, como o gene *tax*, que resultaram na classificação de dois genótipos principais, *taxA* e *taxB* (Furukawa *et al.*, 2000). O genótipo *taxA*, também conhecido como transcontinental, está amplamente distribuído em regiões fora do Japão, incluindo Américas, África e Europa, sendo associado ao subgrupo cosmopolita do HTLV-1a (Iñiguez *et al.*, 2010; Magri *et al.*, 2012; Gomes *et al.*, 2021). Já o genótipo *taxB*, denominado japonês, é predominante no Japão e em áreas do Pacífico, onde o vírus é endêmico (Furukawa *et al.*, 2000; Nozuma *et al.*, 2024; Penova *et al.*, 2021). Estudos filogenéticos demonstram que essas variações genóticas estão relacionadas a marcadores geográficos, mas também podem refletir padrões históricos de migração e disseminação do vírus (Furukawa *et al.*, 2000; Magri *et al.*, 2012; Nozuma *et al.*, 2024; Sonoda; Li; Tajima, 2011). No Brasil, o principal genótipo encontrado é o *taxA*, e em menor proporção, também é possível encontrar o genótipo *taxB*, reflexo do processo de entrada do vírus no país discutido anteriormente (Ishak *et al.*, 2020b; Kashima *et al.*, 2006; Magri *et al.*, 2012; Neto *et al.*, 2011).

2.9 Patologias associadas ao HTLV

A maioria dos portadores do HTLV permanece sem manifestar algum sintoma durante toda a vida. Entretanto, algumas patologias graves estão associadas a esse vírus, às principais são mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM), linfoma de células T do adulto/leucemia (ATLL) e a dermatite infecciosa associada ao HTLV-1 (DIH) (Watanabe, 1997).

A HAM é uma doença neurodegenerativa de caráter inflamatório que causa lesões na medula espinhal (Enose-Akahata; Jacobson, 2019). Se trata de uma condição incapacitante e progressiva, possui como principais sinais clínicos fraqueza dos membros inferiores, dor lombar que pode se estender aos membros inferiores, baixa sinalização sensorial, disfunções urinárias, retais e eréteis nos homens (Enose-Akahata; Vellucci; Jacobson, 2017; Gessain, 2004). Além disso, essa

doença é geralmente manifestada em mulheres adultas com idades entre 40-50 anos, o quadro clínico não apresenta remissão e pode variar em cada paciente (Iwanaga *et al.*, 2010).

A principal característica definidora da HAM é resultado de um processo inflamatório crônico resultado da infiltração linfocitária na medula espinhal, o que causa uma degradação na região, atrofia e neurodegeneração. Como consequência, têm-se os sintomas citados anteriormente, que podem se manifestar de forma discreta, mas evoluírem de forma repentina (Bangham *et al.*, 2015; Legrand *et al.*, 2022).

Apesar de possuir uma característica inflamatória resultante da resposta imune do hospedeiro, a HAM não é considerada uma condição autoimune (Bangham *et al.*, 2015). A infecção pelo HTLV pode ocasionar uma desregulação na rede de citocinas do hospedeiro, o que pode resultar em um estado imunodepressivo ou inflamatório, como é o caso da HAM (Futsch *et al.*, 2018).

Outras condições neurológicas, além da HAM, podem estar relacionadas ao HTLV-1 (Araujo; Wedemann, 2019; Khan *et al.*, 2017). O conjunto dessas síndromes é conhecido como “Complexo neurológico relacionado ao HTLV-1”, que representa um agrupamento de condições subdiagnosticada em portadores da infecção. Algumas dessas síndromes são as miopatias, disautonomia, polineuropatia, esclerose lateral amiotrófica, déficit cognitivo, dentre outros (Araujo; Wedemann, 2019; Ferreira *et al.*, 2024). Essas condições podem ser manifestadas em conjunto ou de forma isolada da HAM, e podem passar de forma despercebida no diagnóstico clínico, visto que a maioria dos estudos se concentram na HAM (Ferreira *et al.*, 2024).

A ATLL é uma neoplasia agressiva associada ao aumento do número de células T CD4+ diferenciadas. Apesar de estar associada ao tecido hematopoiético e linfático, essa patologia acomete outros órgãos e tecidos, como pele, pulmão, fígado e o sistema nervoso (Iwanaga, 2020). Essa patologia possui algumas características clínicas graves, dentre elas estão as lesões na pele com erupções cutâneas, inchaço nos gânglios, hipercalcemia, hepatoesplenomegalia e linfócitos multinucleados com aspecto de flor (Figura 7) (Giam, 2021; John; Abdullah; John, 2020). A condição é resistente a diversos tratamentos e muitas das vezes chega a ser fatal, os pacientes possuem cerca de 1 ou 2 anos de vida restantes (Giam, 2021).

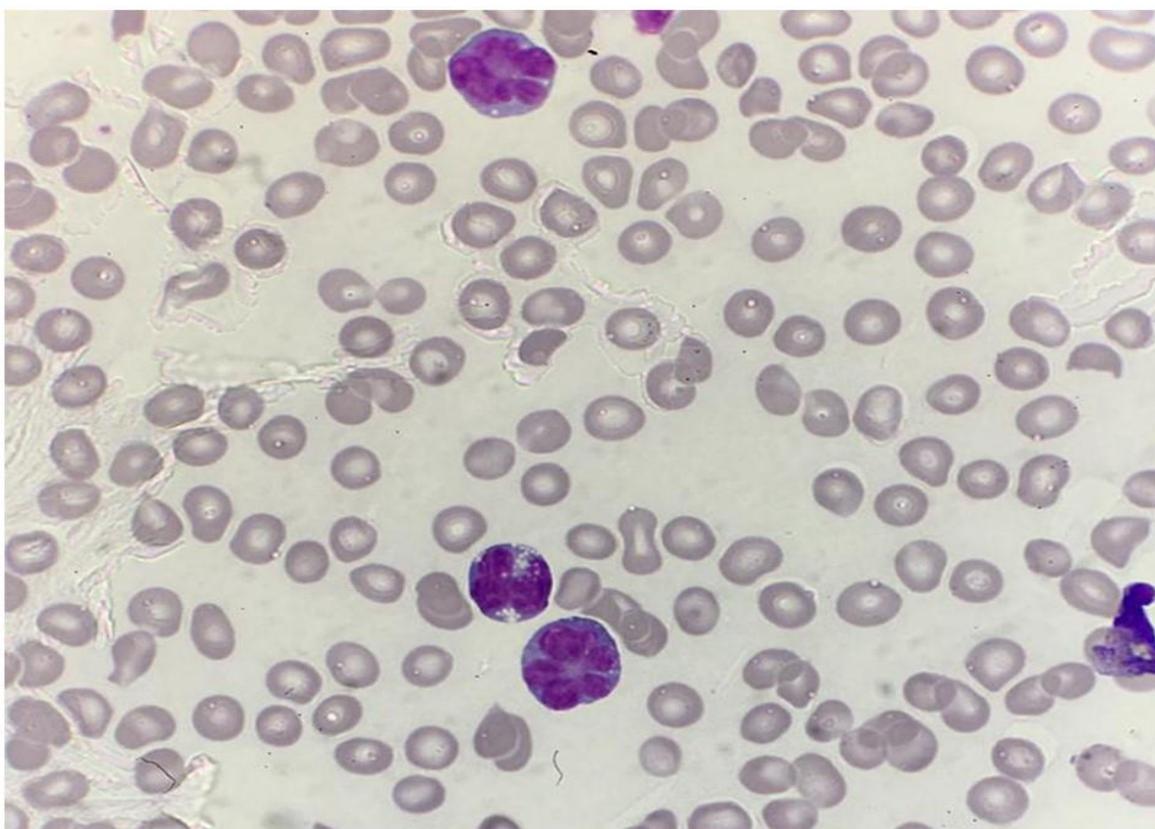


Figura 7. Linfócitos T multinucleados com aspecto de flor, característica de pacientes com ATLL. Fonte: John, Abdullah, John (2020).

Existe uma classificação para enquadramento quanto ao nível da ATLL, podendo se classificar nas formas aguda, crônica, linfomatosa ou linfoma e indolente (*smoldering*), as duas primeiras são mais agressivas e podem ser fatais. Ademais, a

patologia se manifesta principalmente em adultos acima de 50 anos do sexo masculino (Iwanaga, 2020).

A terceira manifestação mais comum é a DIH e diferente das outras, essa é mais comum em crianças, que provavelmente adquiriram o HTLV pela via vertical. Como manifestações clínicas, a mais clássica é a formação de eczemas no couro cabeludo com aspecto escamoso e formam crostas, essas lesões podem atingir outras partes do corpo, como o pescoço, axilas, tronco e genitália (Bravo, 2020). Essa condição foi descrita primeiramente na Jamaica em 1990, e no Brasil o estado da Bahia vem relatando um elevado número de casos de crianças manifestando DIH (Blattner *et al.*, 1990; Oliveira *et al.*, 2005).

Todas essas patologias associadas ao HTLV podem ser encontradas em regiões endêmicas para o vírus, exceto a DIH no Japão, que foram registrados poucos casos (Bravo, 2020; Watanabe, 1997). Ademais, ainda não são totalmente esclarecidos os motivos que levam ao desenvolvimento dessas condições (Forlani *et al.*, 2021).

2.10 O papel da Tax na patogênese da infecção

Sabe-se que o HTLV-1 pode ocasionar duas patologias distintas, HAM e ATLL, mas a forma como essa infecção progride para tais enfermidades ainda é motivo de estudos. Até o momento, estudos apontam que a proteína Tax desempenha papéis cruciais no desenvolvimento das patologias associadas ao HTLV, visto que, atua na expressão de genes virais e do hospedeiro (Matsuoka; Jeang, 2010; Miura; Naito; Saito, 2022). Dessa forma, a interação entre essa proteína viral e o hospedeiro proporciona um ambiente ideal para a progressão da infecção (Brites *et al.*, 2021).

O HTLV expressa a proteína Tax, uma molécula multifuncional que desempenha diversas funções relacionadas ao ciclo viral e interfere em algumas vias celulares (Azran; Schavinsky-Khrapunsky; Aboud, 2004; Mohanty; Harhaj, 2020a). Essa proteína é conhecida por sua elevada antigenicidade, sendo o principal alvo das células T citotóxicas (CTLs), e capacidade transativadora de regiões promotoras do vírus e do hospedeiro, ou seja, aumenta a transcrição de genes do

HTLV e genes celulares, que promovem a sobrevivência e imortalização das células T (Figura 8) (Rabson *et al.*, 2024).

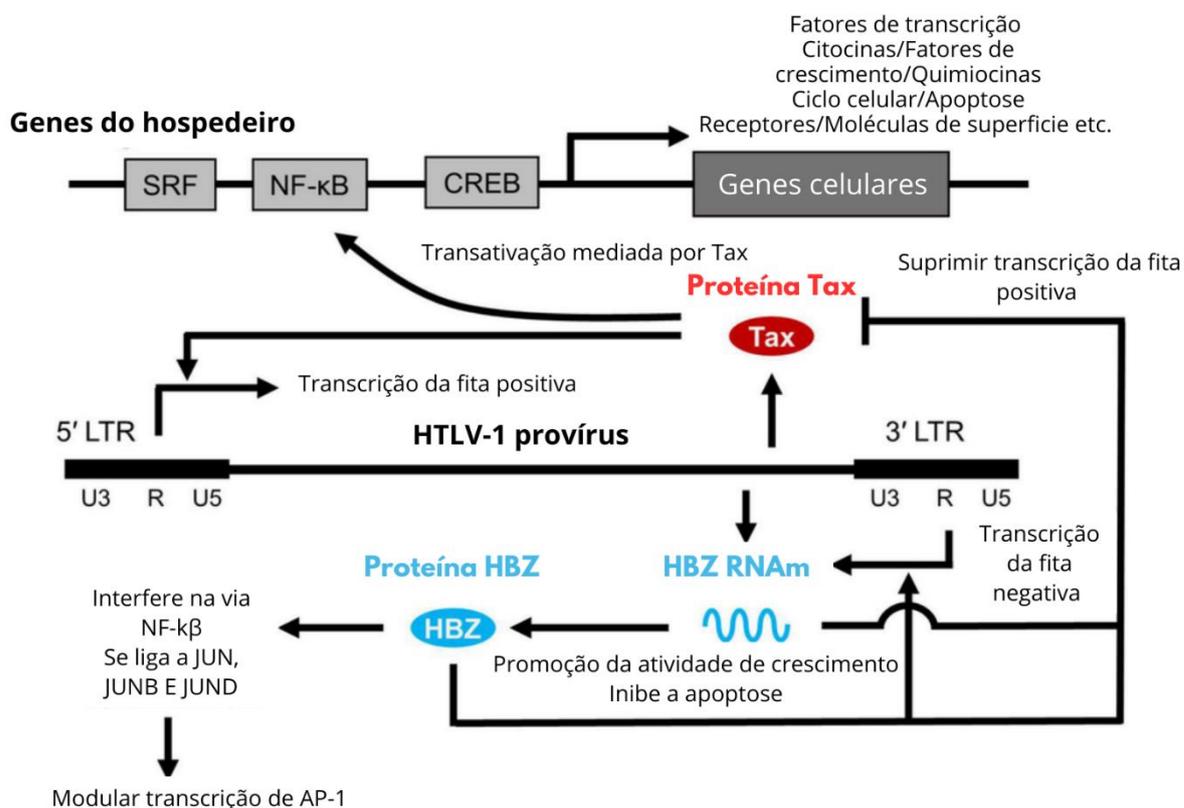


Figura 8. O papel de Tax e HBZ na regulação da expressão de genes virais e do hospedeiro. A interação dessas proteínas com a célula pode levar a estados sintomáticos como HAM ou ATLL. Fonte: Adaptado de Miura, Naito e Saito (2022).

A proteína Tax se liga a diversas proteínas e interfere em algumas vias, como a proteína de ligação ao elemento de resposta cAMP (CREB) e os fatores nucleares kB (NF-κB) (Rabson *et al.*, 2024). A proteína Tax forma um heterodímero com CREB, essa interação tem como objetivo aumentar a afinidade dos Elementos Responsivos de Tax (TREs) e fatores de transcrição na região LTR do genoma proviral, e assim, potencializar a transcrição dos genes virais (Franklin *et al.*, 1993; Journo; Douceron; Mahieux, 2009; Yin; Gaynor, 1996). Em relação a NF-κB, essa é uma família de fatores de transcrição essenciais para a regulação da resposta imunológica, inflamação, sobrevivência celular e apoptose. A relação entre Tax e a via NF-κB induz a ativação de inúmeras citocinas e seus receptores, IL-2, IL-4, IL-6, IL-9, IL-15, essas estão associadas a sobrevivência e estado proliferativo das células infectadas (Azimi *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 2008; Hleihel *et al.*, 2023; Li-Weber *et al.*, 2001; Mcguire *et al.*, 1993; Muraoka *et al.*, 1993). Além disso, essa

interação ativa a produção de algumas citocinas e quimiocinas inflamatórias, como fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interferon- γ (IFN- γ) e IL-1 α , que podem levar ao quadro de HAM (Ahuja *et al.*, 2007; Mori; Prager, 1997).

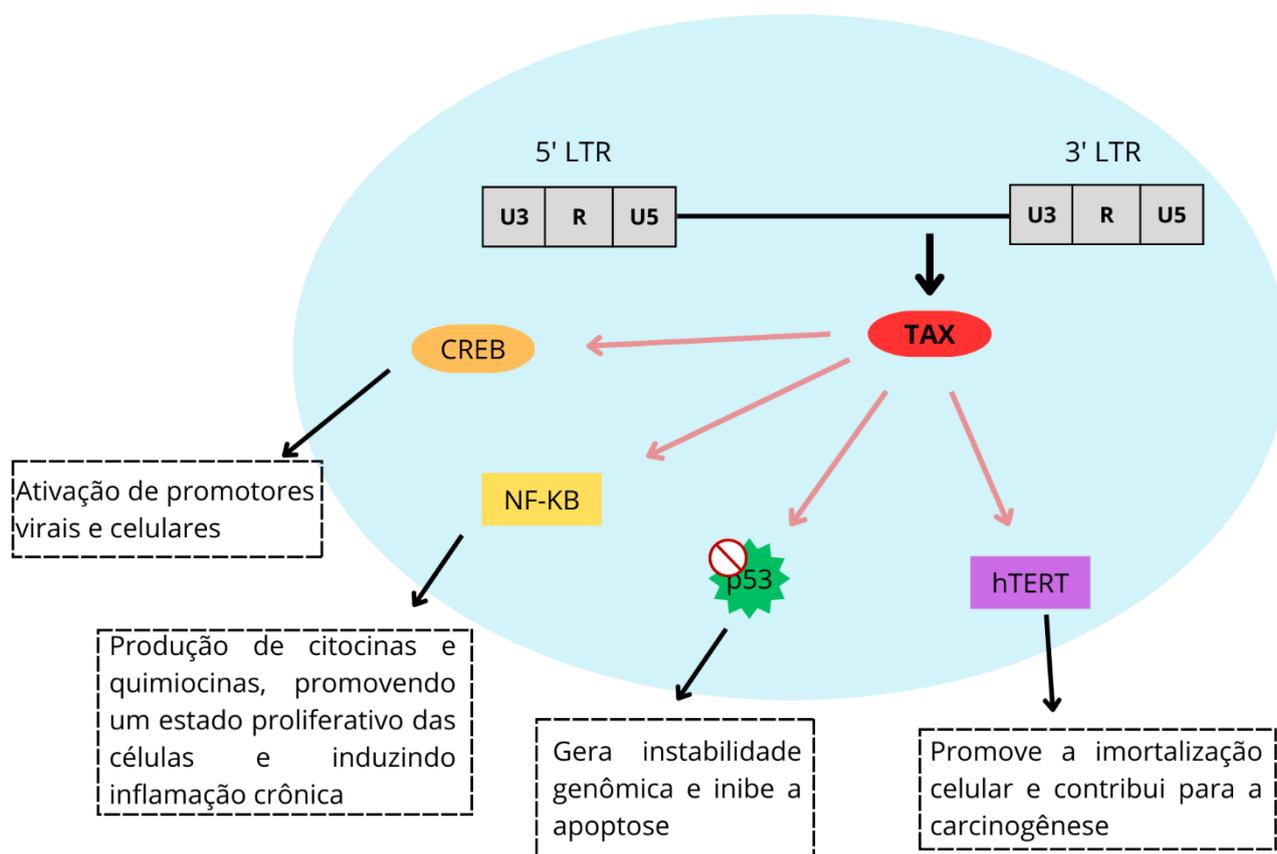


Figura 9. Representação esquemática das principais funções da proteína viral Tax. Essa proteína é transcrita a partir do genoma proviral e atua interferindo em algumas vias celulares. Tax recruta fatores de transcrição, como a proteína CREB, e assim estimula a transcrição de genes do hospedeiro e do vírus. A proteína Tax também estimula de forma positiva a via NF-kB, ocasionando a produção de citocinas que estimulam a proliferação celular e quimiocinas pro-inflamatórias, que contribuem para a progressão da HAM. Além da HAM, a proteína Tax interfere em fatores que podem levar ao desenvolvimento da ATLL, como inibir a atividade da proteína p53 e ativar a hTERT. Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Além da HAM, a proteína Tax também está envolvida com o início do processo de carcinogênese que leva à ATLL (Mohanty; Harhaj, 2020a). Essa proteína pode desregular o ciclo celular e inibir a apoptose, principalmente por meio da inibição da proteína supressora de tumor p53, que é essencial para a indução de apoptose mediante erros no ciclo celular (Jeong *et al.*, 2004; Mulloy *et al.*, 1998;

Pise-Masison *et al.*, 1998). Outra característica da carcinogênese relacionada a Tax, é a ativação da transcriptase reversa da telomerase (hTERT) pela via NF-kB (Sinha-Datta *et al.*, 2004). A ativação da hTERT contribui para o processo de imortalização das células, uma vez que, ao manter a atividade da telomerase elevada, Tax impede a senescência celular, promovendo assim a imortalização e proliferação ao manter a integridade dos telômeros (Bellon; Yuan; Nicot, 2021; Kubuki *et al.*, 2005; Uchida *et al.*, 1999).

Apesar da Tax ser importante para a progressão de um estado assintomático para a ATLL, a expressão dessa proteína é praticamente ausente no estado de ATLL (Franchini; Wong-Staal; Gallo, 1984; Saito *et al.*, 2009). Isso pode ser explicado por três fatores: deleção da região 5'LTR (Miyazaki *et al.*, 2007; Tamiya *et al.*, 1996a); mutações no gene *tax* (Furukawa *et al.*, 2001); e metilação da região 5'LTR (Koiwa *et al.*, 2002; Takeda *et al.*, 2004; Taniguchi *et al.*, 2005).

Outra proteína viral importante de ser mencionada no que se refere a patogênese é o HBZ. Essa é uma proteína nuclear transcrita do sentido antissenso do genoma proviral a partir da região 3'LTR (Hivin *et al.*, 2005; Raval *et al.*, 2015; Yoshida *et al.*, 2008). Inicialmente, pode-se dizer que essa proteína atua inibindo as funções de Tax, mas ambas não interagem diretamente. O HBZ se liga ao CREB, impedindo-o de ligar a proteína Tax, e assim, resulta em uma baixa regulação da expressão no sentido senso do HTLV-1 (Gaudray *et al.*, 2002; Lemasson *et al.*, 2007). Ademais, o HBZ inibe algumas vias de sinalização que são ativadas por Tax, como a via clássica NF-kB, com o objetivo de aumentar a evasão da resposta imune e contribuir para o desenvolvimento gradual da ATLL (Zhao *et al.*, 2009; Zhao; Matsuoka, 2012).

9.11 Polimorfismos genéticos no genoma proviral

Devido a principal forma de disseminação do HTLV ser por expansão clonal, o uso da transcriptase reversa é mínimo, o que diminui a taxa de mutações (Gessain; Mahieux; Thé, 1996). Apesar dessa maior estabilidade genômica quando comparada com outros retrovírus, o HTLV é passível de mutações que podem ocorrer em regiões de genes regulatórios, como as regiões *tax* (Blanco *et al.*, 2021;

Kubota *et al.*, 2007). Polimorfismos nessas regiões podem levar ao desenvolvimento de variantes de interesse clínico, devido às suas funções relacionadas ao desenvolvimento das patologias associadas à infecção (Lima *et al.*, 2024).

A região *tax* vem sendo descrita desde a década de 90. Um dos polimorfismos mais descritos na literatura é o C7959T, com a sua primeira descrição em 1995 (Renjifo; Borrero; Essex, 1995). Esse polimorfismo foi inicialmente associado ao desenvolvimento de HAM, pois era mais frequente em portadores com essa condição. No entanto, pesquisas posteriores identificaram o C7959T também em indivíduos assintomáticos e em casos de ATLL, sugerindo que ele atua como um marcador geográfico, estando associado ao subtipo cosmopolita do HTLV (Furukawa *et al.*, 2000; Mahieux; Thé; Gessain, 1995).

Tabela 1. Polimorfismos na região *tax* do genoma do HTLV-1 descritos na literatura.

Polimorfismo	Descrição	Referência
G7464A	Códon de parada TAG	Furukawa <i>et al.</i> , 2001
T7891C	Encontrado em diferentes proporções em populações da América do Sul	Kashima <i>et al.</i> , 2006; Iñiguez <i>et al.</i> , 2010; Magri <i>et al.</i> , 2012
C7897T	Associada ao genótipo <i>taxA</i> Ocorrência em países do Caribe, América do Sul, África e Ásia	Renjifo <i>et al.</i> , 1995; Furukawa <i>et al.</i> , 2000; Kashima <i>et al.</i> , 2006; Iñiguez <i>et al.</i> , 2010; Magri <i>et al.</i> , 2012; Gomes <i>et al.</i> , 2021
C7959T	Troca de AA (A>V) Associada ao genótipo <i>taxA</i> Ocorrência em países do Caribe, América do Sul, África e Ásia Associado ao desenvolvimento de HAM	Renjifo <i>et al.</i> , 1995; Mahieux <i>et al.</i> , 1995; Furukawa <i>et al.</i> , 2000; Kashima <i>et al.</i> , 2006; Iñiguez <i>et al.</i> , 2010; Magri <i>et al.</i> , 2012; Nozuma <i>et al.</i> , 2017; Gomes <i>et al.</i> , 2021
G8208A	Troca de AA (S>N) Associada ao genótipo <i>taxA</i> Ocorrência em países do Caribe, América do Sul, África	Furukawa <i>et al.</i> , 2000; Kashima <i>et al.</i> , 2006; Iñiguez <i>et al.</i> , 2010; Magri <i>et al.</i> , 2012; Nozuma <i>et al.</i> , 2017

	e Ásia	Gomes <i>et al.</i> , 2021
A8344C	Associada ao genótipo <i>taxA</i> Ocorrência em países do Caribe, América do Sul, África e Ásia	Furukawa <i>et al.</i> , 2000; Kashima <i>et al.</i> , 2006; Iñiguez <i>et al.</i> , 2010; Magri <i>et al.</i> , 2012 Nozuma <i>et al.</i> , 2017 Gomes <i>et al.</i> , 2021

Alguns polimorfismos na região *tax* foram descritos como marcadores geográficos, como é o caso das mutações C7897T, C7959T, G8208A e A8344C. Furukawa e colaboradores (2000), por meio de análises filogenéticas, descreveram esses polimorfismos como associados ao genótipo cosmopolita *taxA*, enquanto o genótipo selvagem, também conhecido como japonês, corresponde ao *taxB*. Em relação à proteína Tax, apenas os polimorfismos C7959T e G8208A resultam em substituição de aminoácidos, sendo A>V e S>N, respectivamente. Alterações nos aminoácidos podem interferir nas funções da proteína. A substituição A>V ocorre no domínio responsável pela transativação da via NF- κ B, o que pode impactar positivamente ou negativamente essa função (Furukawa *et al.*, 2000; Mohanty; Harhaj, 2020; Renjifo; Borrero; Essex, 1995).

Em muitos casos de ATLL, a expressão de Tax é silenciada. Isso pode ocorrer por mutações do tipo *nonsense* na região codificadora desta proteína. Furukawa e colaboradores (2001) identificaram a mutação G7464A em portadores com ATLL, essa mutação gera um codon de parada, o que faz com que a expressão dessa região seja interrompida nesses casos.

Esses polimorfismos na região *tax* destacam-se pela importância no estudo da variabilidade genética do HTLV-1 e suas possíveis associações com diferentes quadros clínicos, como ATLL e HAM (Cucco *et al.*, 2021; Lima *et al.*, 2024). A identificação dessas mutações, especialmente aquelas que resultam em substituições de aminoácidos em domínios funcionais da proteína Tax, oferece uma compreensão valiosa sobre as vias moleculares que podem estar envolvidas na patogênese viral e na progressão das doenças associadas (Brites *et al.*, 2021).

Além das regiões codificantes do genoma proviral, o estudo de polimorfismos em regiões não codificantes, como a LTR, pode fornecer dados

relevantes sobre a progressão da infecção. Conforme mencionado, a região LTR contém os TREs, elementos importantes na transcrição dos elementos virais, e polimorfismos nas áreas de TREs podem influenciar nessa atividade transcricional (Neto et al., 2011; Gomes et al., 2021). Estudos apontam que a mutação A125G pode estar associada a uma carga proviral elevada em portadores do vírus, sugerindo que esse polimorfismo possa ser um marcador potencial de progressão da infecção, considerando que a carga proviral é um fator de risco para o agravamento do quadro clínico (Magri; Costa; Caterino-De-Araujo, 2012; Neto et al., 2011; Gomes et al., 2021).

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

- Realizar a caracterização molecular dos elementos promotores presentes na região 5'LTR e da região codificante de *tax* no genoma proviral de portadores de HTLV-1 no estado do Maranhão.

3.2. Específicos

- Identificar a infecção pelo HTLV-1 em amostras coletadas no Maranhão;
- Avaliar a presença de polimorfismos nos genes *tax* e elementos responsivos de Tax;
- Determinar o genótipo das amostras com base na região *tax*;
- Associar os polimorfismos encontrados ao estado clínico dos portadores.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho está vinculado ao projeto guarda-chuva aprovado no edital Nº 02/2022 da FAPEMA, que tem a sua gênese a partir de outro projeto multicêntrico que firmou a parceria entre o Laboratório de Genética e Biologia Molecular (LabGeM/UFMA) e o Laboratório de Virologia (LabVir/UFPA).

- ✓ Você sabe o que é HTLV? Estudo soroepidemiológico, molecular e de fatores de risco para infecção pelo vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV-1/2) em diferentes estratos populacionais no Estado do Maranhão, Brasil. Financiamento: FAPEMA (2022 – 2024)
Coordenadora: Hivana Patricia Melo Barbosa Dall’Agnol (UFMA)
- ✓ Marcadores epidemiológicos de frequência (Prevalência) dos HTLV-1/2, seus subtipos moleculares e aspectos sócio-comportamentais de risco para a infecção em populações humanas das Regiões Norte e Centro-Oeste do Brasil. Financiamento: CNPq (2019 – 2022)
Coordenador nacional: Prof. Dr. Antônio Vallinoto (UFPA)
Coordenadora local: Prof. Dra. Hivana Patricia Melo Barbosa Dall’Agnol (UFMA)

4.1 Caracterização do estudo, amostras e critérios

Este é um estudo de corte transversal envolvendo análise do genoma proviral do HTLV-1 em PVHTLV do Maranhão (Figura 10). Foi utilizada uma amostragem de conveniência (N=9) com amostras coletadas durante o período de execução dos projetos supracitados do grupo, onde os pacientes eram recrutados durante o estudo de inquérito epidemiológico na população geral ou eram encaminhados ao LabGeM-UFMA pela médica infectologista do projeto por suspeita de mielopatia associada ao HTLV (De Castro-Costa *et al.*, 2006). Essas amostras foram identificadas a partir de um universo amostral de 554 indivíduos, que até o momento da nossa análise desconheciam o seu status para o HTLV.

A participação no estudo se deu de forma voluntária, todas as PVHTLV assinaram o termo de consentimento livre esclarecido (TCLE) (ANEXO 1) e passaram por um questionário socioepidemiológico (ANEXO 2).

Foram utilizados os seguintes critérios de inclusão e exclusão:

Critérios de Inclusão: i) indivíduos de ambos os sexos que aceitem participar voluntariamente do estudo, e assinaram todos os termos; ii) amostras positivas para HTLV tipo 1.

Critérios de exclusão: i) indivíduos que não assinaram todos os termos, ou com qualquer tipo de déficit mental ou cognitivo; ii) amostras negativas para HTLV tipo 1 ou positivas para HTLV-2.

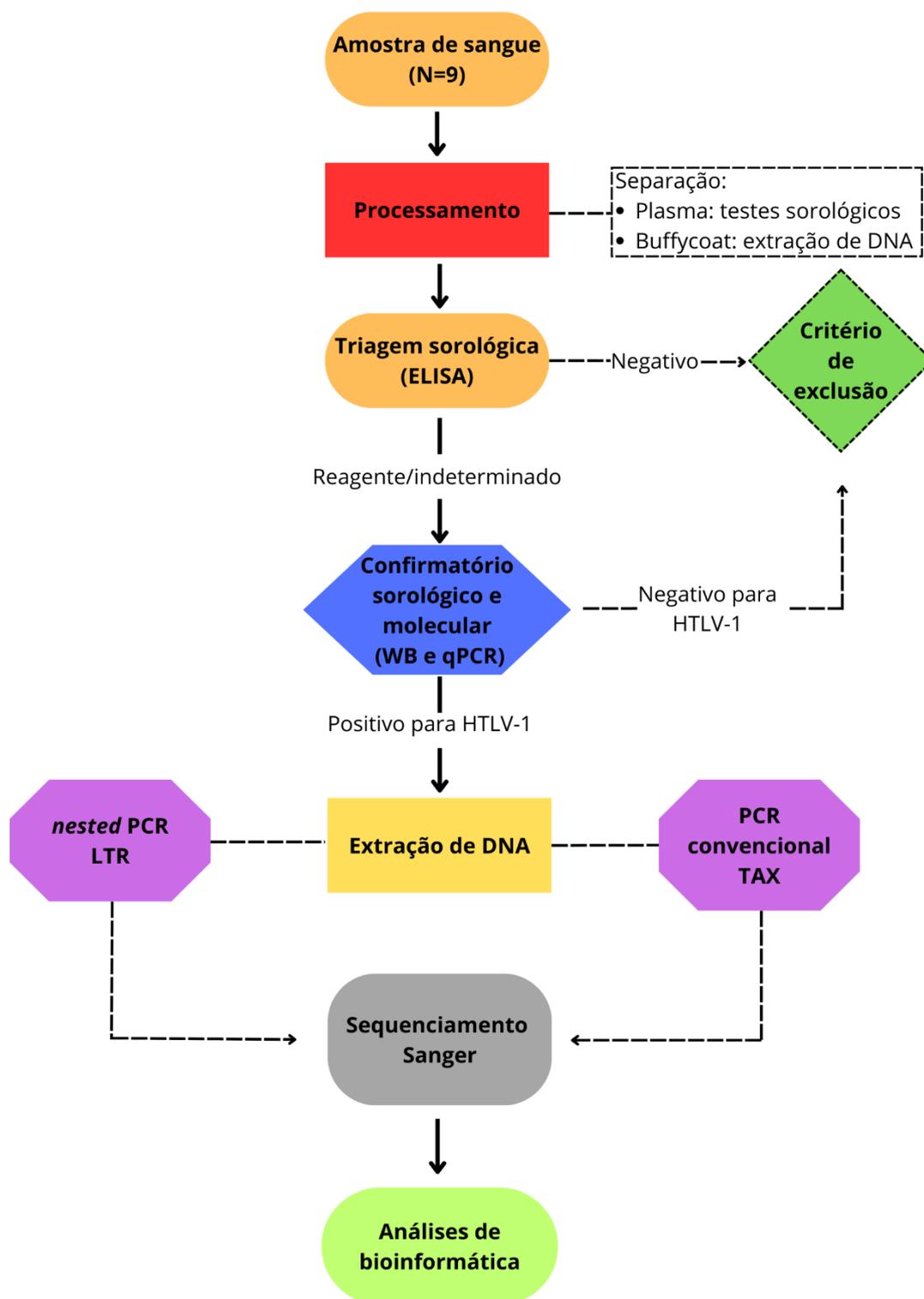


Figura 10. Fluxograma das etapas metodológicas seguidas por este trabalho. Foram utilizadas 9 amostras positivas para HTLV tipo 1 confirmadas pelos testes sorológicos de triagem e confirmatório. O material genético foi obtido a partir da extração de DNA do buffycoat das amostras coletadas. Esse material foi utilizado para os testes moleculares dos alvos de interesse.

4.2 Aspectos éticos

O projeto Guarda-chuva foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa de Seres Humanos do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão, Número do Parecer: 6.878.783. Todos os Termos e Questionários que aqui serão utilizados foram aprovados neste CEP (ANEXO 3).

4.3 Diagnóstico sorológico para HTLV

Foram coletados 5 mL de sangue periférico por um sistema de coleta a vácuo em tubos contendo EDTA como anticoagulante. Em seguida, o sangue foi centrifugado (3600 rpm por 10 minutos) para separar o plasma da massa celular (*buffycoat*), e por fim armazenado separadamente em freezer a -20°C até o momento da análise.

Para a detecção plasmática de anticorpos anti-HTLV-1/2 (anti-gp46 e gp21), foi realizada a triagem utilizando o ensaio imunoenzimático ELISA (Kit GOLD ELISA HTLV I + II, REM, São Paulo, Brasil) e 50 µL de plasma de cada paciente. Esse teste emprega o método tipo "sanduíche" (antígeno-anticorpo-antígeno conjugado), permitindo a detecção de anticorpos totais (IgM, IgG e IgA). O ensaio utiliza antígenos virais fixados previamente nas microplacas, já sensibilizadas pelo fabricante. A leitura da densidade óptica (DO) foi realizada no leitor de microplaca (Biochrom EZ Read 400) utilizando os comprimentos de onda de 450nm e 620 nm, a partir dos controles foi determinado o *cut-off*, calculado a partir da média aritmética dos controles negativos somado a 0,2 para classificar as amostras em reagentes ou não.

As amostras que apresentaram resultados reagentes ou indeterminados no ELISA foram submetidas à confirmação pelo método de *Western Blot* (HTLV BLOT 2.4, MP Diagnostics, Singapura) utilizando 20 µL de plasma de cada paciente. Esse é um imunoensaio enzimático qualitativo que detecta anticorpos específicos para os tipos 1 e 2 do HTLV no plasma dos pacientes. O teste utiliza fitas de nitrocelulose impregnadas com proteínas virais do HTLV-1/2, que são incubadas com o plasma do paciente. Caso os anticorpos específicos estejam presentes, eles se ligam aos

antígenos fixados na fita, a leitura é feita de maneira visual. O *Western Blot* apresenta alta sensibilidade e especificidade, sendo capaz de confirmar a infecção pelo vírus e diferenciar entre os tipos 1 e 2 do HTLV.

Todos os procedimentos foram conduzidos de acordo com as instruções das fabricantes, sem a necessidade de adaptações.

4.4 Extração de DNA

Para a análise do DNA proviral, as amostras soropositivas foram submetidas a extração de DNA total a partir das células brancas do sangue periférico. Foi utilizado 200 µL da massa celular previamente separada para a extração com o auxílio do Kit QiaAmp DNA mini kit (Qiagen, Germany), seguindo as orientações do fabricante.

4.5 Confirmação molecular

O produto da extração das amostras reativas foi submetido à confirmação pela PCR em tempo real (qPCR) utilizando o sistema *TaqMan* (Applied Biosystems, Foster City, CA), a partir de três sequências alvos: o gene da albumina, como controle endógeno, e as regiões não homólogas dos genes *pol* para HTLV-1 e *tax* para HTLV-2, como descrito em protocolo prévio (Waters *et al.*, 2011). As sequências de primers e de sondas utilizadas na técnica de qPCR estão descritas nos quadros 1 e 2. As amostras foram amplificadas seguindo as condições: desnaturação inicial a 95°C por 5 minutos; 40 ciclos de 94°C por 40 segundos, 55°C por 30 segundos e 72°C por 1 minuto; e por fim uma extensão final a 72°C por 7 minutos. Para classificar uma amostra como positiva, considerou-se qualquer valor de *cycle threshold* (CT) detectado dentro do limite de 40 ciclos.

Quadro 1. Sequências dos primers utilizados na qPCR para diagnóstico molecular.

Iniciadores	Sequência 5' – 3'	Amplicon (pb)
HTLV-1F	CCCTACAATCCAACCAGCTCAG	186
HTLV-1S	GTGGTGAAGCTGCCATCGGGTTTT	

HTLV-2F	CGATTGTGTACAGGCCGATTG	75
HTLV-2S	CAGGAGGGCATGTTCGATGTAG	
Albumina F	GCTGTCATCTCTTGTGGGCTGT	141
Albumina R	AAACTCATGGGAGCTGCTGGTT	

Quadro 2. Sequências das sondas utilizadas na qPCR para diagnóstico molecular.

Iniciadores	Sequência 5' – 3'
HTLV-1	FAM-CTTTACTGACAAACCCGACCTACCCATGGA-MGB
HTLV-2	FAM-TGTCCCGTCTCAGGTGGTCTATGTTCCA-MGB
Albumina	FAM-CCTGTCATGCCACACAAATCTC-MGB

4.6 Amplificação e sequenciamento da região 5'LTR

O DNA já extraído foi utilizado para a amplificação da região 5'LTR do HTLV-1. Foi utilizada a metodologia de *nested* PCR que envolve duas etapas de amplificação, conforme descrito na literatura (Oliveira et al., 2012). Na primeira, foi utilizado 2 microlitros de DNA em uma reação de 25 µL contendo 1,25 µL de 10x *Reaction PCR Buffer*, 3,0 µL de dNTPs (10mM), 1,5 µL de MgCl₂ (50mM), 0,3 µL de Taq Polimerase, 0,5 µL de cada iniciador (20 pmol) e água ultrapura até completar o volume total da reação. A amplificação ocorreu nas seguintes condições: desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos; 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 62°C por 30 segundos e 72°C por 40 segundos; e por fim uma extensão final a 72°C por 10 minutos.

Para a segunda etapa, foram utilizados 2 microlitros de produto da primeira etapa como molde em uma reação 25 µL contendo as mesmas quantidades de reagentes da primeira etapa e utilizando o segundo par de primer. A reação ocorreu nas seguintes condições: desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos; 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 60°C por 30 segundos e 72°C por 40 segundos; e por fim uma extensão final a 72°C por 10 minutos. As sequências de cada iniciador utilizados nas duas etapas podem ser encontradas no Quadro 3. Os *amplicons* foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,5%, as bandas foram

excisadas, purificadas e sequenciadas pela metodologia de Sanger no Instituto Evandro Chagas (Belém – PA).

Quadro 3. Sequência de primers utilizados na *nested* PCR para a região 5'LTR

Iniciadores	Etapa	Sequência 5' – 3'	Amplicon (pb)
LTR-T.01	1 ^a	TGACAATGACCATGAGCCCCAA	844
LTR-T.02		CGCGGAATAGGGCTAGCGCT	
LTR-T.03	2 ^a	GGCTTAGAGCCTCCCAGTGA	744
LTR-T.04		GCCTAGGGAATAAAGGGGCG	

4.7 Amplificação e sequenciamento do gene *tax* do HTLV-1

Uma alíquota de DNA das amostras que foram positivas nos testes de triagem e confirmatório, confirmando o diagnóstico de HTLV-1, foi submetida a análise da região gênica (ORFs) codificadora da proteína Tax. Inicialmente foi realizada a amplificação de cada fragmento através de PCR convencional conforme descrito na literatura (Mirhosseini *et al.*, 2019). Três microlitros de DNA foram amplificados em uma reação de 25 µL contendo 2,5 µL de 10x *Reaction PCR Buffer*, 0,5 µL de dNTPs (10mM), 0,75 µL de MgCl₂ (50mM), 0,5 µL de Taq Polimerase, 0,5 µL de cada iniciador (10 µM) e água ultrapura até completar o volume total da reação. Estes iniciadores foram construídos com base na sequência genômica de referência ATK1 (J02029.1) disponível no GenBank do NCBI para o provírus HTLV-1, e descritas no Quadro 4. As amostras foram amplificadas seguindo as condições: desnaturação inicial a 95°C por 5 minutos; 30 ciclos de 95°C por 40 segundos, 60°C por 40 segundos e 72°C por 1 minuto; e por fim uma extensão final a 72°C por 5 minutos.

Quadro 4. Sequências de primers utilizados na PCR para sequenciamento.

Iniciadores	Sequência 5' – 3'	Cobertura*	Amplicon (pb)
Tax7760F	ATGTACCTCTACCAGCTTTC	7760 - 8279	519
Tax8279R	TCTGCCTCTTTTTTCGTTAAAAAGTAGAG		

*Posição em relação a sequência de referência ATK1

Os *amplicons* foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,5% utilizando o tampão TAE (Tris-Acetato-EDTA), as bandas de interesse foram excisadas, purificadas com o kit comercial PureLink Quick Gel Extraction (Invitrogen, USA) e enviado para sequenciamento clássico em serviço terceirizado (actgenes.com.br), por meio da metodologia de Sanger.

4.8 Edição das sequências

As sequências obtidas do sequenciamento (arquivos) foram alinhadas e montadas utilizando o software Geneious v2024.0.7 com a ferramenta *de novo assembly*. As sequências obtidas, também chamadas de consenso, foram salvas em formato *fasta* para as análises posteriores.

As sequências consenso foram verificadas para assegurar que pertenciam à região de interesse do HTLV utilizando a ferramenta *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST), disponível no site do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Essa ferramenta permite comparar cada sequência com o banco de dados completo do NCBI. Estas sequências também foram depositadas ao banco de dados do GenBank com números de acesso de PP788582-PP788590.

4.9 Análise da presença de polimorfismos

Para avaliar a variação de nucleotídeos nas regiões de interesse, foi utilizado o software Geneious v2024.0.7. As sequências montadas foram alinhadas com a sequência de referência ATK1 (J02029.1) para identificar possíveis mutações, com as posições dos nucleotídeos determinadas com base na sequência ATK1. A sequência de referência ATK1, obtida em 1983, foi o primeiro isolado de HTLV-1

sequenciado a partir de um paciente portador no Japão e tem sido amplamente utilizada como padrão em estudos na literatura (Seiki *et al.*, 1983).

Para análise dos elementos responsivos de Tax (TREs) na região promotora, foram investigados polimorfismos nos TRE-I (5'-AAGGCTCTGACGTCTCCCCC-3'), TRE-II (5'-TAGGCCCTGACGTGTCCCCCT-3'), TER-III (5'-CAGGCGTTGACGACAACCCT-3'), TATA box (5'-TATAAA-3'), E-box (*enhancer box*) (5'-CATATG) e sinal poli(A) (5'-AATAAA-3').

Em relação às sequências de *tax*, todo o fragmento foi analisado para a busca de polimorfismos. Além disso, as sequências nucleotídicas foram traduzidas para verificar possíveis trocas de aminoácidos decorrentes dos polimorfismos identificados.

Por fim, foi realizada uma revisão na literatura para a busca de polimorfismos já relatados em ambas as regiões aqui analisadas, verificação da ocorrência destes nas amostras analisadas, e de seus efeitos.

4.10 Construção da árvore filogenética - Genotipagem da região *tax*

Para determinar o genótipo da região *tax*, foi realizada a construção de uma árvore filogenética. As sequências obtidas foram alinhadas com sequências disponíveis no banco de dados GenBank, utilizando a ferramenta de alinhamento Clustal Omega no software Geneious. Foram incluídas sequências de HTLV-1a provenientes do Brasil e de outras localidades. O alinhamento múltiplo foi ajustado manualmente no mesmo programa para garantir que todas as sequências tivessem o mesmo tamanho (483 pb).

A construção da árvore filogenética foi realizada pelo método de *Maximum Likelihood* (ML), com base no algoritmo de distanciamento genético *Neighbor Joining* (NJ) e no modelo evolutivo Tamura-Nei (TN). Para assegurar a robustez dos agrupamentos, foram realizadas 1000 réplicas de *bootstrap*. A sequência de HTLV-1b (M67514) foi utilizada como grupo externo para definir a raiz da árvore.

O número de acesso das sequências utilizadas para a construção da árvore foram: J02029, M86840, DQ323833, DQ323845, DQ323840, DQ323834, DQ323835, DQ323855, DQ323875, DQ323836, DQ323870, DQ323862, DQ323850,

DQ323883, DQ227134, DQ227130, DQ227135, DQ227158, DQ227189, L36905, AF259264, AF226593, AB036376, AF042071, AF003012, AB045549, AF292000, AB045520, U19949, AB045481, AF485380, AF485381, AF133525, AF133524, JN887709, JN887706, JN887703, DQ227179, AB045534, AB045636, MH399769, M67514. As informações referentes de cada sequência escolhida podem ser encontradas no material suplementar (Quadro MS1).

4.11 Análise estatística

As características da população estudada foram descritas por meio de estatísticas descritivas, apresentadas em forma de quadro. A presença dos polimorfismos encontrados nas sequências foi descrita nas formas de frequência absoluta e relativa. Para avaliar a associação entre os polimorfismos e o estado clínico, as sequências foram divididas em dois grupos: portadores assintomáticos e portadores com HAM. A análise estatística foi conduzida utilizando o teste exato de Fisher para comparar as frequências entre os grupos, considerando um valor de $p < 0,05$ como estatisticamente significativo. As análises foram realizadas no software *GraphPad Prism* v 8.0.1.

5. RESULTADOS

5.1 Ocorrência da infecção pelo HTLV-1 em amostras coletadas em São Luís

Foram analisadas nove amostras provenientes de indivíduos residentes no estado do Maranhão. Todas as amostras apresentaram resultados reagentes para anticorpos anti-HTLV1/2 no teste de triagem pelo método ELISA. A confirmação sorológica (*Western blot*) e molecular (qPCR) da infecção classificou todas as amostras como positivas para HTLV do tipo 1. Essas informações podem ser encontradas no Quadro 5.

A população do estudo foi composta por dois indivíduos do sexo masculino e sete do sexo feminino, com idades variando entre 41 e 70 anos. Quanto à naturalidade, apenas um participante era natural de São Luís, enquanto os demais eram oriundos de outros municípios do estado. Em relação à sintomatologia no momento da coleta, dois participantes apresentavam sinais clínicos compatíveis com mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM), enquanto os outros sete eram considerados assintomáticos (Quadro 5).

Quadro 5. Características e diagnóstico de HTLV-1 na população estudada.

Indivíduo	Idade	Sexo	Naturalidade	Sintomas	ELISA DO	CT qPCR	LTR	TAX
163SM	62	M	Lago da Pedra	HAM	4,774	23,54	+	+
165AF	41	F	Penalva	não	4,806	27,51	+	+
166AM	42	M	Penalva	não	4,804	25,62	+	+
167AF	57	F	Guimarães	não	3,412	25,15	+	+
219AF	49	F	São Luís	HAM	4,746	27,39	+	+
296AF	68	F	Barreirinhas	não	2,145	26,63	+	+
317AF	51	F	Rosário	não	1,307	31,98	+	+
329SF	62	F	Santa Rita	não	1,929	33,97	+	
48SF	70	F	Itapecuru-Mirim	não	4,703	35,04	+	

Com o DNA proviral obtido de todas as amostras positivas para HTLV-1, foi realizada a amplificação das regiões de interesse. O protocolo adotado para a *nested* PCR da região LTR permitiu a amplificação das nove amostras deste estudo. Em relação a região *tax*, os resultados da PCR convencional demonstraram sucesso na amplificação de sete amostras deste estudo. Os *amplicons* da região *tax* podem ser visualizados na Figura 11.

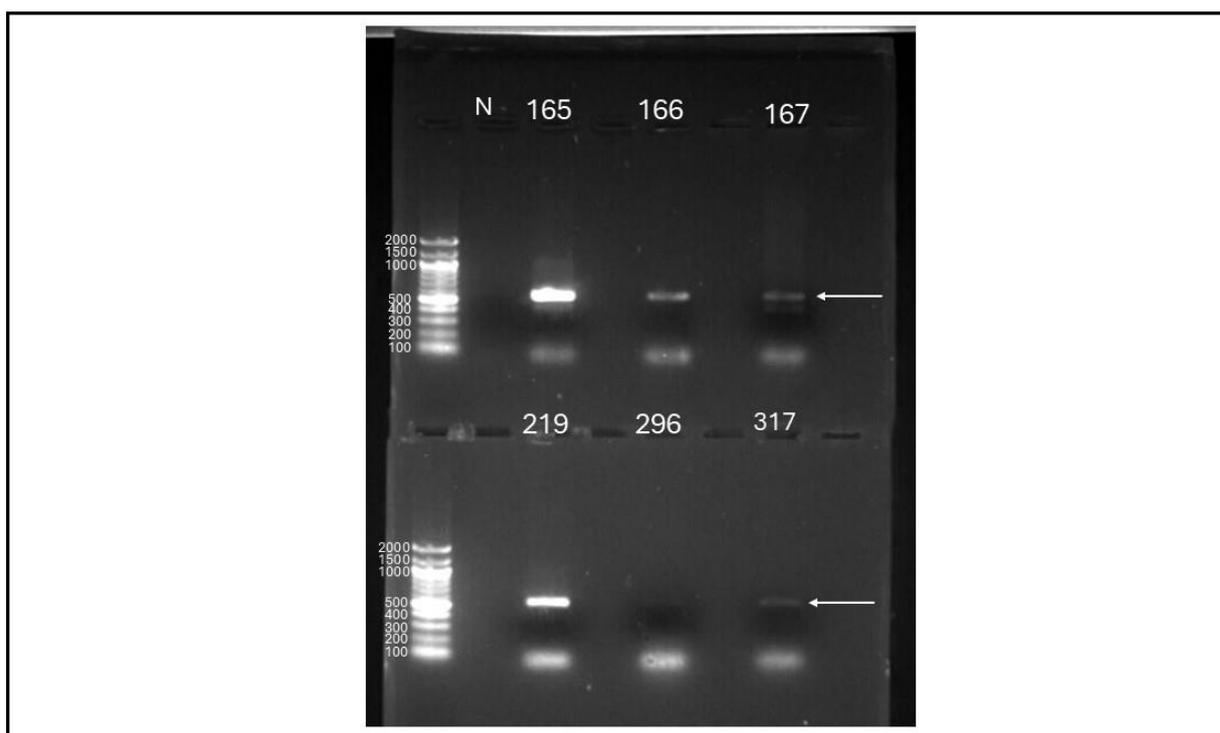


Figura 11. Eletroforese da PCR realizadas para a amplificação das regiões de interesse utilizando os iniciadores TAX. Altura das bandas de interesse identifica por seta.

5.2 Os Elementos Responsivos de Tax apresentam-se íntegros na região 5'LTR do genoma proviral de isolados do estado

Como resultado do sequenciamento da região LTR, foram obtidas sequenciais viáveis (*forward* e *reverse*) para a montagem de *contigs* das 9 amostras, produzindo fragmentos de tamanhos entre 671 a 817 pb, que conseguiram representar todos as três regiões de repetição conhecidas como elementos responsivos de Tax (TREs). Não foram detectadas deleções na região 5'LTR de nenhum dos isolados virais analisados.

Na análise de polimorfismos nos elementos responsivos de Tax, foram identificados os polimorfismos A125G e G174A em relação a sequência ATK1, presentes no domínio A da primeira e segunda repetição (TRE-I e TRE-II), respectivamente (Figura MS1, presente no material suplementar). Das 9 sequências de LTR, a mutação A125G está presente em 7/9 amostras (77,77%), e a mutação G174A em 7/9 amostras (77,77%). Além disso, cinco sequências apresentam ambas as mutações, duas apenas o polimorfismo A125G no TRE-I e duas apenas o polimorfismo G174A no TRE-II (Tabela 2).

Não foram encontradas mutações nos domínios B e C das repetições TRE-I e II, portando permaneceram conservados nas amostras deste estudo. A região TRE-III foi a única completamente conservada dentre as três repetições dos elementos responsivos de Tax, ou seja, não apresentou mutações em nenhum de seus domínios das sequências deste estudo.

Em relação aos demais elementos da região promotora U3, quando comparadas com a sequência de referência ATK1, a TATA box, E-box e sinal poli(A) permaneceram conservadas em todas as sequências estudadas.

Tabela 2. Alinhamento dos Elementos Responsivos de Tax I e II entre as amostras obtidas neste estudo e a sequência de referência ATK1.

Sequência	Posição 5'LTR							
	TRE-I				TRE-II			
	124	125	126	127	172	173	174	175
ATK1	A	<u>A</u>	G	G	T	A	<u>G</u>	G
163SM		G						
165AF		G					A	
166AM		G					A	
167AF		G						
219AF		G					A	
296AF							A	
317SF							A	
329SF		G					A	
48SF		G					A	

5.3 Variantes de *tax* presentes no estado alteram aminoácidos em domínios funcionais da proteína Tax

Foi possível obter sequências parciais da região *tax* viáveis (*forward* e *reverse*) para a montagem de *contigs* de 7 amostras, gerando sequências com tamanhos de 488 a 514 pb.

Em relação ao percentual de identidade, quando comparadas essas sequências entre si, a similaridade é de 99,50-100%. Quando essas mesmas sequências foram comparadas com a sequência ATK1, a identidade foi elevada de 98,91-99,41%.

Ao serem submetidas a ferramenta BLAST, todas as sequências tiveram identidade de 100% com alguma amostra disponível no banco de dados do GenBank. Esse resultado pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3. Sequência de maior similaridade encontrada no BLAST de cada amostra deste estudo.

Amostra	Sequências do GenBank		
	Percentual de identidade	Origem	Código de acesso
163SM; 167AF	100%	Japão	LC192521.1
	100%	Brasil (SP)	KF797839.1
165AF; 166AM; 296AF; 317AF	100%	Brasil (BA)	KY007269.1
	100%	Argentina	KT633533.1
219AF	100%	Brasil (SP)	KF797874.1

O resultado do alinhamento em relação a sequência de referência ATK1 identificou a presença de cinco polimorfismos, sendo eles as trocas de nucleotídeos T7891C, C7897T, C7930T, C7959T e G8208A (Tabela 4). Estando presente em 100% das sequências analisadas, estão os polimorfismos C7897T, C7959T e G8208A; em 5/7 (71,42%) das sequências o polimorfismo T7891C; e por último o polimorfismo C7930T encontrado em 1/7 (14,28%) sequência. Cinco sequências

apresentavam quatro polimorfismos (T7891C, C7897T, C7959T e G8208A) e uma sequência possui todos os polimorfismos identificados.

Tabela 4. Alinhamento das sequências parciais da região *tax* obtidas neste estudo comparadas a sequência de referência ATK1.

Sequência	Posição do nucleotídeo									
	7872	7887	7891	7897	7916	7930	7934	7949	7959	8208
ATK1	A	A	T	C	A	C	T	T	C	G
163SM				T					T	A
165AF			C	T					T	A
166AM			C	T					T	A
167AF				T					T	A
219AF			C	T		T			T	A
296AF			C	T					T	A
317AF			C	T					T	A
Alteração de Aminoácidos:									A→V	S→N

Em relação ao tipo de mutação, as substituições de nucleotídeos C7959T e G8208A resultaram em mutações não sinônimas, ou seja, causam trocas de aminoácidos na proteína traduzida. A primeira substituição, C7959T, levou à troca de uma alanina por valina (A→V), ocorrendo no domínio de ativação da via NF-κB da proteína Tax. A segunda mutação, G8208A, resultou na troca de uma serina por asparagina (S→N) no domínio de ativação da proteína CREB (Figura MS2, presente no material suplementar). Os outros polimorfismos se caracterizam por serem mutação sinônimas, também conhecidas como silenciosas que não geram mudanças de aminoácidos na proteína.

5.4 Mutações no gene *tax* refletem ao grupo monofilético *taxA*

Foi construído a árvore filogenética com um segmento de 483 pares de bases utilizando 41 sequências disponíveis no GenBank, incluído a cepa de referência ATK1 e o grupo externo (HTLV-1b). Na relação filogenética, é possível observar os dois agrupamentos monofiléticos principais correspondes aos genótipos *tax* subgrupo A (*taxA*) e *tax* subgrupo B (*taxB*). As sete amostras provenientes deste estudo estão agrupadas no grupo monofilético *taxA* (Figura 12).

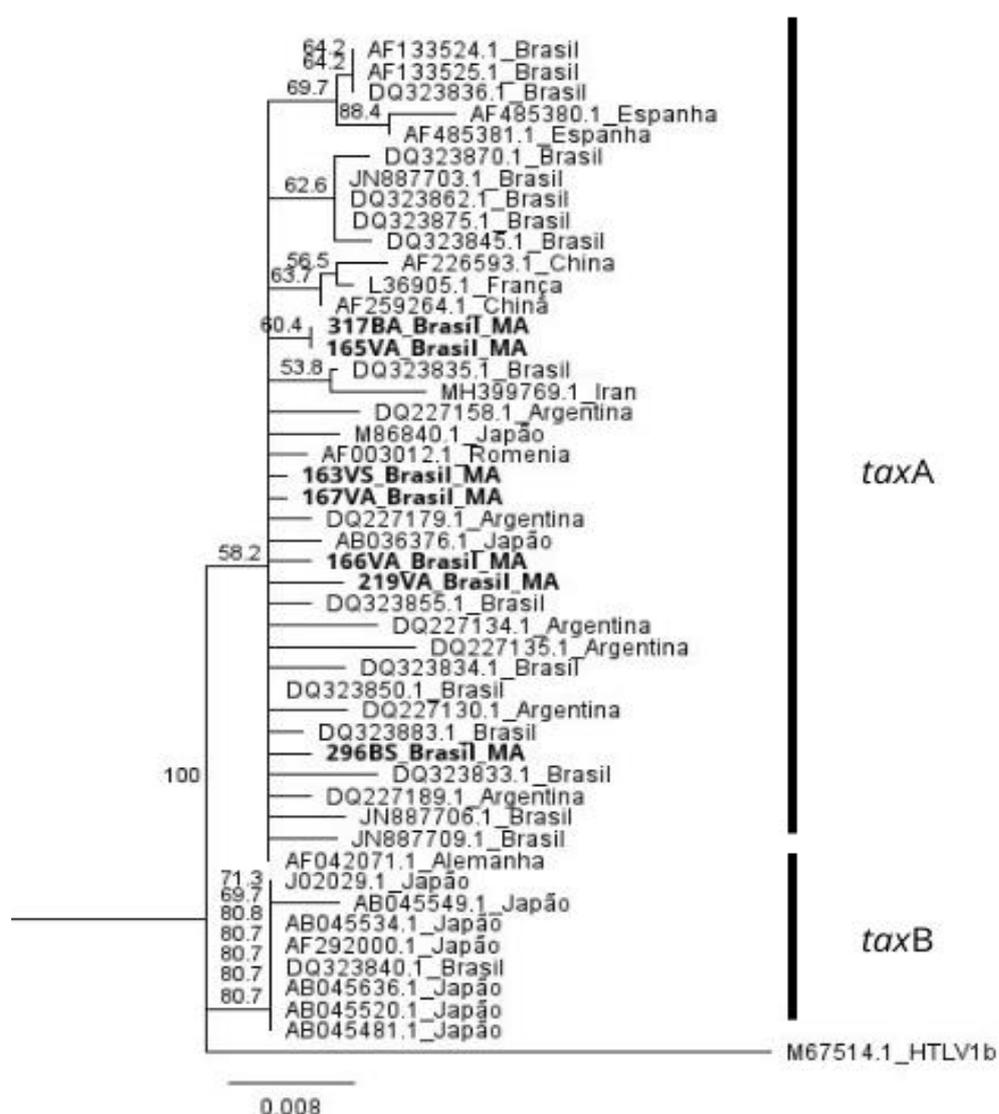


Figura 12. Árvore filogenética construída pelo método Neighbor Joining utilizando o software Geneious Prime v2014 com 483 pb da região *tax* do HTLV-1 de 41 amostras provenientes do GenBank e 7 amostras deste estudo (destacadas em negrito). O HTLV-1b (M67514.1) foi utilizado como grupo externo.

5.5 Perfil de Polimorfismos Genéticos entre Grupos Clínicos de PVHTLV do estado

As frequências dos polimorfismos genéticos foram comparadas entre os portadores assintomáticos (PA; n=5) e os indivíduos sintomáticos com mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM; n=2). Nos elementos responsivos de Tax (TRE I e II), o polimorfismo A125G foi identificado em 6 PA e 2 HAM, enquanto o polimorfismo G174A esteve presente em 5 PA e 1 HAM. Nas sequências do gene *tax*, os seguintes polimorfismos foram observados: T7891C em 4 PA e 1 HAM, C7897T em 5 PA e 2 HAM, C7930T exclusivamente em 1 HAM, C7959T em 5 PA e 2 HAM, e G8208A também em 5 PA e 2 HAM. Conforme apresentado na Tabela 5, nenhuma das mutações analisadas apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos.

Tabela 5. Presença dos polimorfismos encontrados nos TREs e no gene *tax* entre os grupos de portadores assintomáticos (PA) e sintomáticos.

Polimorfismo	Sintomatologia			p
	PA N (%)	HAM N (%)	Total N (%)	
Elementos responsivos de Tax				
A125G				
A	2 (28,57)	0	2 (22,22)	1,000
G	5 (71,43)	2 (28,57)	7 (77,78)	
G174A				
G	1 (14,29)	1 (50)	2 (22,22)	0,4167
A	6 (85,71)	1 (50)	7 (77,78)	
Gene <i>tax</i>				
T7891C				
T	1 (20)	1 (50)	2 (28,57)	1,000
C	4 (80)	1 (50)	5 (71,43)	
C7897T				
C	0	0	0	1,000
T	5 (100)	2 (100)	7 (100)	
C7930T				
C	5 (100)	1 (50)	6 (85,71)	0,2857
T	0	1 (50)	1 (14,29)	
C7959T				
C	0	0	0	1,000
T	5 (100)	2 (100)	7 (100)	
G8208A				
G	0	0	0	1,000
A	5 (100)	2 (100)	7 (100)	

Quando comparadas as frequências dos polimorfismos nas regiões *tax* e LTR, as amostras com genótipo selvagem ou mutante em TRE mostraram uma distribuição similar entre os polimorfismos da região *tax*. A maioria das amostras que apresentavam polimorfismos em *tax*, também possuíam os polimorfismos A125G e G174A na região nos TRE I e II (Tabela 6).

Tabela 6. Frequência das mutações da região *tax* em comparação com polimorfismos encontrados na região LTR.

	Polimorfismos na região <i>tax</i>					Total
	T7891C	C7897T	C7930T	C7959T	G8208A	
LTR						
A125G						
Selvagem	2 (100)	2 (100)	0	2 (100)	2 (100)	2
Mutante	3 (60)	5 (100)	1 (20)	5 (100)	5 (100)	5
G174A						
Selvagem	0	2 (100)	0	2 (100)	2 (100)	2
Mutante	5 (100)	5 (100)	1 (20)	5 (100)	5 (100)	5

6. DISCUSSÃO

É estimado que existam cerca de 10 milhões de portadores do vírus HTLV-1 em todo o mundo, sendo o Brasil um dos países com maior prevalência, abrigando entre 800 mil e 1,5 milhão de portadores (Legrand *et al.*, 2022; Rosadas *et al.*, 2018a). O Maranhão é reconhecido como uma região endêmica para o HTLV-1, porém, os estudos realizados no estado têm se concentrado em análises epidemiológicas (Ishak; Ishak; Vallinoto, 2020). Este trabalho apresenta um avanço importante ao identificar, de forma inédita, a presença de polimorfismos na região promotora e no gene *tax* do genoma proviral em amostras do Maranhão, destacando aspectos relevantes para a manutenção da infecção e potenciais implicações no estado clínico dos portadores.

Este estudo relatou, pela primeira vez, a confirmação da infecção pelo HTLV do tipo 1 em pacientes com sintomatologia de HAM no estado do Maranhão. Até então, a literatura científica não havia registrado casos dessa manifestação neurológica associada ao HTLV-1 na região, reforçando a importância de investigações locais sobre as consequências clínicas dessa infecção. Estima-se que cerca de 2% dos portadores de HTLV-1 desenvolvam HAM ao longo da vida (Kaplan *et al.*, 1990; Maloney *et al.*, 1998; Orland *et al.*, 2003). No Brasil, um estudo de coorte com portadores do vírus reportou uma incidência de 5,3 casos de HAM por 1.000 pessoas ao longo de três anos, com um intervalo de confiança de 0,3 a 10,9 (Romanelli *et al.*, 2013).

Estudos apontam que fatores genéticos do vírus podem ser uma das causas que levam ao desenvolvimento das patologias associadas ao vírus (Cucco *et al.*, 2021). Os polimorfismos identificados na região LTR do genoma proviral são de particular interesse, dado o papel crítico desta região na regulação da transcrição viral (Curren *et al.*, 2012; Lemasson *et al.*, 2004). Alterações nos TREs podem impactar a eficiência da transcrição, afetando diretamente a replicação viral e a ativação de genes do hospedeiro (Curren *et al.*, 2012; Gachon *et al.*, 2000; Montagne *et al.*, 1990).

Ao analisar os TREs das sequências deste estudo, foram identificados os polimorfismos A125G e G174A. Esses polimorfismos virais possuem interpretações

distintas na literatura. A troca de nucleotídeo A125G, por exemplo, foi associada a um aumento da carga proviral em portadores assintomáticos, segundo um estudo prévio (Neto *et al.*, 2011). Mais recentemente, o mesmo polimorfismo foi relacionado a uma baixa carga proviral em indivíduos com HAM (Gomes *et al.*, 2021). A carga proviral, reconhecida como um importante marcador de infecção pelo HTLV-1, está associada ao risco de desenvolvimento e progressão da HAM (Olindo *et al.*, 2005; Primo *et al.*, 2009; Taylor; Evans; Rosadas, 2024). Um estudo de coorte realizado em Martinica, no Caribe, corroborou essa relação, indicando que portadores com carga proviral elevada apresentaram um intervalo reduzido entre o início dos sintomas de HAM e a progressão para dependência de cadeira de rodas (Olindo *et al.*, 2006).

A integridade dos sítios promotores é crucial para a atividade transcricional. Ensaio *in vitro*, mostraram que a deleção de pelo menos uma das três repetições dos TREs resulta em uma redução significativa da atividade promotora da região (Fujisawa *et al.*, 1986). Um estudo realizado por Montagne *et al.* (1990) demonstrou que mutações simultâneas nos domínios A e C dos TREs comprometeram a ligação da proteína Tax, interferindo diretamente na atividade promotora, e que a integridade do domínio B também é necessária para essa atividade (Montagne *et al.*, 1990). Ademais, a presença de apenas um dos polimorfismos não indica fator protetivo, visto que a proporção dessa mutação entre portadores assintomáticos e sintomáticos é similar na literatura (Gomes *et al.*, 2021). No presente estudo, os polimorfismos A125G e G174A foram identificados apenas no domínio A da primeira e segunda repetição, respectivamente, enquanto os domínios B e C permaneceram conservados, e nenhuma sequência apresentou deleções nas TREs, confirmando a integridade destes nos isolados virais do Maranhão e sua possível funcionalidade.

Observando a região codificante do HTLV-1, é importante destacar mudanças em genes que transcrevem produtos importantes a manutenção do vírus. A proteína Tax do HTLV-1 possui um papel fundamental na progressão da infecção devido ao seu papel de transativação de regiões promotoras do genoma proviral e da célula hospedeira (Akbarin *et al.*, 2024; Boxus *et al.*, 2008; Giebler *et al.*, 1997; Tie *et al.*, 1996). A proteína Tax apresenta uma alta antigenicidade, e a resposta imunológica do hospedeiro contra ela desempenha um papel importante no

desenvolvimento de patologias associadas ao HTLV-1, como a HAM (Pereira-Santos *et al.*, 2023; Saffari *et al.*, 2022; Tarokhian *et al.*, 2017). Essa relação é evidenciada pela detecção frequente de linfócitos T citotóxicos direcionados à Tax em portadores do vírus, destacando sua relevância na dinâmica da infecção e na progressão para manifestações clínicas (Hilburn *et al.*, 2011; Saito, 2010). Dessa forma, o estudo de alterações no gene *tax* pode fornecer informações importantes acerca da epidemiologia molecular e de como a infecção pode progredir para um estado sintomatológico.

A análise das sequências obtidas do gene *tax* mostrou uma similaridade elevada em comparação com as sequências do GenBank e com a cepa de referência ATK1, com uma média de 99,16%. Esse resultado é similar ao de outros estudos realizados no Brasil e no Chile, que possuem similaridade de 99,2% e 99,6%, respectivamente (Kashima *et al.*, 2006; Magri *et al.*, 2012; Ramirez *et al.*, 2002). A maior similaridade entre as sequências do Brasil é esperada, devido às formas de entrada do HTLV-1 na era pós colombiana ter sido principalmente pelo intenso tráfico de pessoas vindas do continente africano (Ishak *et al.*, 2020a). A variação observada entre as sequências da América do Sul sugere uma possível rota mais antiga de entrada do vírus, na era pré-colombiana. Evidências de DNA de HTLV-1 encontrado em uma múmia nos Andes mostram semelhanças com amostras isoladas de tribos do Atacama e indígenas do Chile, que também são semelhantes aos isolados de portadores do Japão, país de origem da sequência ATK1, indicando uma possível entrada do vírus pelo Oceano Pacífico (Li *et al.*, 1999; Sonoda; Li; Tajima, 2011). Contudo, mais dados são necessários para sustentar essa hipótese de uma introdução do HTLV-1 pela rota do Pacífico (Ishak *et al.*, 2020a).

Poucos estudos foram realizados com caracterização genômica do HTLV-1. No Brasil, os trabalhos que identificam polimorfismos na região *tax* se concentram em portadores da região Sudeste, e poucos do Nordeste, principalmente na Bahia (Araújo *et al.*, 2020; Kashima *et al.*, 2006; Magri *et al.*, 2012; Gomes *et al.*, 2021). Sendo assim, aqui é descrito pela primeira vez a presença de polimorfismos no gene *tax* no estado do Maranhão, um estado endêmico para o vírus.

A análise das sequências do gene *tax* revelou a presença de polimorfismos específicos, incluindo C7897T, C7959T e G8208A. Esses polimorfismos já foram

relatados em estudos conduzidos em países da América do Sul, como Argentina e Brasil, e têm sido associados a uma assinatura molecular característico de amostras dessa região (Iñiguez et al., 2007; Kashima et al., 2006; Magri et al., 2012; Gomes et al., 2021). Essas mutações refletem ao genótipo da região *tax* das amostras maranhenses, que são característicos do genótipo *taxA*, ou transcontinental, como evidenciado pela filogenia. Essa é uma característica encontrada na maioria das amostras de estudos conduzidos no Brasil, refletindo o processo de entrada do vírus na região.

Quando esses dois genótipos foram descritos, houve uma associação com a sintomatologia, e aqueles com o genótipo *taxA* foram descritos como mais propensos a virem desenvolver um quadro de HAM, visto que a prevalência desse genótipo nesse grupo era maior (Furukawa *et al.*, 2000). Renjifo *et al.* (1995) associaram o polimorfismo C7959T, marcador do genótipo *taxA*, ao desenvolvimento da HAM. Ademais, um trabalho de revisão sistemática realizado recentemente mapeou possíveis variantes do HTLV-1 que possam estar associadas ao desenvolvimento de patologias, como resultado foi encontrado que o polimorfismo C7959T foi o mais prevalente em portadores com HAM dentre os estudo analisados pela revisão (Lima *et al.*, 2024).

Dentre os polimorfismos identificados no gene *tax*, dois resultam em trocas de aminoácidos que podem impactar funções críticas da proteína. A mutação C7959T, que leva à substituição A→V no domínio de transativação da via NF-κB, e a mutação G8208A, que resulta na troca S→N no domínio de ativação da proteína CREB, são de particular interesse. Alterações nesses domínios podem influenciar a interação da proteína Tax com a via NF-κB e a proteína CREB, respectivamente, afetando a regulação de genes virais e do hospedeiro. Essas mudanças podem potencialmente modificar a resposta imunológica e contribuir para o desenvolvimento das patologias associadas ao HTLV-1, como a HAM e a ATLL (Enose-Akahata; Vellucci; Jacobson, 2017; Martella; Waast; Pique, 2022; Mohanty; Harhaj, 2020a; Rabson *et al.*, 2024). Embora o impacto funcional dessas mutações ainda precise ser melhor elucidado, sua identificação destaca a importância de estudos que explorem como variações genéticas na proteína Tax podem modular a patogênese viral.

Ainda na região codificante de *Tax*, uma paciente (219AF) do sexo feminino e com sintomatologia de HAM apresentou a variante viral que carrega a substituição de uma citosina por timina na posição 7930 do genoma proviral (C7930T), esta substituição ainda não foi relatada na literatura como um polimorfismo; apesar que nossas análises de bioinformática encontraram depositada no banco de dados do GenBank uma sequência do gene *tax* com 100% de identidade em relação a sequência de 219AF, oriunda de um estudo de sequenciamento de genoma viral total em população Brasileira (Pessoa *et al.*, 2014). Esses dados mostram a possibilidade da existência de polimorfismo único característico do Brasil, e evidenciam a necessidade de ampliar os estudos genômicos e seus impactos na patogênese.

Quando os polimorfismos foram comparados entre grupos de portadores assintomáticos e sintomáticos, não foram observadas associações significativas entre os polimorfismos identificados, seja na região promotora ou no gene *tax*, e o estado clínico dos portadores. Em um estudo conduzido com 74 portadores no Rio de Janeiro, a identificação dos polimorfismos A125G e G174A nos TREs revelou que a frequência dessas mutações não diferiu significativamente entre portadores assintomáticos e aqueles com HAM ($p=1,000$ e $p=0,4485$, respectivamente para cada mutação) (Gomes *et al.*, 2021). Estudos que investigaram polimorfismos no gene *tax* também relataram mutações semelhantes às encontradas neste trabalho, mas sem associações significativas com manifestações clínicas (Araújo *et al.*, 2020; Iñiguez *et al.*, 2010; Kashima *et al.*, 2006).

Entretanto, como esses polimorfismos, especialmente na região *tax*, são característicos de amostras brasileiras, associações com a sintomatologia podem ser difíceis de estabelecer, já que a presença desses marcadores pode refletir um viés geográfico ou genético local (Campos; Caterino-de-Araujo, 2020; Magri *et al.*, 2012; Sakihama *et al.*, 2021). Dessa forma, estudos longitudinais são necessários para avaliar como esses polimorfismos podem influenciar o curso da infecção ao longo do tempo, especialmente considerando que portadores classificados como assintomáticos podem desenvolver sintomas, fator esse que não foi considerado nos estudos publicados (Cevallos *et al.*, 2020; Lima *et al.*, 2024; Marcusso *et al.*, 2024).

Embora estudos longitudinais sejam mais adequados para avaliar o papel de variantes no desenvolvimento de patologias ao longo do tempo, trabalhos transversais, como este, desempenham um papel crucial na identificação de polimorfismos circulantes em regiões endêmicas, especialmente em locais com escassez de estudos relacionados ao HTLV-1, como o Maranhão. A identificação dessas variantes, particularmente no gene *tax*, é relevante, dado que essa região e seu produto proteico são apontados como potenciais alvos para o desenvolvimento de vacinas contra o HTLV-1 (Letafati *et al.*, 2024). Nesse contexto, a descrição de variantes circulantes em áreas endêmicas contribui significativamente para a formulação de estratégias vacinais que considerem a diversidade viral local, aumentando sua eficácia em diferentes populações. Além disso, esses dados podem contribuir para o desenvolvimento de terapias que visem a interação da proteína Tax com os elementos promotores do genoma proviral, abrindo novas possibilidades para o tratamento da infecção (Plant; Bellefroid; Van Lint, 2023; Schnell; Kohrt; Thoma-Kress, 2021).

O estudo da diversidade genômica de isolados de HTLV-1 também se torna importante visto que já foi relatado na literatura a existência de dois tipos de provírus defectivos; a primeira forma de vírus defectivo (Tipo I) mantém ambos os seguimentos LTRs e faltam as sequências internas do genoma, e a segunda forma defectiva (Tipo II) onde falta somente a 5'LTR; interessante células infectadas com provírus defectivos proliferam mais e são detectadas em alta frequência em pacientes com ATL, mas também já foram detectadas em menor frequência em portadores assintomáticos e pacientes com HAM (Campos; Caterino-de-Araujo, 2020; Tamiya *et al.*, 1996b). Além do significado clínico, partículas defectivas e mutações estão relacionados a redução na sensibilidade dos testes sorológicos e moleculares para diagnóstico do HTLV (Campos; Caterino-de-Araujo, 2020; Caterino-de-Araujo; Campos, 2021). O presente estudo não teve como objetivo a pesquisa por partículas defectivas, entretanto não nos passa despercebido a possibilidade de estarmos diante de pacientes com populações clonais defectivas do tipo I, visto o observado em dois paciente (Quadro 5): amplificação e sequenciamento satisfatório da LTR, aliada a impossibilidade de detecção do gene *tax* por PCR convencional, dificuldade de detecção do gene *pol* pelo qPCR, e baixa

titulação de um destes na sorologia que detecta anticorpos direcionados a gp46, um produto do gene *env*.

Ainda no que se refere a partículas defectivas, o estudo da região *tax*, em particular, também se torna importante quando a existência de portadores soronegativos que apresentavam somente a região *tax* é detectada em áreas endêmicas na Argentina e no Chile (Gallego *et al.*, 2020; Ramirez *et al.*, 1998). No trabalho de Gallego *et al* (2020) conduzido em San Salvador de Jejuy, Argentina, revelou que, entre 93 participantes soronegativos para HTLV-1 em testes que detectam anticorpos contra proteínas estruturais, padrão nos testes sorológicos, na análise molecular das regiões LTR, *env* e *tax*, 60 indivíduos apresentavam somente sequências da região *tax*. As sequências geradas por esse estudo apresentavam polimorfismos característicos de genótipos da América do Sul, como C7897T, C7959T e G8208A, similares aos encontrados no presente trabalho, e foram classificadas como pertencentes ao genótipo *taxA*. Além disso, o estudo demonstrou que Tax por si só pode induzir manifestações neurológicas, já que 36/60 indivíduos apresentaram sintomas clínicos (Gallego *et al.*, 2020). Esses achados ressaltam a importância do presente estudo ao identificar e caracterizar polimorfismos no gene *tax* em uma região endêmica como o Maranhão, contribuindo para o entendimento da variabilidade viral local e suas implicações clínicas, e reforçam a necessidade de métodos diagnósticos que incluam a detecção de regiões não estruturais do genoma viral, especialmente em áreas onde o HTLV-1 é endêmico.

A atividade transcricional do HTLV-1 está diretamente relacionada às funções da região promotora, mediadas pela proteína Tax. A coexistência de polimorfismos nos TREs e no gene *tax*, observada na maioria das amostras deste estudo, sugere uma possível interação entre essas alterações que podem modular a expressão viral. Enquanto mutações nos TREs podem impactar a ligação da proteína Tax à região promotora, alterações na própria proteína podem modificar sua função como transativadora, influenciando a replicação viral e a resposta imune (Kannagi *et al.*, 2019; Rabson *et al.*, 2024). Uma tendência oposta foi relatada no estudo de Gomes *et al* (2021) com portadores do Rio de Janeiro, em que a maioria das amostras com polimorfismos em *tax* não possuíam o polimorfismo nos TREs.

Entretanto, uma avaliação com maior número de amostras de diferentes regiões é necessária para validar essa hipótese.

Os resultados deste estudo contribuem para o avanço do conhecimento sobre o HTLV-1 no Maranhão, uma região endêmica ainda pouco investigada em relação a este vírus. Contudo, a realização de pesquisas sobre infecções negligenciadas, como o HTLV-1, enfrenta inúmeros desafios, especialmente em áreas de maior vulnerabilidade socioeconômica, como o Maranhão.

Sugerimos uma busca mais minuciosa dos SNPs indicados neste trabalho, o sequenciamento do genoma proviral completo de um maior número de isolados virais da região, bem como a associação de marcadores moleculares do hospedeiro, como forma de entender o processo de infecção e manifestação de doença como resultado de uma integração complexa.

7. CONCLUSÃO

A identificação de polimorfismos em sequências de HTLV-1 provenientes de portadores maranhenses representa um avanço inédito nos estudos sobre o vírus na região. Os resultados indicam que tanto os TREs quanto o gene *tax* apresentam polimorfismos que podem influenciar na dinâmica de transcrição de elementos virais e nas funções desempenhadas pela proteína Tax, potencialmente interferindo no curso da infecção. Além da caracterização dessas duas regiões genômicas, destaca-se a identificação de dois portadores apresentando sintomas de HAM, um dado relevante que evidencia a necessidade de atenção especial à sintomatologia frequentemente negligenciada na abordagem desse vírus.

Os achados deste estudo reforçam a importância da condução de pesquisas sobre o HTLV-1 no estado do Maranhão, uma região endêmica para essa infecção negligenciada. Ao evidenciar a presença de polimorfismos e casos sintomáticos, dados inéditos aqui apresentados, o trabalho expõe a necessidade urgente de ampliar as investigações científicas e desenvolver políticas públicas voltadas à detecção, monitoramento e cuidado dessa população.

8. REFERÊNCIAS

AFONSO, Philippe V.; CASSAR, Olivier; GESSAIN, Antoine. Molecular epidemiology, genetic variability and evolution of HTLV-1 with special emphasis on African genotypes. **Retrovirology**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 1–15, 2019.

AHUJA, Jaya *et al.* Induction of pro-inflammatory cytokines by human T-cell leukemia virus type-1 Tax protein as determined by multiplexed cytokine protein array analyses of human dendritic cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 61, n. 4, p. 201–208, 2007.

AKBARIN, Mohammad Mehdi *et al.* The role of CREB and MAPK signaling pathways in ATLL patients. **AIDS Research and Therapy**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 81, 2024.

AMOUSSA, Adjile Edjide Roukiyath *et al.* HTLV-1aA introduction into Brazil and its association with the trans-Atlantic slave trade. **Infection, Genetics and Evolution**, [s. l.], v. 48, p. 95–101, 2017.

ARAÚJO, Thessika Hialla Almeida *et al.* Complete genome sequence of human T-cell lymphotropic type 1 from patients with different clinical profiles, including infective dermatitis. **Infection, Genetics and Evolution**, [s. l.], v. 79, p. 104166, 2020.

ARAUJO, Abelardo Q.C.; WEDEMANN, Diego. HTLV-1 associated neurological complex. What is hidden below the water?. **AIDS Reviews**, [s. l.], v. 21, n. 4, p. 211–217, 2019.

AZIMI, Nazli *et al.* Human T cell lymphotropic virus type I Tax protein trans-activates interleukin 15 gene transcription through an NF- κ B site. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 95, n. 5, p. 2452–2457, 1998.

AZRAN, Inbal; SCHAVINSKY-KHRAPUNSKY, Yana; ABOUD, Mordechai. Role of tax protein in human T-cell leukemia virus type-I leukemogenicity. **Retrovirology**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 1–24, 2004.

BAI, Xue Tao; NICOT, Christophe. Overview on HTLV-1 p12, p8, p30, p13: accomplices in persistent infection and viral pathogenesis. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 3, n. DEC, 2012.

BANDEIRA, Larissa M. *et al.* HTLV-1 intrafamilial transmission among Japanese immigrants in Brazil. **Journal of Medical Virology**, [s. l.], v. 90, n. 2, p. 351–357, 2018.

BANGHAM, Charles R.M. *et al.* HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **Nature Reviews Disease Primers**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 1–17, 2015.

BANGHAM, Charles R.M. The immune control and cell-to-cell spread of human T-lymphotropic virus type 1. **Journal of General Virology**, [s. l.], v. 84, n. 12, p. 3177–3189, 2003.

BANGHAM, Charles R.M.; COOK, Lucy B.; MELAMED, Anat. HTLV-1 clonality in adult T-cell leukaemia and non-malignant HTLV-1 infection. **Seminars in Cancer Biology**, [s. l.], v. 26, p. 89–98, 2014.

BARBEAU, Benoit; MESNARD, Jean Michel. Making Sense out of Antisense Transcription in Human T-Cell Lymphotropic Viruses (HTLVs). **Viruses**, [s. l.], v. 3, n. 5, p. 456–468, 2011.

BASTIAN, I *et al.* Isolation of a human T-lymphotropic virus type I strain from Australian aboriginals. **Journal of Virology**, [s. l.], v. 67, n. 2, p. 843–851, 1993.

BELLON, M; YUAN, Y; NICOT, C. Transcription Independent Stimulation of Telomerase Enzymatic Activity by HTLV-I Tax Through Stimulation of IKK. **Journal of cancer sciences**, [s. l.], v. 8, n. 1, 2021.

BLANCO, Sebastián *et al.* Human T-Lymphotropic virus type 1 infection in absence of tax gene: A challenge for molecular diagnosis. **Infection, Genetics and Evolution**, [s. l.], v. 90, p. 104765, 2021.

BLATTNER, W. *et al.* Infective dermatitis of Jamaican children: a marker for HTLV-I infection. **The Lancet**, [s. l.], v. 336, n. 8727, p. 1345–1347, 1990.

BOXUS, Mathieu *et al.* The HTLV-1 Tax interactome. **Retrovirology**, [s. l.], v. 5, 2008.

BRAVO, Francisco G. Infective dermatitis: A purely cutaneous manifestation of HTLV-1 infection. **Seminars in Diagnostic Pathology**, [s. l.], v. 37, n. 2, p. 92–97, 2020.

BRITES, Carlos *et al.* Pathogenesis of HTLV-1 infection and progression biomarkers: An overview. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, [s. l.], v. 25, n. 3, p. 101594, 2021.

BRODER, Samuel; GALLO, Robert C. A pathogenic retrovirus (HTLV-III) linked to AIDS. **The New England journal of medicine**, [s. l.], v. 311, n. 20, p. 1292–1297, 1984.

CALATTINI, Sara *et al.* Discovery of a new human T-cell lymphotropic virus (HTLV-3) in Central Africa. **Retrovirology**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 1–4, 2005.

CAMPOS, Karoline Rodrigues; CATERINO-DE-ARAUJO, Adele. Provirus Mutations of Human T-Lymphotropic Virus 1 and 2 (HTLV-1 and HTLV-2) in HIV-1-Coinfected Individuals. **mSphere**, [s. l.], v. 5, n. 5, 2020.

CATERINO-DE-ARAUJO, Adele; CAMPOS, Karoline Rodrigues. Defective particles of human T-lymphotropic virus and negative results in molecular assays. **Infection, Genetics and Evolution**, [s. l.], v. 96, p. 105141, 2021.

CEVALLOS, Cintia *et al.* Longitudinal characterization of HIV-1 pol-gene in treatment-naïve men-who-have-sex-with-men from acute to chronic infection stages. **Heliyon**, [s. l.], v. 6, n. 12, 2020.

CHEN, Jing *et al.* Induction of the IL-9 gene by HTLV-I Tax stimulates the spontaneous proliferation of primary adult T-cell leukemia cells by a paracrine mechanism. **Blood**, [s. l.], v. 111, n. 10, p. 5163, 2008.

CIMARELLI, Andrea *et al.* Clonal Expansion of Human T-Cell Leukemia Virus Type II in Patients with High Proviral Load. **Virology**, [s. l.], v. 223, n. 2, p. 362–364, 1996.

CIMINALE, Vincenzo *et al.* Mitochondrial targeting of the p13II protein coded by the x-II ORF of human T-cell leukemia/lymphotropic virus type I (HTLV-I). **Oncogene**, [s. l.], v. 18, n. 31, p. 4505–4514, 1999.

CUCCO, Marina Silveira *et al.* Molecular characterization of HTLV-1 genomic region hbz from patients with different clinical conditions. **Journal of Medical Virology**, [s. l.], v. 93, n. 11, p. 6418–6423, 2021.

CURRER, Robert *et al.* HTLVTax: A fascinating multifunctional co-regulator of viral and cellular pathways. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 3, n. NOV, p. 31352, 2012.

DA SILVA GARCIA, Ionara Ferreira; HENNINGTON, Élide Azevedo. HTLV: A stigmatizing infection?. **Cadernos de Saude Publica**, [s. l.], v. 35, n. 11, 2019.

D'AGOSTINO, Donna M. *et al.* Post-transcriptional regulation of HTLV gene expression: Rex to the rescue. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 10, n. AUG, p. 1958, 2019.

DANTAS OLIVEIRA, Pedro *et al.* Adult T-cell leukemia/lymphoma. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [s. l.], v. 62, n. 7, p. 691–700, 2016.

DE CASTRO-COSTA, Carlos M. *et al.* Proposal for diagnostic criteria of tropical spastic paraparesis/HTLV-I-associated myelopathy (TSP/HAM). **AIDS research and human retroviruses**, [s. l.], v. 22, n. 10, p. 931–935, 2006.

DE COCK, Kevin M.; JAFFE, Harold W.; CURRAN, James W. Reflections on 40 Years of AIDS. **Emerging infectious diseases**, [s. l.], v. 27, n. 6, p. 1553–1560, 2021.

DE FÁTIMA CASTRO MENDES, Maria *et al.* Molecular detection of human T cell lymphotropic virus type 1 in pregnant women from Maranhão state, Brazil. **Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]**, [s. l.], v. 51, n. 2, p. 637–645, 2020.

DE SOUZA, Verônica Guimarães *et al.* High prevalence of HTLV-1 and 2 viruses in pregnant women in São Luis, state of Maranhão, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s. l.], v. 45, n. 2, p. 159–162, 2012.

DEMONTIS, Maria Antonietta *et al.* HTLV-1 viral RNA is detected rarely in plasma of HTLV-1 infected subjects. **Journal of Medical Virology**, [s. l.], v. 87, n. 12, p. 2130–2134, 2015.

DING, Wei *et al.* Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 p12I Expression Increases Cytoplasmic Calcium To Enhance the Activation of Nuclear Factor of Activated T Cells. **Journal of Virology**, [s. l.], v. 76, n. 20, p. 10374, 2002.

DJUICY, Delia Doreen *et al.* Risk factors for HTLV-1 infection in Central Africa: A rural population-based survey in Gabon. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 12, n. 10, p. e0006832, 2018.

EINSIEDEL, Lloyd *et al.* Human T-Lymphotropic Virus type 1 infection in an Indigenous Australian population: Epidemiological insights from a hospital-based cohort study. **BMC Public Health**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 1–11, 2016.

ENOSE-AKAHATA, Yoshimi; JACOBSON, Steven. Immunovirological markers in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). **Retrovirology**, [s. l.], v. 16, n. 1, 2019a.

ENOSE-AKAHATA, Yoshimi; JACOBSON, Steven. Immunovirological markers in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). **Retrovirology**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 1–14, 2019b.

ENOSE-AKAHATA, Yoshimi; VELLUCCI, Ashley; JACOBSON, Steven. Role of HTLV-1 Tax and HBZ in the pathogenesis of HAM/TSP. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 8, n. DEC, p. 2563, 2017.

ERNZEN, Kyle J.; PANFIL, Amanda R. Regulation of HTLV-1 transformation. **Bioscience Reports**, [s. l.], v. 42, n. 3, p. BSR20211921, 2022.

FERREIRA, Qesya Rodrigues *et al.* Neurological aspects of HTLV-1 infection: symptoms in apparently asymptomatic carriers. **Journal of NeuroVirology**, [s. l.], p. 1–9, 2024.

FEUER, Gerold; GREEN, Patrick L. Comparative biology of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2. **Oncogene**, [s. l.], v. 24, n. 39, p. 5996–6004, 2005.

FOGARTY, Keir H. *et al.* New Insights into HTLV-1 Particle Structure, Assembly, and Gag-Gag Interactions in Living Cells. **Viruses**, [s. l.], v. 3, n. 6, p. 770–793, 2011.

FORLANI, Greta *et al.* HTLV-1 Infection and Pathogenesis: New Insights from Cellular and Animal Models. **International journal of molecular sciences**, [s. l.], v. 22, n. 15, 2021.

FRANCHINI, G.; WONG-STAAAL, F.; GALLO, R. C. Human T-cell leukemia virus (HTLV-I) transcripts in fresh and cultured cells of patients with adult T-cell leukemia. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 81, n. 19, p. 6207–6211, 1984.

FRANKLIN, Audrey A. *et al.* Transactivation by the human T-cell leukemia virus Tax protein is mediated through enhanced binding of activating transcription factor-2 (ATF-2) ATF-2 response and cAMP element-binding protein (CREB). **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 268, n. 28, p. 21225–21231, 1993.

FUJISAWA, J. *et al.* A transcriptional enhancer sequence of HTLV-I is responsible for trans-activation mediated by p40 chi HTLV-I. **The EMBO journal**, [s. l.], v. 5, n. 4, p. 713–718, 1986.

FURUKAWA, Y. *et al.* Existence of escape mutant in HTLV-I tax during the development of adult T-cell leukemia. **Blood**, [s. l.], v. 97, n. 4, p. 987–993, 2001.

FURUKAWA, Yoshitaka *et al.* Phylogenetic subgroups of human T cell lymphotropic virus (HTLV) type I in the tax gene and their association with different risks for HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **The Journal of infectious diseases**, [s. l.], v. 182, n. 5, p. 1343–1349, 2000.

FUTSCH, Nicolas *et al.* Cytokine Networks Dysregulation during HTLV-1 Infection and Associated Diseases. **Viruses**, [s. l.], v. 10, n. 12, p. 691, 2018.

FUTSCH, Nicolas; MAHIEUX, Renaud; DUTARTRE, H el ene. HTLV-1, the Other Pathogenic Yet Neglected Human Retrovirus: From Transmission to Therapeutic Treatment. **Viruses** 2018, Vol. 10, Page 1, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 1, 2017.

GACHON, Frederic *et al.* Molecular interactions involved in the transactivation of the human T-cell leukemia virus type 1 promoter mediated by Tax and CREB-2 (ATF-4). **Molecular and cellular biology**, [s. l.], v. 20, n. 10, p. 3470–3481, 2000.

GALLEGO, Sandra *et al.* First Description of Seronegative HTLV-1 Carriers in Argentina. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, [s. l.], v. 102, n. 4, p. 889–895, 2020.

GAUDRAY, Gilles *et al.* The Complementary Strand of the Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 RNA Genome Encodes a bZIP Transcription Factor That Down-Regulates Viral Transcription. **Journal of Virology**, [s. l.], v. 76, n. 24, p. 12813–12822, 2002.

GESSAIN, Antoine *et al.* Geographic distribution, clinical epidemiology and genetic diversity of the human oncogenic retrovirus HTLV-1 in Africa, the world's largest endemic area. **Frontiers in immunology**, [s. l.], v. 14, 2023.

GESSAIN, A. R etrovirus humains HTLV-1 et HTLV-2. **EMC - Maladies Infectieuses**, [s. l.], v. 1, n. 3, p. 203–220, 2004.

GESSAIN, Antoine; CASSAR, Olivier. **Epidemiological aspects and world distribution of HTLV-1 infection**. [S. l.: s. n.], 2012a.

GESSAIN, Antoine; CASSAR, Olivier. Epidemiological aspects and world distribution of HTLV-1 infection. **Frontiers in microbiology**, [s. l.], v. 3, p. 388, 2012b.

GESSAIN, Antoine; MAHIEUX, Renaud; DE TH E, Guy. Genetic variability and molecular epidemiology of human and simian T cell leukemia/lymphoma virus type I.

Journal of acquired immune deficiency syndromes and human retrovirology, [s. l.], v. 13 Suppl 1, n. SUPPL. 1, 1996.

GHORBEL, Sofiane *et al.* Human T-cell leukemia virus type I p30 nuclear/nucleolar retention is mediated through interactions with RNA and a constituent of the 60 S ribosomal subunit. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 281, n. 48, p. 37150–37158, 2006.

GIAM, Chou Zen. HTLV-1 Replication and Adult T Cell Leukemia Development. **Recent Results in Cancer Research**, [s. l.], v. 217, p. 209–243, 2021.

GIEBLER, Holli A. *et al.* Anchoring of CREB binding protein to the human T-cell leukemia virus type 1 promoter: a molecular mechanism of Tax transactivation. **Molecular and cellular biology**, [s. l.], v. 17, n. 9, p. 5156–5164, 1997.

GOREN, Itamar; TAVOR, Eynat; HONIGMAN, Alik. Gene regulation mediated by interaction between HTLV-1 promoter elements and transcription factors Tax and CREB. **Virology**, [s. l.], v. 256, n. 2, p. 303–312, 1999.

H. DE OLIVEIRA, Evaldo *et al.* Human T-cell lymphotropic virus in patients infected with HIV-1: molecular epidemiology and risk factors for transmission in Piauí, Northeastern Brazil. **Current HIV research**, [s. l.], v. 10, n. 8, p. 700–707, 2012.

HARROD, Robert. Silencers of HTLV-1 and HTLV-2: the pX-encoded latency-maintenance factors. **Retrovirology** 2019 16:1, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 1–17, 2019.

HASE, Koji *et al.* M-Sec promotes membrane nanotube formation by interacting with Ral and the exocyst complex. **Nature Cell Biology** 2009 11:12, [s. l.], v. 11, n. 12, p. 1427–1432, 2009.

HILBURN, Silva *et al.* In vivo expression of human T-lymphotropic virus type 1 basic leucine-zipper protein generates specific CD8⁺ and CD4⁺ T-lymphocyte responses

that correlate with clinical outcome. **The Journal of infectious diseases**, [s. l.], v. 203, n. 4, p. 529–536, 2011.

HIVIN, Patrick *et al.* Nuclear localization of HTLV-I bZIP factor (HBZ) is mediated by three distinct motifs. **Journal of Cell Science**, [s. l.], v. 118, n. 7, p. 1355–1362, 2005.

HIYOSHI, Masateru *et al.* M-Sec induced by HTLV-1 mediates an efficient viral transmission. **PLOS Pathogens**, [s. l.], v. 17, n. 11, p. e1010126, 2021.

HIYOSHI, Masateru *et al.* M-Sec promotes the accumulation of intracellular HTLV-1 Gag puncta and the incorporation of Env into viral particles. **PLoS pathogens**, [s. l.], v. 21, n. 1, 2025.

HLEIHEL, Rita *et al.* Primary cells from patients with adult T cell leukemia/lymphoma depend on HTLV-1 Tax expression for NF- κ B activation and survival. **Blood Cancer Journal 2023 13:1**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 1–10, 2023.

HULME, Amy E.; PEREZ, Omar; HOPE, Thomas J. Complementary assays reveal a relationship between HIV-1 uncoating and reverse transcription. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 108, n. 24, p. 9975–9980, 2011.

IGAKURA, Tadahiko *et al.* Spread of HTLV-I between lymphocytes by virus-induced polarization of the cytoskeleton. **Science**, [s. l.], v. 299, n. 5613, p. 1713–1716, 2003.

IÑIGUEZ, Alena Mayo *et al.* Correlation of HTLV-1 Tax genetic diversity with HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis progression and HTLV-1a genotypes in an HTLV-1 endemic region in Argentina. **Journal of medical virology**, [s. l.], v. 82, n. 8, p. 1438–1441, 2010.

IÑIGUEZ, Alena M. *et al.* HTLV-1a tax gene and long terminal repeat sequences from Argentinean strains reveal disagreement with tax restriction fragment length polymorphism subtyping. **AIDS research and human retroviruses**, [s. l.], v. 23, n. 9, p. 1127–1130, 2007.

ISHAK, Ricardo *et al.* HTLV in South America: Origins of a silent ancient human infection. **Virus Evolution**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 53, 2020a.

ISHAK, Ricardo *et al.* HTLV in South America: Origins of a silent ancient human infection. **Virus Evolution**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 53, 2020b.

ISHAK, Ricardo; DE OLIVEIRA GUIMARÃES ISHAK, Marluísa; VALLINOTO, Antonio Carlos R. **The challenge of describing the epidemiology of HTLV in the Amazon region of Brazil**. [S. l.]: BioMed Central Ltd., 2020.

IWANAGA, Masako. Epidemiology of HTLV-1 Infection and ATL in Japan: An Update. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 11, 2020.

IWANAGA, Masako *et al.* Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-1) proviral load and disease progression in asymptomatic HTLV-1 carriers: a nationwide prospective study in Japan. **Blood**, [s. l.], v. 116, n. 8, p. 1211–1219, 2010.

JENSEN, Mads Mose *et al.* HTLV prevalence is no longer following the decreasing HIV prevalence – 20 years of retroviral surveillance in Guinea-Bissau, West Africa. **Acta Tropica**, [s. l.], v. 192, p. 144–150, 2019.

JEONG, Soo Jin *et al.* HTLV-I Tax induces a novel interaction between p65/RelA and p53 that results in inhibition of p53 transcriptional activity. **Blood**, [s. l.], v. 104, n. 5, p. 1490–1497, 2004.

JOHN, T. J.; ABDULLAH, I.; JOHN, K. Flower cells in patient with HTLV1 associated adult T-cell leukaemia/lymphoma. **QJM: monthly journal of the Association of Physicians**, [s. l.], v. 113, n. 6, p. 431, 2020.

JOURNO, Chloé; DOUCERON, Estelle; MAHIEUX, Renaud. HTLV Gene Regulation: Because Size Matters, Transcription is Not Enough. **Future Microbiology**, [s. l.], v. 4, n. 4, p. 425–440, 2009.

KAJIYAMA, Wataru *et al.* Intrafamilial Transmission of Adult T Cell Leukemia Virus. **The Journal of Infectious Diseases**, [s. l.], v. 154, n. 5, p. 851–857, 1986.

KALINICHENKO, Svetlana; KOMKOV, Dmitriy; MAZUROV, Dmitriy. HIV-1 and HTLV-1 Transmission Modes: Mechanisms and Importance for Virus Spread. **Viruses**, [s. l.], v. 14, n. 1, 2022.

KALYANARAMAN, V. S. *et al.* A New Subtype of Human T-Cell Leukemia Virus (HTLV-II) Associated with a T-Cell Variant of Hairy Cell Leukemia. **Science**, [s. l.], v. 218, n. 4572, p. 571–573, 1982.

KANNAGI, Mari *et al.* Impact of host immunity on HTLV-1 pathogenesis: potential of Tax-targeted immunotherapy against ATL. **Retrovirology**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 1–14, 2019.

KANNIAN, Priya; GREEN, Patrick L. Human T Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1): Molecular Biology and Oncogenesis. **Viruses**, [s. l.], v. 2, n. 9, p. 2037–2077, 2010.

KAPLAN, J. *et al.* The risk of development of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis among persons infected with HTLV-I. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, [s. l.], 1990.

KASHANCHI, Fatah; BRADY, John N. Transcriptional and post-transcriptional gene regulation of HTLV-1. **Oncogene**, [s. l.], v. 24, n. 39, p. 5938–5951, 2005.

KASHIMA, Simone *et al.* Distribution of human T cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) subtypes in Brazil: genetic characterization of LTR and tax region. **AIDS research and human retroviruses**, [s. l.], v. 22, n. 10, p. 953–959, 2006.

KHAN, Muhammad *et al.* HTLV-1 Associated Neurological Disorders. **Current topics in medicinal chemistry**, [s. l.], v. 17, n. 12, p. 1320–1330, 2017.

KITAGAWA, Takao *et al.* Antibodies to HTLV-I in Japanese Immigrants in Brazil. **JAMA**, [s. l.], v. 256, n. 17, p. 2342–2342, 1986.

KOIWA, Tsukasa *et al.* 5'-Long Terminal Repeat-Selective CpG Methylation of Latent Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 Provirus In Vitro and In Vivo. **Journal of Virology**, [s. l.], v. 76, n. 18, p. 9389–9397, 2002.

KORALNIK, Igor J; FULLEN, Jake; FRANCHINI, Genoveffa. The p12I, p13II, and p30II proteins encoded by human T-cell leukemia/lymphotropic virus type I open reading frames I and II are localized in three different cellular compartments. **Journal of Virology**, [s. l.], v. 67, n. 4, p. 2360–2366, 1993.

KUBOTA, Ryuji *et al.* Genetic stability of human T lymphotropic virus type I despite antiviral pressures by CTLs. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, [s. l.], v. 178, n. 9, p. 5966–5972, 2007.

KUBUKI, Yoko *et al.* Telomerase activity and telomere length as prognostic factors of adult T-cell leukemia. **Leukemia & Lymphoma**, [s. l.], v. 46, n. 3, p. 393–399, 2005.

LARSEN, Olav *et al.* Prevalences of HTLV-1 infection and associated risk determinants in an urban population in Guinea-Bissau, West Africa. **Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 157–163, 2000.

LEGRAND, Nicolas *et al.* Clinical and Public Health Implications of Human T-Lymphotropic Virus Type 1 Infection. **Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 35, n. 2, 2022.

LEMASSON, Isabelle *et al.* Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 (HTLV-1) bZIP Protein Interacts with the Cellular Transcription Factor CREB To Inhibit HTLV-1 Transcription. **Journal of Virology**, [s. l.], v. 81, n. 4, p. 1543–1553, 2007.

LEMASSON, Isabelle *et al.* Transcription regulatory complexes bind the human T-cell leukemia virus 5' and 3' long terminal repeats to control gene expression. **Molecular and cellular biology**, [s. l.], v. 24, n. 14, p. 6117–6126, 2004.

LETAFATI, Arash *et al.* HTLV-1 vaccination Landscape: Current developments and challenges. **Vaccine: X**, [s. l.], v. 19, p. 100525, 2024.

LI, Hong Chuan *et al.* The presence of ancient human T-cell lymphotropic virus type I provirus DNA in an Andean mummy. **Nature Medicine**, [s. l.], v. 5, n. 12, p. 1428–1432, 1999.

LIMA, Ana Carolina Marinho Monteiro *et al.* Mapping variants in HTLV-1 genome to analyze their impacts on the HAM/TSP development: A systematic review. **Journal of Medical Virology**, [s. l.], v. 96, n. 9, p. e29912, 2024.

LI-WEBER, Min *et al.* Human T cell leukemia virus type I Tax enhances IL-4 gene expression in T cells. **European Journal of Immunology**, v. 31, n. 9, p. 2623-2632, 2001.

LOPES, Maria Sueli S.N.; PROIETTI, Anna Barbara F.C. HTLV-1/2 transfusional e hemovigilância: a contribuição dos estudos de look-back. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [s. l.], v. 30, n. 3, p. 229–240, 2008.

MAGRI, Mariana Cavaleiro *et al.* Tax Gene Characterization of Human T-Lymphotropic Virus Type 1 Strains from Brazilian HIV-Coinfected Patients. **AIDS Research and Human Retroviruses**, [s. l.], v. 28, n. 12, p. 1775, 2012.

MAGRI, Mariana Cavaleiro; COSTA, Emanuela Avelar Silva; CATERINO-DE-ARAÚJO, Adele. LTR point mutations in the Tax-responsive elements of HTLV-1 isolates from HIV/HTLV-1-coinfected patients. **Virology journal**, [s. l.], v. 9, 2012.

MAHIEUX, R. Aspects virologiques de l'infection par HTLV-1 et nouveaux concepts thérapeutiques. **Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique**, [s. l.], v. 104, n. 3, p. 181–187, 2011.

MAHIEUX, Renaud *et al.* Molecular epidemiology of 58 new African human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) strains: identification of a new and distinct HTLV-1 molecular subtype in Central Africa and in Pygmies. **Journal of Virology**, [s. l.], v. 71, n. 2, p. 1317–1333, 1997.

MAHIEUX, R; DE THÉ, G; GESSAIN, A. The tax mutation at nucleotide 7959 of human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) is not associated with tropical spastic paraparesis/HTLV-1-associated myelopathy but is linked to the cosmopolitan molecular genotype. **Journal of Virology**, [s. l.], v. 69, n. 9, p. 5925–5927, 1995.

MAKSIMOVA, Victoria; PANFIL, Amanda R. Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 Envelope Protein: Post-Entry Roles in Viral Pathogenesis. **Viruses**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 138, 2022.

MALONEY, Elizabeth M. *et al.* Incidence of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) in Jamaica and Trinidad. **Journal of acquired immune deficiency syndromes and human retrovirology**, [s. l.], v. 17, n. 2, p. 167–170, 1998.

MANN, A. *et al.* Role of HTLV-I in development of non-Hodgkin lymphoma in Jamaica and Trinidad and Tobago. **The Lancet**, [s. l.], v. 342, n. 8885, p. 1447–1450, 1993.

MARCUSSO, Rosa Maria do Nascimento *et al.* HTLV-1-Associated Myelopathy (HAM) Incidence in Asymptomatic Carriers and Intermediate Syndrome (IS) Patients. **Pathogens**, [s. l.], v. 13, n. 5, p. 403, 2024.

MARTELLA, Christophe; WAAST, Laetitia; PIQUE, Claudine. Tax, marionnettiste de la transcription du HTLV-1. **médecine/sciences**, [s. l.], v. 38, n. 4, p. 359–365, 2022.

MARTIN, Jessica L. *et al.* Molecular Studies of HTLV-1 Replication: An Update. **Viruses**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 31, 2016.

MARTINEZ, Michael P.; AL-SALEEM, Jacob; GREEN, Patrick L. Comparative virology of HTLV-1 and HTLV-2. **Retrovirology**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 21, 2019a.

MARTINEZ, Michael P.; AL-SALEEM, Jacob; GREEN, Patrick L. Comparative virology of HTLV-1 and HTLV-2. **Retrovirology** 2019 16:1, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 1–12, 2019b.

MATSUOKA, M.; JEANG, K. T. Human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) and leukemic transformation: viral infectivity, Tax, HBZ and therapy. **Oncogene**, [s. l.], v. 30, n. 12, p. 1379–1389, 2010.

MCGUIRE, Kathleen L *et al.* Influence of human T-cell leukemia virus type I tax and rex on interleukin-2 gene expression. **Journal of Virology**, [s. l.], v. 67, n. 3, p. 1590–1599, 1993.

MELAMED, Anat *et al.* Genome-wide Determinants of Proviral Targeting, Clonal Abundance and Expression in Natural HTLV-1 Infection. **PLOS Pathogens**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. e1003271, 2013.

MILLEN, Sebastian; THOMA-KRESS, Andrea K. Milk Transmission of HTLV-1 and the Need for Innovative Prevention Strategies. **Frontiers in medicine**, [s. l.], v. 9, 2022.

MIRANDA, Angelica Espinosa *et al.* Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats (SWOT) Analysis of the Implementation of Public Health Policies on HTLV-1 in Brazil. **Frontiers in Medicine**, [s. l.], v. 9, p. 864, 2022.

MIRHOSSEINI, Ali *et al.* Complete sequence of human T cell leukemia virus type 1 in ATLL patients from Northeast Iran, Mashhad revealed a prematurely terminated protease and an elongated pX open reading frame III. **Infection, Genetics and Evolution**, [s. l.], v. 73, p. 460–469, 2019.

MIURA, Tomoyuki *et al.* Phylogenetic subtypes of human T-lymphotropic virus type I and their relations to the anthropological background. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 91, n. 3, p. 1124–1127, 1994.

MIURA, Michi; NAITO, Tadasuke; SAITO, Mineki. Current Perspectives in Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 Infection and Its Associated Diseases. **Frontiers in Medicine**, [s. l.], v. 9, 2022.

MIYAZAKI, Maki *et al.* Preferential Selection of Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 Provirus Lacking the 5' Long Terminal Repeat during Oncogenesis. **Journal of Virology**, [s. l.], v. 81, n. 11, p. 5714, 2007.

MOHANA, R. J. V. **Prevalência do vírus T linfotrófico humano tipo 1 e 2(HTLV-1/2) na população de São Luís-MA**. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão. São Luís, 2023.

MOHANTY, Suchitra; HARHAJ, Edward W. Mechanisms of Innate Immune Sensing of HTLV-1 and Viral Immune Evasion. **Pathogens (Basel, Switzerland)**, [s. l.], v. 12, n. 5, 2023.

MOHANTY, Suchitra; HARHAJ, Edward W. Mechanisms of Oncogenesis by HTLV-1 Tax. **Pathogens**, [s. l.], v. 9, n. 7, p. 1–28, 2020a.

MOHANTY, Suchitra; HARHAJ, Edward W. Mechanisms of Oncogenesis by HTLV-1 Tax. **Pathogens**, [s. l.], v. 9, n. 7, p. 543, 2020b.

MOLES, Ramona *et al.* p30 protein: a critical regulator of HTLV-1 viral latency and host immunity. **Retrovirology**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 1–15, 2019.

MONTAGNE, J. *et al.* Tax1 induction of the HTLV-I 21 bp enhancer requires cooperation between two cellular DNA-binding proteins. **The EMBO journal**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. 957–964, 1990.

MORI, Naoki; PRAGER, Diane. Transactivation of the Interleukin-1 Alpha Promoter by Human T-cell Leukemia Virus. **Leukemia & Lymphoma**, [s. l.], v. 26, n. 5–6, p. 421–433, 1997.

MULLOY, J. C. *et al.* Human T-Cell Lymphotropic/Leukemia Virus Type 1 Tax Abrogates p53-Induced Cell Cycle Arrest and Apoptosis through Its CREB/ATF Functional Domain. **Journal of Virology**, [s. l.], v. 72, n. 11, p. 8852–8860, 1998.

MURAOKA, Osamu *et al.* Transcriptional activation of the interleukin-6 gene by HTLV-1 p40tax through an NF- κ B-like binding site. **Immunology Letters**, [s. l.], v. 37, n. 2–3, p. 159–165, 1993.

MURPHY, Edward *et al.* Human T-Lymphotropic Virus Type I (HTLV-I) Seroprevalence in Jamaica. Demographic Determinants. **American Journal of Epidemiology**, [s. l.], v. 133, n. 11, p. 1114–1124, 1991.

NAKANO, Kazumi; WATANABE, Toshiki. Tuning Rex rules HTLV-1 pathogenesis. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 13, p. 5382, 2022.

NEJMEDDINE, Mohamed; BANGHAM, Charles R.M. The HTLV-1 Virological Synapse. **Viruses**, [s. l.], v. 2, n. 7, p. 1427–1447, 2010.

NETO, Walter K. *et al.* Correlation between LTR point mutations and proviral load levels among human T cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) asymptomatic carriers. **Virology journal**, [s. l.], v. 8, 2011.

NOZUMA, Satoshi *et al.* Geographic characteristics of HTLV-1 molecular subgroups and genetic substitutions in East Asia: Insights from complete genome sequencing of HTLV-1 strains isolated in Taiwan and Japan. **PLoS neglected tropical diseases**, [s. l.], v. 18, n. 2, 2024.

NYBORG, Jennifer K.; EGAN, Dinaida; SHARMA, Neelam. The HTLV-1 Tax protein: Revealing mechanisms of transcriptional activation through histone acetylation and nucleosome disassembly. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms**, [s. l.], v. 1799, n. 3–4, p. 266–274, 2010.

OLINDO, Stéphane *et al.* HTLV-1 proviral load in peripheral blood mononuclear cells quantified in 100 HAM/TSP patients: A marker of disease progression. **Journal of the Neurological Sciences**, [s. l.], v. 237, n. 1–2, p. 53–59, 2005.

OLINDO, Stéphane *et al.* Natural history of human T-lymphotropic virus 1-associated myelopathy: a 14-year follow-up study. **Archives of neurology**, [s. l.], v. 63, n. 11, p. 1560–1566, 2006.

OLIVEIRA, Maria de Fatima S.P.de *et al.* Infective dermatitis associated with the human T cell lymphotropic virus type I in Salvador, Bahia, Brazil. **Clinical infectious**

diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America, [s. l.], v. 40, n. 11, 2005.

OLIVEIRA, Pedro D.; DE CARVALHO, Rebeca F.; BITTENCOURT, Achiléa L. Adult T-cell leukemia/lymphoma in South and Central America and the Caribbean: systematic search and review. **International Journal of STD & AIDS**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 217–228, 2016.

ORLAND, Jennie R. *et al.* Prevalence and clinical features of HTLV neurologic disease in the HTLV Outcomes Study. **Neurology**, [s. l.], v. 61, n. 11, p. 1588–1594, 2003.

PAIS-CORREIA, Ana Monica *et al.* Biofilm-like extracellular viral assemblies mediate HTLV-1 cell-to-cell transmission at virological synapses. **Nature Medicine**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 83–89, 2009.

PAULINO-RAMIREZ, Robert *et al.* Human T-cell lymphotropic virus 1/2 and human immunodeficiency virus antibodies identification among transactional sex workers and drug users in the Dominican Republic. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, [s. l.], v. 113, n. 6, p. 293–297, 2019.

PENOVA, Marina *et al.* Genome wide association study of HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis in the Japanese population. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 118, n. 11, 2021.

PEREIRA-SANTOS, Thaiza Aline *et al.* Diversity of HLA-A2-Restricted and Immunodominant Epitope Repertoire of Human T-Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1) Tax Protein: Novel Insights among N-Terminal, Central and C-Terminal Regions. **Biomolecules**, [s. l.], v. 13, n. 3, 2023.

PESSÔA, Rodrigo *et al.* Molecular Characterization of Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 Full and Partial Genomes by Illumina Massively Parallel Sequencing Technology. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 9, n. 3, 2014.

PINHEIRO GOMES, Yago Côrtes *et al.* Polymorphisms in HTLV-1 Tax-responsive elements in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis patients are associated with reduced proviral load but not with disease progression. **Journal of General Virology**, [s. l.], v. 102, n. 9, p. 001649, 2021.

PISE-MASISON, Cynthia A. *et al.* Inhibition of p53 Transactivation Function by the Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 Tax Protein. **Journal of Virology**, [s. l.], v. 72, n. 2, p. 1165–1170, 1998.

PLANT, Estelle; BELLEFROID, Maxime; VAN LINT, Carine. A complex network of transcription factors and epigenetic regulators involved in bovine leukemia virus transcriptional regulation. **Retrovirology**, [s. l.], v. 20, n. 1, 2023.

PLUTA, Aneta; JAWORSKI, Juan P.; DOUVILLE, Renée N. Regulation of Expression and Latency in BLV and HTLV. **Viruses**, [s. l.], v. 12, n. 10, 2020.

POIESZ, B. J. *et al.* Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 77, n. 12 II, p. 7415–7419, 1980.

PRIMO, J. *et al.* High HTLV-1 proviral load, a marker for HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis, is also detected in patients with infective dermatitis associated with HTLV-1. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [s. l.], v. 42, n. 8, p. 761–764, 2009.

RABSON, Arnold B *et al.* HTLV-1 Tax Tug-of-War: Cellular Senescence and Death or Cellular Transformation. **Pathogens**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 87, 2024.

RAMIREZ, E. *et al.* Defective human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) provirus in 10 Chilean seronegative patients with tropical spastic paraparesis or HTLV-I-associated myelopathy. **Journal of clinical microbiology**, [s. l.], v. 36, n. 6, p. 1811–1813, 1998.

RAMIREZ, E. *et al.* Genetic characterization and phylogeny of human T-cell lymphotropic virus type I from Chile. **Virus Research**, [s. l.], v. 84, n. 1–2, p. 135–149, 2002.

RAMÍREZ-SOTO, M. C.; HUICHI-ATAMARI, M. Prevalence of hepatitis B and human T-lymphotropic virus infection among blood donors at a hospital in the south-central highlands of Peru. **Transfusion Medicine**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 263–265, 2018.

RAVAL, Goutham U. *et al.* Localization, quantification and interaction with host factors of endogenous HTLV-1 HBZ protein in infected cells and ATL. **Retrovirology**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 1–15, 2015.

RENJIFO, Boris; BORRERO, Isabella; ESSEX, Max. Tax mutation associated with tropical spastic paraparesis/human T-cell leukemia virus type I-associated myelopathy. **Journal of Virology**, [s. l.], v. 69, n. 4, p. 2611–2616, 1995.

ROMANELLI, Luiz Cláudio Ferreira *et al.* Incidence of human T cell lymphotropic virus type 1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis in a long-term prospective cohort study of initially asymptomatic individuals in Brazil. **AIDS research and human retroviruses**, [s. l.], v. 29, n. 9, p. 1199–1202, 2013.

ROSADAS, Carolina *et al.* Blocking HTLV-1/2 silent transmission in Brazil: Current public health policies and proposal for additional strategies. **PLoS neglected tropical diseases**, [s. l.], v. 15, n. 9, 2021.

ROSADAS, Carolina *et al.* Estimation of HTLV-1 vertical transmission cases in Brazil per annum. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 12, n. 11, p. e0006913, 2018a.

ROSADAS, Carolina *et al.* Estimation of HTLV-1 vertical transmission cases in Brazil per annum. **PLoS neglected tropical diseases**, [s. l.], v. 12, n. 11, 2018b.

ROSADAS, Carolina; TAYLOR, Graham P. Mother-to-Child HTLV-1 Transmission: Unmet Research Needs. **Frontiers in microbiology**, [s. l.], v. 10, n. MAY, 2019.

SAFFARI, Mona *et al.* Coevolution of HTLV-1-HBZ, Tax, and proviral load with host IRF-1 and CCNA-2 in HAM/TSP patients. **Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases**, [s. l.], v. 103, 2022.

SAGARA, Yasuko *et al.* Fine-scale geographic clustering pattern of human T-cell leukemia virus type 1 infection among blood donors in Kyushu-Okinawa, Japan. **Journal of medical virology**, [s. l.], v. 90, n. 10, p. 1658–1665, 2018.

SAITO, Mineki. Immunogenetics and the Pathological Mechanisms of Human T-Cell Leukemia VirusType 1- (HTLV-1-)Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis (HAM/TSP). **Interdisciplinary perspectives on infectious diseases**, [s. l.], v. 2010, 2010.

SAITO, Mineki *et al.* In vivo expression of the HBZ gene of HTLV-1 correlates with proviral load, inflammatory markers and disease severity in HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). **Retrovirology**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 1–11, 2009.

SAKIHAMA, Shugo *et al.* Genetic profile of adult T-cell leukemia/lymphoma in Okinawa: Association with prognosis, ethnicity, and HTLV-1 strains. **Cancer science**, [s. l.], v. 112, n. 3, p. 1300–1309, 2021.

SALEMI, Marco *et al.* Two New Human T-Lymphotropic Virus Type I Phylogenetic Subtypes in Seroindeletes, a Mbuti Pygmy and a Gabonese, Have Closest Relatives among African STLV-I Strains. **Virology**, [s. l.], v. 246, n. 2, p. 277–287, 1998.

SAN MARTÍN, Héctor *et al.* Human T-Lymphotropic Virus Type 1 and 2 Seroprevalence among first-time blood donors in Chile, 2011–2013. **Journal of Medical Virology**, [s. l.], v. 88, n. 6, p. 1067–1075, 2016.

SATAKE, Masahiro; YAMAGUCHI, Kazunari; TADOKORO, Kenji. Current prevalence of HTLV-1 in Japan as determined by screening of blood donors. **Journal of Medical Virology**, [s. l.], v. 84, n. 2, p. 327–335, 2012.

SATOU, Yorifumi *et al.* The retrovirus HTLV-1 inserts an ectopic CTCF-binding site into the human genome. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 113, n. 11, p. 3054–3059, 2016.

SCHNELL, Annika P.; KOHRT, Stephan; THOMA-KRESS, Andrea K. Latency Reversing Agents: Kick and Kill of HTLV-1?. **International journal of molecular sciences**, [s. l.], v. 22, n. 11, 2021.

SEIKI, M. *et al.* Human adult T-cell leukemia virus: complete nucleotide sequence of the provirus genome integrated in leukemia cell DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 80, n. 12, p. 3618–3622, 1983.

SHIMOTOHNO, K. *et al.* Complete nucleotide sequence of an infectious clone of human T-cell leukemia virus type II: an open reading frame for the protease gene. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 82, n. 10, p. 3101, 1985.

SHUKER, Suzanne Beckham *et al.* Understanding HTLV-I Protease. **Chemistry and Biology**, [s. l.], v. 10, n. 5, p. 373–380, 2003.

SINHA-DATTA, Uma *et al.* Transcriptional activation of hTERT through the NF- κ B pathway in HTLV-I-transformed cells. **Blood**, [s. l.], v. 104, n. 8, p. 2523–2531, 2004.

SONODA, Shunro; LI, Hong Chuan; TAJIMA, Kazuo. Ethnoepidemiology of HTLV-1 related diseases: ethnic determinants of HTLV-1 susceptibility and its worldwide dispersal. **Cancer science**, [s. l.], v. 102, n. 2, p. 295–301, 2011.

SOUSA, F. A. F. **Epidemiologia molecular do vírus T-Linfotrópico Humano no Estado do Maranhão**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão. São Luís, 2024.

STUFANO, Angela *et al.* Work-Related Human T-lymphotropic Virus 1 and 2 (HTLV-1/2) Infection: A Systematic Review. **Viruses**, [s. l.], v. 13, n. 9, 2021.

SWITZER, William M. *et al.* Endemicity and phylogeny of the human T cell lymphotropic virus type II subtype A from the Kayapo Indians of Brazil: evidence for limited regional dissemination. **AIDS research and human retroviruses**, [s. l.], v. 12, n. 7, p. 635–640, 1996.

TAGAYA, Yutaka; GALLO, Robert C. The Exceptional Oncogenicity of HTLV-1. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 8, n. AUG, p. 1425, 2017.

TAKEDA, Satoshi *et al.* Genetic and epigenetic inactivation of tax gene in adult T-cell leukemia cells. **International Journal of Cancer**, [s. l.], v. 109, n. 4, p. 559–567, 2004.

TAMIYA, Sadahiro *et al.* Two Types of Defective Human T-Lymphotropic Virus Type I Provirus in Adult T-Cell Leukemia. **Blood**, [s. l.], v. 88, n. 8, p. 3065–3073, 1996.

TAN, Tse-Hua; HORIKOSHI, Masami; ROEDER, Robert G. Purification and Characterization of Multiple Nuclear Factors That Bind to the TAX-Inducible Enhancer within the Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 Long Terminal Repeat. **Molecular and Cellular Biology**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 1733–1745, 1989.

TANIGUCHI, Yuko *et al.* Silencing of human T-cell leukemia virus type I gene transcription by epigenetic mechanisms. **Retrovirology**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 1–16, 2005.

TAROKHIAN, Hanieh *et al.* The effect of HTLV-1 virulence factors (HBZ, Tax, proviral load), HLA class I and plasma neopterin on manifestation of HTLV-1 associated myelopathy tropical spastic paraparesis. **Virus research**, [s. l.], v. 228, p. 1–6, 2017.

TAYLOR, Graham P.; EVANS, William; ROSADAS, Carolina. High HTLV-1 Proviral Load Predates and Predicts HTLV-1-Associated Disease: Literature Review and the London Experience. **Pathogens (Basel, Switzerland)**, [s. l.], v. 13, n. 7, 2024.

TEKESTE, Shewit S. *et al.* Interaction between Reverse Transcriptase and Integrase Is Required for Reverse Transcription during HIV-1 Replication. **Journal of Virology**, [s. l.], v. 89, n. 23, p. 12058–12069, 2015.

TIE, F *et al.* Interaction of the human T-lymphotropic virus type 1 Tax dimer with CREB and the viral 21-base-pair repeat. **Journal of virology**, [s. l.], v. 70, n. 12, p. 8368–8374, 1996.

TRUJILLO, Jorge M. *et al.* Seroprevalence and Cofactors of HTLV-I Infection in Tumaco, Colombia. **AIDS research and human retroviruses**, [s. l.], v. 8, n. 5, p. 651–657, 2009.

UCHIDA, Naoyuki *et al.* Correlation of telomerase activity with development and progression of adult T-cell leukemia. **Leukemia Research**, [s. l.], v. 23, n. 3, p. 311–316, 1999.

VALLINOTO, Antonio C.R. *et al.* Molecular epidemiology of human T-lymphotropic virus type II infection in Amerindian and urban populations of the Amazon region of Brazil. **Human biology**, [s. l.], v. 74, n. 5, p. 633–644, 2002.

VAN DOOREN, S. *et al.* The Low Evolutionary Rate of Human T-Cell Lymphotropic Virus Type-1 Confirmed by Analysis of Vertical Transmission Chains. **Molecular Biology and Evolution**, [s. l.], v. 21, n. 3, p. 603–611, 2004.

VAN DOOREN, S.; SALEMI, M.; VANDAMME, Anne Mieke. Dating the Origin of the African Human T-Cell Lymphotropic Virus Type-I (HTLV-I) Subtypes. **Molecular Biology and Evolution**, [s. l.], v. 18, n. 4, p. 661–671, 2001.

VAN PROOYEN, Nancy *et al.* Human T-cell leukemia virus type 1 p8 protein increases cellular conduits and virus transmission. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 107, n. 48, p. 20738–20743, 2010a.

VAN PROOYEN, Nancy *et al.* Human T-cell leukemia virus type 1 p8 protein increases cellular conduits and virus transmission. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 107, n. 48, p. 20738–20743, 2010b.

VAN TIENEN, Carla *et al.* HTLV-1 in rural Guinea-Bissau: Prevalence, incidence and a continued association with HIV between 1990 and 2007. **Retrovirology**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 1–9, 2010.

VANDAMME, Anne Mieke *et al.* Primate T-Lymphotropic Virus Type I LTR Sequence Variation and Its Phylogenetic Analysis: Compatibility with an African Origin of PTLV-I. **Virology**, [s. l.], v. 202, n. 1, p. 212–223, 1994.

VIANA, Graça Maria De Castro *et al.* Seroprevalence of HTLV-1/2 among blood donors in the state of Maranhão, Brazil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 50–53, 2014.

WATANABE, Toshiki. HTLV-1-associated diseases. **International journal of hematology**, [s. l.], v. 66, n. 3, p. 257–278, 1997.

WATANABE, T.; SEIKI, M.; YOSHIDA, M. HTLV type I (U. S. isolate) and ATL (Japanese isolate) are the same species of human retrovirus. **Virology**, [s. l.], v. 133, n. 1, p. 238–241, 1984.

WATERS, Allison *et al.* Multiplex real-time PCR for the detection and quantitation of HTLV-1 and HTLV-2 proviral load: Addressing the issue of indeterminate HTLV results. **Journal of Clinical Virology**, [s. l.], v. 52, n. 1, p. 38–44, 2011.

WATTEL, Eric *et al.* Clonal expansion of infected cells: a way of life for HTLV-I. **Journal of acquired immune deficiency syndromes and human retrovirology : official publication of the International Retrovirology Association**, [s. l.], v. 13, n. SUPPL. 1, p. 92–99, 1996.

WOLFE, Nathan D. *et al.* Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 102, n. 22, p. 7994–7999, 2005.

YAO, J.; WIGDAHL, B. Human T cell lymphotropic virus type I genomic expression and impact on intracellular signaling pathways during neurodegenerative disease and leukemia. **Frontiers in bioscience : a journal and virtual library**, [s. l.], v. 5, 2000.

YIN, Min Jean; GAYNOR, Richard B. Complex Formation between CREB and Tax Enhances the Binding Affinity of CREB for the Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 21-Base-Pair Repeats. **Molecular and Cellular Biology**, [s. l.], v. 16, n. 6, p. 3156–3168, 1996.

YOSHIDA, Mika *et al.* Transcriptional Control of Spliced and Unspliced Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 bZIP Factor (HBZ) Gene . **Journal of Virology**, [s. l.], v. 82, n. 19, p. 9359–9368, 2008.

YOSHIDA, M.; MIYOSHI, I.; HINUMA, Y. Isolation and characterization of retrovirus from cell lines of human adult T-cell leukemia and its implication in the disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 79, n. 6, p. 2031–2035, 1982.

ZHANG, Jing *et al.* Human T-cell leukemia virus type 1 Tax modulates interferon-alpha signal transduction through competitive usage of the coactivator CBP/p300. **Virology**, [s. l.], v. 379, n. 2, p. 306–313, 2008.

ZHANG, Wei *et al.* Morphology and ultrastructure of retrovirus particles. **AIMS Biophysics**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 343–369, 2015.

ZHAO, Tiejun *et al.* Human T-cell leukemia virus type 1 bZIP factor selectively suppresses the classical pathway of NF- κ B. **Blood**, [s. l.], v. 113, n. 12, p. 2755–2764, 2009.

ZHAO, Tiejun; MATSUOKA, Masao. HBZ and its roles in HTLV-1 oncogenesis. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 3, n. JUL, 2012.

9. MATERIAL SUPLEMENTAR

9.1 Quadro suplementar 1

Quadro MS1. Sequências utilizadas na construção da árvore filogenética

Nº	GenBank ID	Nome	Genótipo	Localização
1	DQ323833	BRRJ017_95	<i>taxA</i>	Brasil
2	DQ323845	BRRJI69_00	<i>taxA</i>	Brasil
3	DQ323834	BRRJ3476	<i>taxA</i>	Brasil
4	DQ323855	BRRP388	<i>taxA</i>	Brasil
5	DQ323836	BRRJa156_971	<i>taxA</i>	Brasil
6	DQ323870	BRRP004	<i>taxA</i>	Brasil
7	DQ323862	BRRP438	<i>taxA</i>	Brasil
8	DQ323850	BRRP050	<i>taxA</i>	Brasil
9	DQ323883	BRRP464	<i>taxA</i>	Brasil
10	DQ323835	BRRJa107_96	<i>taxA</i>	Brasil
11	DQ323875	BRRP165	<i>taxA</i>	Brasil
12	AF133525	Isolado 31/98	<i>taxA</i>	Brasil
13	AF133524	Isolado 122/97	<i>taxA</i>	Brasil
14	JN887709	BRSP320-09	<i>taxA</i>	Brasil
15	JN887706	BRSP232-08	<i>taxA</i>	Brasil
16	JN887703	BRSP134-08	<i>taxA</i>	Brasil
17	DQ227134	ArJ13-1	<i>taxA</i>	Argentina
18	DQ227130	ArJ2-1	<i>taxA</i>	Argentina
19	DQ227135	ArJ16-1	<i>taxA</i>	Argentina
20	DQ227158	ArJ11-5	<i>taxA</i>	Argentina
21	DQ227189	ArJ55-2	<i>taxA</i>	Argentina
22	DQ227179	ArJ40-2	<i>taxA</i>	Argentina
23	AF259264	WHP	<i>taxA</i>	China
24	AF226593		<i>taxA</i>	China
25	M86840	TSP-1	<i>taxA</i>	Japão

26	AB036376	ATL150	<i>taxA</i>	Japão
27	MH399769	MhD ATL5	<i>taxA</i>	Iran
28	AF003012	RKI2	<i>taxA</i>	Romenia
29	AF042071	RKI3-Ger	<i>taxA</i>	Alemanha
30	L36905	BOI	<i>taxA</i>	França
31	AF485380		<i>taxA</i>	Espanha
31	AF485381		<i>taxA</i>	Espanha
32	DQ323840	BRRJc127_97	<i>taxB</i>	Brasil
33	AB045549	HC34-13	<i>taxB</i>	Japão
34	AF292000	MT-2	<i>taxB</i>	Japão
35	AB045520	HC139	<i>taxB</i>	Japão
36	U19949	ATL-YS	<i>taxB</i>	Japão
37	AB045481	HAM50	<i>taxB</i>	Japão
38	AB045534	HC117	<i>taxB</i>	Japão
39	AB045636	HAM34	<i>taxB</i>	Japão
40	J02029	ATK1	<i>taxB</i>	Japão
41	M67514	EL	HTLV-1b	Melanésia

9.2 Figura suplementar 1

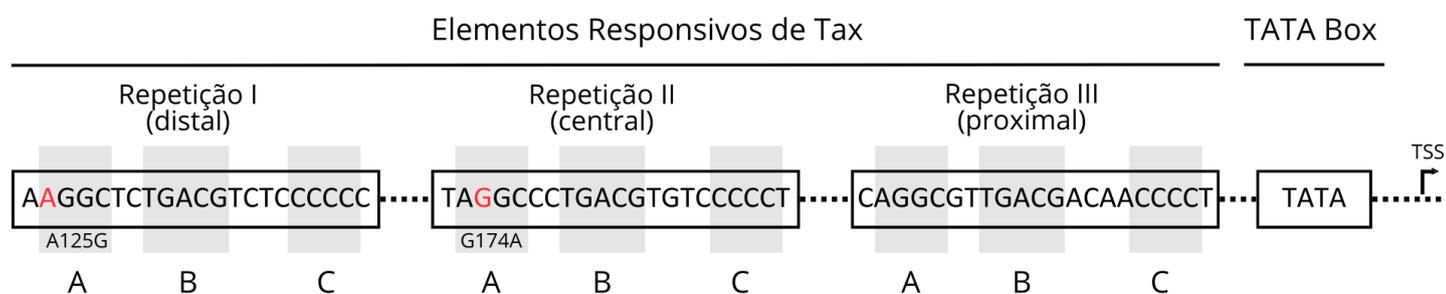


Figura MS1. Representação esquemática indicando os polimorfismos encontrados nos Elementos Responsivos de Tax da região 5'LTR. A análise das três repetições de 21pb revelou a presença dos polimorfismos A125G e G174A no domínio A dos TREs I e II, respectivamente. Os outros domínios a repetição TRE-III permaneceram conservados. Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

9.3 Figura suplementar 2

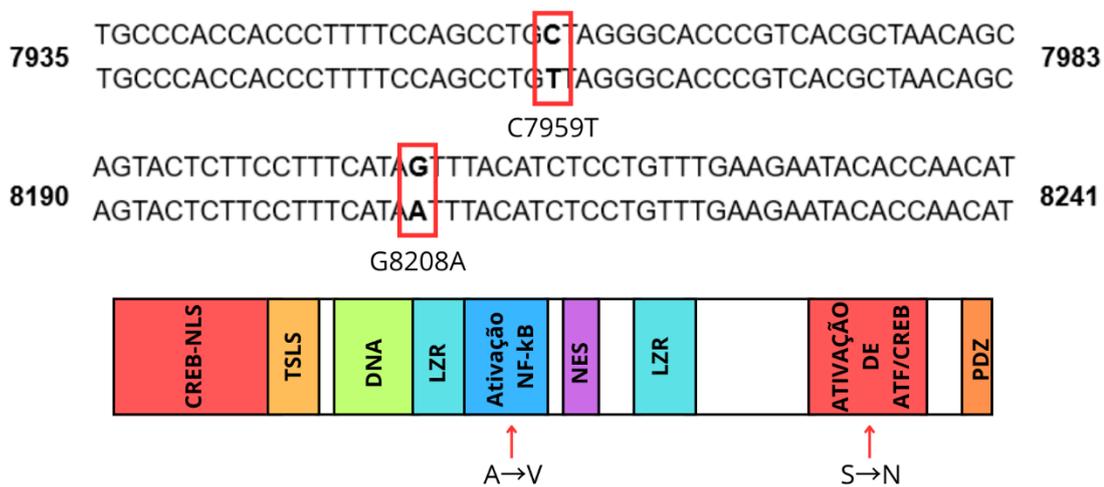


Figura MS2. Representação esquemática de polimorfismos no gene tax que ocasionam troca de aminoácidos na proteína. O polimorfismo C7959T gera a troca de aminoácidos alanina por valina (A→V) no domínio de ativação da via NF-kB, enquanto o segundo polimorfismo, G8208A, resulta troca serina por asparagina (S→N). Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

10. ANEXOS

10.1 Termo de Consentimento Livre Esclarecido (ANEXO 1)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

I- DADOS DE IDENTIFICAÇÃO

NOME: _____

II – DADOS SOBRE O ESTUDO

Você está sendo convidado a participar da pesquisa intitulada **“Você sabe o que é HTLV? Estudo soropidemiológico, molecular e de fatores de risco para infecção pelo vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV-1/2) em diferentes estratos populacionais no Estado do Maranhão, Brasil.”**

A equipe responsável por esta pesquisa é formada pelos seguintes componentes: Profa. Dra. Hivana Dall’Agnol (Coordenadora. Email: hivana.barbosa@ufma.br), o biólogo mestrando Vinícios Arraes (Pesquisador. Email: vinicios.arraes@discente.ufma.br).

III. EXPLICAÇÕES SOBRE O PROJETO DE PESQUISA AO PARTICIPANTE

1) O objetivo da pesquisa é investigar a presença do vírus HTLV nas populações urbanas e quilombolas localizados no estado do Maranhão;

2) A presença deste vírus pode resultar em doenças que devem ser rapidamente tratadas;

3) A pesquisa incluirá a resposta de um questionário com perguntas sobre o risco de se infectar com o vírus HTLV. Após a entrevista faremos a coleta de uma pequena quantidade de seu sangue, para que seja realizada a pesquisa do vírus. Por fim, faremos uma comparação das respostas do questionário com o resultado da pesquisa do vírus.

4) O estudo está previsto para ter 2 anos de duração. A sua participação no estudo será de, aproximadamente, 01 hora, tempo para a coleta do sangue e resposta as perguntas do questionário.

5) Visando esclarecer alguns desses aspectos, estamos convidando você a participar desta pesquisa. Para conduzir os estudos, precisaremos realizar uma coleta de sangue (5 mL) da veia do braço para realizar a pesquisa do vírus. A coleta do seu sangue será realizada com materiais descartáveis e estéreis. Geralmente, não há dor no local da coleta, mas pode ocorrer, sendo de intensidade limitada e por pouco tempo. Algumas complicações decorrentes da coleta de sangue podem ocorrer, como manchas roxas no local da coleta devido à retirada da agulha pelo profissional antes do garrote ou por perfuração da veia; alergia ao álcool a 70% usado para limpeza local ou contaminações devido à má limpeza feita;

6) É assegurado o encaminhamento de todos os casos de infecção para acompanhamento com a equipe médica de cada estado participante do estudo;

7) Este estudo poderá auxiliar nas tomadas de decisão por parte dos gestores da saúde, bem como na realização de ações mais efetivas de prevenção da transmissão do vírus;

8) A participação neste estudo é voluntária e você poderá retirar o seu consentimento e desistir de participar a qualquer momento sem prejuízo do seu tratamento regular;

9) As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros participante da pesquisa, não sendo divulgada a identificação de nenhum participante da pesquisa;

10) Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exame e consultas. Também, não há compensação financeira relacionada à participação; exceto o ressarcimento de despesas decorrentes de sua participação no estudo nos dias em que for necessária sua presença para consultas ou exames, caso haja (como exemplo, o transporte e a alimentação, mas não se restringindo a eles);

11) Será garantida, ao participante da pesquisa, a assistência integral gratuita devido a danos diretos/indiretos e imediatos ou tardios, pelo tempo que for necessário;

12) A retirada do consentimento de guarda das amostras biológicas obtidas no estudo deverá ser realizada por escrito e assinada, podendo dar-se a qualquer tempo, sem prejuízo ao participante da pesquisa, com validade a partir da data da comunicação da decisão, sendo necessária a devolução/destruição de TODAS as amostras biológicas coletadas durante o estudo (Resolução CNS no 340 de 2004, itens III.6 e III.7; Resolução CNS no 441 de 2011, item 10.I).

13) O pesquisador guardará segredo sobre a sua identidade. Você não será identificado em nenhuma publicação. Os riscos envolvidos na pesquisa consistem em “RISCOS MÍNIMOS” (ex.: a possibilidade de exposição da identidade dos participantes, seja por imagem, seja por identificação sonora, etc.).

14) Para obtenção de quaisquer informações, esclarecimentos e resultados da pesquisa, incluindo o direito de buscar indenização por danos eventuais, o participante da pesquisa poderá entrar em contato, a qualquer momento, com o pesquisador responsável (Profa. Dra. Hivana Dall’Agnol) no Laboratório de Genética e Biologia Molecular do Departamento de Biologia, da Universidade Federal do Maranhão, situado na Av. dos Portugueses, 1966 - Vila Bacanga, São Luís - MA, CEP 65080-805. Ou entrar em contato através do telefone (98) 3272-8543 / email: hivana.barbosa@ufma.br. Ou ainda o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário. Telefone (98) 2109 1250, endereço Rua Barão de Itapary, 227, quarto andar, Centro, São Luís-MA. CEP 65.020-070.

15) Todas as informações coletadas serão mantidas em sigilo.

IV. CONSENTIMENTO

Considerando, que fui devidamente informado(a) dos objetivos, da relevância do estudo proposto, de como será minha participação, dos procedimentos e dos riscos decorrentes deste estudo, declaro o meu consentimento em participar da pesquisa, como, também, concordo que os dados obtidos na investigação sejam utilizados para fins científicos (divulgação em eventos e/ou publicações). Estou ciente que receberei uma via desse documento.

São Luís, ____ de _____ de 20__

Assinatura participante da pesquisa Assinatura e carimbo do Pesquisador

Obs: A Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Conep) tem como atribuição principal a avaliação dos aspectos éticos das pesquisas que envolvem seres humanos no Brasil e, também, coordena a rede de Comitês de Ética em Pesquisa (CEP) das instituições – Sistema CEP/Conep. Cabe à Conep avaliar eticamente e acompanhar as pesquisas em áreas especiais, como genética e reprodução humana, novos equipamentos, dispositivos para a saúde, novos procedimentos, população indígena, projetos ligados à biossegurança, dentre outros.

10.2 Questionário socioepidemiológico (ANEXO 2)

QUESTIONÁRIO HTLV

Data: ____/____/____

Nº (ID): _____

População: () Urbana () Indígena () Ribeirinha () Quilombola () Rural

Nome: _____ Sexo: _____ Data de nascimento: ____/____/____

Idade _____

Tipo sanguíneo: () A+ () A- () AB+ () AB- () B+ () B- () O+ () O- () não sabe

- 1) Onde você nasceu (cidade/estado)? _____
- 2) Em que município você reside? () Belém () Manaus () Rio Branco () Macapá () Goiânia () Campo Grande () Palmas
() Outros : _____
- 3) Há quanto tempo você reside nessa localidade? () < 1 ano () 1 a 3 anos () 4 a 7 anos () > 7 anos
- 4) Em relação a sua cor, como você se classifica? () Branca () Negra () Parda () Amarela
- 5) Qual é o seu estado civil? () Casada ou "vive junto" () Solteiro/a () Separado/a () Viúvo/a
- 6) Nível de escolaridade: () Ensino fundamental incompleto () ensino fundamental completo () ensino médio incompleto
() ensino médio completo () ensino superior incompleto () ensino superior completo
() pós-graduação incompleta () pós-graduação completa () Analfabeto
- 7) Renda familiar (salários mínimos): () < 1 () 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () > 5
- 8) Você ou sua família recebe auxílio governamental (B. Família, BPC, Aux. Emergencial, etc)? () Sim () Não. Qual?

- 9) Você faz algum acompanhamento de saúde? () Não () Sim
- 10) Se sim, qual foi a última vez? () Há um mês () Há 6 meses () > 6 meses
- 11) Se sim, onde? () SUS () Privado
- 12) Você fuma cigarros? () Sim () Não
- 13) Se sim, quantos cigarros por dia na última semana? () Menos 10 () Entre 10-20 () +20
- 14) Você consome bebida alcoólica? () Sim () Não () às vezes
- 15) Se sim, quantas vezes por semana? () 1 a 3 () 4 a 6 () Todos os dias
- 16) Você tem alguma tatuagem? () Sim () Não
- 17) Se sim, quantas tatuagens? _____ Em que local do corpo? _____
- 18) Você tem algum piercing no corpo? () Sim () Não
- 19) Você já recebeu transfusão de sangue? () Sim () Não
- 20) Se sim, quantas? _____ Em que ano recebeu transfusão? _____
- 21) Você já usou alguma droga ilícita (fumada, inalada ou injetável) na sua vida? () Sim () Não
- 22) Quando criança, você foi amamentado? () Sim () Não () Não sei
- 23) Você é sexualmente ativo? () Sim () Não
- 24) Você já ficou gestante durante sua vida? () Sim () Não
- 25) Se sim, quantas vezes ficou gestante? _____
- 26) Já amamentou () Sim () Não
- 27) Se sim, por quanto tempo? () menos de 6 meses () 6 ou mais meses
- 28) Com que idade você teve a sua primeira relação sexual? _____
- 29) Já praticou sexo em troca de dinheiro? () Sim () Não
- 30) Usa preservativo nas relações sexuais? () Sim () Não () às vezes
- 31) Quantos parceiros por semana? () 1 () 2 () 3 ou mais
- 32) Já teve diagnóstico de alguma IST? () Sim () Não () Não sabe dizer

10.3 Parecer do comitê de ética (ANEXO 3)

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO - HU/UFMA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Você sabe o que é HTLV? Pesquisa do vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV-1/2) no Estado do Maranhão, Brasil.

Pesquisador: HIVANA PATRICIA MELO BARBOSA DALL AGNOL

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 79351424.0.0000.5086

Instituição Proponente: Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS)

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.878.783

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos Apresentação do Projeto; Objetivo da Pesquisa e Avaliação dos Riscos e Benefícios foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2285608.pdf, versão 2. Datado de 28 / 05 /2024).

INTRODUÇÃO

Os vírus linfotrópicos de células T humanas 1 e 2 (HTLV-1 e HTLV-2) pertencem à família Retroviridae, subfamília Oncovirinae, gênero Deltaretrovirus. O HTLV-1 possui um tropismo preferencial pelas células humanas conhecidas como linfócitos T CD4+ e o HTLV-2 pelos linfócitos T CD8+ (MARTINEZ; AL-SALEEM; GREEN, 2019). O HTLV-1 é um vírus potencialmente carcinogênico que causa uma forma agressiva de leucemia/linfoma de células T em adultos (ATLL) (TAGAYA; GALLO, 2017). Pacientes com ATLL, geralmente desenvolvem diagnóstico e expectativa de sobrevivência desfavoráveis (EINSIEDEL et al., 2013; TSUKASAKI et al., 2009). É também associado à mielopatia/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP) (CASSAR et al., 2014), um quadro inflamatório e debilitante que leva à alta morbidade e mortalidade (MARTIN; TAGAYA; GALLO, 2018). Outras manifestações como dermatite infecciosa, artrite e uveíte, também podem estar relacionadas à infecção pelo vírus. O tipo viral HTLV-2 é raramente associado a sintomas de doenças neurológicas e leucêmicas (TEIXEIRA; HENNINGTON, 2021).

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227 4º andar
Bairro: CENTRO **CEP:** 65.020-070
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)2109-1250 **Fax:** (98)2109-1002 **E-mail:** cep@huufma.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO - HU/UFMA



Continuação do Parecer: 6.878.783

São descritas três diferentes rotas de transmissão dos HTLVs: na rota vertical, o vírus é transmitido de mães lactantes infectadas para a criança através da amamentação, é descrita como a principal rota atualmente; na horizontal, a transmissão se dá pelo contato das relações sexuais e a transmissão parenteral, que ocorre através de administração de drogas endovenosa, transplante de órgãos e transfusão sanguínea (MOHANTY; HARHAJ, 2020). As manifestações clínicas associadas HTLV-1 incidem em cerca de 2-10% dos infectados, entretanto, a maior parcela daqueles que permanecem assintomáticos são infecciosos e continuam a transmissão (ROSADAS et al., 2018). Assim, por se tratar de um vírus negligenciado e provocar quadros clínicos diversos, a transmissão ocorre de forma silenciosa e despercebida, o que torna difícil, mesmo para os profissionais da saúde, identificar a infecção pelo vírus. Atualmente, não há cura ou vacina para o vírus, sendo o manejo do paciente restrito ao tratamento sintomático (TEIXEIRA; HENNINGTON, 2021). A soroprevalência do HTLV-1 aumenta gradativamente conforme a idade e é geralmente mais elevada entre mulheres, chegando a alcançar 40% em algumas áreas endêmicas para o vírus (GESSAIN; CASSAR, 2012). Apesar da alta endemicidade, sua distribuição geográfica se apresenta de forma heterogênea, geralmente ocorrendo em determinados grupos étnicos ou intercalando áreas sem incidência de infecções (CASSAR et al., 2014). Essas áreas, envolvem países como o sul do Japão, África Subsaariana, Baía do Caribe, Irã, Austrália e sul da América do Sul incluindo o Brasil, Colômbia e Peru (GESSAIN; CASSAR, 2012). Contudo, regiões densamente povoadas como China e Índia apresentam dados limitados e, portanto, a prevalência mundial pode ser subestimada (MOHANTY; HARHAJ, 2020). No Brasil, pesquisas preliminares envolvendo doadores de sangue revelaram a distribuição heterogênea do HTLV em diversas regiões do país, com maior nas regiões Norte e Nordeste (CATALAN-SOARES et al 2005; VIANA et al., 2014; VIEIRA et al., 2021). A investigação epidemiológica entre comunidades indígenas mostrou que o HTLV-2 circula em alta frequência entre diferentes grupos linguísticos da região amazônica do Brasil, nos quais a transmissão de mãe para filho (in útero e amamentação perinatal) e a relação sexual são as principais vias de transmissão (ISHAK et al., 1995; VALLINOTO et al., 2002). Na região Centro-Oeste, alguns trabalhos têm demonstrado a ocorrência da infecção pelos HTLV-1 e HTLV-2 em populações quilombolas e co-infectando portadores do HIV₁ e do M. tuberculosis (KOZLOWSKI et al., 2016; NASCIMENTO et al., 2009). O HTLV é um vírus envelopado que possui aproximadamente 80-100 nm, apresenta genoma complexo composto por duas fitas simples e idênticas de RNA que codifica uma enzima transcriptase reversa associada à sua estrutura, além de integrase, protease e proteínas estruturais (CATALAN-SOARES et al., 2005). O genoma

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227 4º andar
Bairro: CENTRO **CEP:** 65.020-070
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)2109-1250 **Fax:** (98)2109-1002 **E-mail:** cep@huufma.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO - HU/UFMA



Continuação do Parecer: 6.878.783

do HTLV-1 se integra ao genoma da célula hospedeira, constituindo o estado proviral e codifica genes de proteínas regulatórias e acessórias como p12, p13, p30, tax e hbz (MATSUOKA; JEANG, 2007). A proteína Tax recruta fatores de transcrição do hospedeiro potencializando a expressão de genes codificados na fita positiva do genoma proviral, além disso, atua desregulando várias vias de sinalizações celulares (FOCHI et al., 2019); e hbz codifica uma proteína regulatória importante na persistência viral e nos processos de patogênese do HTLV (MARTINEZ; AL-SALEEM; GREEN, 2019). As proteínas Tax e HBZ (HTLV basic zipper), têm sido alvo de estudos por reunirem características que são extremamente relevantes na infecção do HTLV-1. Essas proteínas atuam na manutenção da persistência viral e promovem a proliferação celular e resposta inflamatória; além de serem indispensáveis na sobrevivência e no processo de oncogênese na ATLL (BRITES et al., 2021; GIAM; SEMMES, 2016). Estudos reportam múltiplas alterações que controlam a proliferação, senescência e morte celular entre as funções de Tax e HBZ relacionadas à manifestação de ATLL. Os efeitos resultantes da expressão de Tax e HBZ, favorecem a ativação do fator de transcrição NF- κ B e contribuem para o mecanismo de escape do sistema imunológico das células infectadas, garantindo assim a sobrevivência e proliferação celular. Tax é uma proteína altamente imunogênica e está associada com a expansão policlonal de células T que ocorre após a infecção por HTLV-1 na leucemia/linfoma (FOCHI et al., 2019; NOSAKA; MATSUOKA, 2021). Já em pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM), pode ser observada uma alta produção de anticorpos e a expressão de Tax é relacionada à desregulação da resposta imune. Por outro lado, observa-se que pacientes com HTLV e assintomáticos apresentam baixos títulos de anticorpos para Tax, quando comparados a pacientes portadores de HAM com carga viral semelhante (MOTAMIRANDA et al., 2013). A expressão de Tax no sistema nervoso central (SNC), pode provocar danos neurológicos direta ou indiretamente devido à perda das células de defesa específicas (MEDINA et al., 2014). O comportamento dos genes Tax e HBZ são antagonistas contrastando no que se refere ao padrão de expressão e imunogenicidade (AKKOCHE et al., 2021; BRITES et al., 2021; GIAM; SEMMES, 2016). Diferente de Tax, HBZ é expresso constantemente apresentando baixa imunogenicidade, resultando em baixa resposta de linfócitos T citotóxicos e replicação viral diminuída. Além disso, a expressão de HBZ está presente e é detectável em todos os casos de ATLL. Em contraste, a expressão de Tax ocorre de forma heterogênea na ATLL (KATAOKA et al., 2015; NOSAKA; MATSUOKA, 2021). Nosaka, 2021 propõe três subtipos de expressão para Tax: alta expressão, intermitente e perda de expressão de Tax. Em um quarto dos casos de ATLL decorrentes da infecção por HTLV-1, essa

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227 4º andar
Bairro: CENTRO **CEP:** 65.020-070
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)2109-1250 **Fax:** (98)2109-1002 **E-mail:** cep@huufma.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO - HU/UFMA



Continuação do Parecer: 6.878.783

proteína perde a expressão, indicando que excluindo-se as alterações epigenéticas do gene hospedeiro, o HBZ é o único gene determinante na leucemogênese. A perda de expressão na ATLL aponta que os efeitos oncogênicos de Tax ocorrem na fase inicial do desenvolvimento da ATLL e HBZ atua na manutenção da ATLL (GIAM; SEMMES, 2016).

Hipótese:

Estudos preliminares indicam que o Maranhão figura entre os estados do Brasil com maior endemicidade de HTLV, apresentando alta incidência de infecções pelo vírus (VIANA et al., 2019). Tal característica epidêmica pode ser explicada por fatores socioeconômicos, culturais e históricos, como o comércio de escravos que perdurou durante o período colonial no estado (SOUZA et al., 2012). Em um estudo sorológico abordando as capitais brasileiras, a capital São Luís (MA), apresentou a maior prevalência média de casos entre doadores de sangue entre os estados analisados (CATALAN-SOARES et al; 2005); alta prevalência, também foi observada em um estudo transversal envolvendo gestantes (VIANA et al., 2014), demonstrando a transmissão e manutenção desse vírus dentro da população maranhense. Estudos de abordagem do HTLV no Brasil, são por si só, objeto de pesquisa escasso. O HTLV e suas manifestações se enquadram no grupo das doenças negligenciadas, bem como das doenças raras e atingem majoritariamente populações em situação de vulnerabilidade. Devido às características de transmissão do vírus, a infecção pode se estender a grupos familiares. Contudo, a infecção é amplamente desconhecida e raramente associada às manifestações decorrentes da patogênese do HTLV, o que dificulta tanto a identificação do agente etiológico como avaliar a evolução do prognóstico das manifestações clínicas. Sabe-se que alterações do genoma do HTLV ainda não completamente elucidadas, possíveis variantes do vírus, exercem papel importante nos mecanismos da patogênese viral no desenvolvimento das variadas manifestações clínicas da infecção (CUCCO et al., 2021). Em seu trabalho Cucco, 2021 descreve uma frequência maior da mutação do gene codificante da proteína HBZ (R119Q) em pacientes assintomáticos sugerindo que essa mutação esteja associada a um fator protetivo às manifestações de HAM. Dessa forma, a identificação e caracterização de marcadores de prognóstico como na população, é crucial para a predição da evolução clínica e desenvolvimento de estratégias voltadas para a prevenção e gerenciamento de prognósticos (BRITES et al., 2021). A urgente necessidade de ampliar o conhecimento deste vírus e limitar sua disseminação, pode ser evidenciada pela inclusão na atenção ao pré-natal de ações permanentes de diagnóstico e rastreamento do HTLV em gestantes Brasileiras, através da

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227 4º andar
Bairro: CENTRO **CEP:** 65.020-070
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)2109-1250 **Fax:** (98)2109-1002 **E-mail:** cep@huufma.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO - HU/UFMA



Continuação do Parecer: 6.878.783

PORTARIA GM/MS Nº 715, DE 4 DE ABRIL DE 2022, disponível em <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-gm/ms-n-715-de-4-de-abril-de-2022-391070559>. Assim, tendo em vista a limitação e carência de pesquisas voltadas ao vírus HTLV; diagnóstico sorológico e molecular, análise de fatores de risco para infecção, bem como investigações que visem caracterizar regiões genômicas de relevância na patogênese em portadores do HTLV no Estado do Maranhão; este projeto servirá como ferramenta de resposta eficaz para enfrentamento do vírus no estado.

Metodologia Proposta:

O presente projeto irá envolver a parceria já firmada, que levou ao início da linha de pesquisa do vírus HTLV no Estado do Maranhão, entre os grupos dos Laboratórios de Genética e Biologia e Molecular da UFMA, local de atuação da coordenadora; e o Laboratório de Virologia da Universidade Federal do Pará, local de atuação de pesquisador colaborador, quando foi desenvolvido projeto prévio intitulado: Marcadores epidemiológicos de frequência (Prevalência) dos HTLV-1/2, seus subtipos moleculares e aspectos sócio-comportamentais de risco para a infecção em populações humanas das Regiões Norte e Centro-Oeste do Brasil (CNPq. 2022-2023). Estudo observacional de corte transversal, descritivo, de prevalência de anticorpos para o HTLV-1/2. Será utilizada amostragem aleatória estratificada. Os locais de coleta para população da capital São Luís-MA serão principalmente escolas, universidades, centros comunitários, coletivos, associações, unidades básicas de saúde, saúde da família dentre outros. Para os estratos populacionais específicos (quilombos) os locais de coleta serão as sedes das comunidades. O trabalho de campo será realizado por equipe composta por profissional técnico de enfermagem e um pesquisador do projeto. Os indivíduos menores de idade deverão assinar o TALE, específico para faixa etária, enquanto seus representantes legais assinarão o TCLE autorizando sua participação no estudo, os indivíduos maiores de idade assinarão apenas o TCLE, e todos serão convidados a responder um questionário epidemiológico.

Amostras de sangue venoso periférico (5 mL) com EDTA serão coletadas e transportadas até o LabGeM/UFMA, onde plasma e a massa celular (glóbulos brancos) serão separados por centrifugação e congelados à -20°C.

4.2 Diagnóstico Sorológico da infecção pelo HTLV-1/2 Para a detecção plasmática de anticorpos

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227 4º andar
Bairro: CENTRO **CEP:** 65.020-070
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)2109-1250 **Fax:** (98)2109-1002 **E-mail:** cep@huufma.br

Continuação do Parecer: 6.878.783

totais anti γ HTLV γ 1/2 (anti γ gp46 e gp21), será realizada uma triagem pelo método de ELISA (Murex HTLV I + II, DIASORIN), seguindo o protocolo do fabricante. As amostras que apresentarem resultado reagente ou indeterminado serão submetidas à confirmação através da metodologia de Western Blot (HTLV BLOT 2.4 DIASORIN) para detecção de proteínas recombinantes específicas para HTLV-1 ou HTLV γ 2 e de uma proteína de epítipo de envelope comum a ambos os tipos. 4.3 Extração de DNA Após a triagem sorológica acima descrita, as amostras positivas seguirão para a pesquisa do DNA proviral do HTLV, nesta serão utilizados 200 μ L de massa celular, que serão submetidas à extração de DNA com auxílio do Kit QiaAmp DNA mini kit (Qiagen, Germany), seguindo o protocolo do fabricante. O DNA será quantificado em espectrofotômetro NanoDrop (Thermo Scientific), e utilizado nas próximas etapas. 4.4 PCR em Tempo Real (qPCR) para Confirmação da Infecção por HTLV-1/2 Para a confirmação molecular da infecção, a qPCR será realizada utilizando-se o sistema TaqMan (Applied Biosystems, Foster City, CA) a partir de três sequências alvo: o gene da albumina, como controle endógeno e as regiões não homólogas do gene pol do HTLV-1 e do HTLV-2, como descrito por Tamegão-Lopes et al., (2006). Inicialmente, para realização desta etapa, uma alíquota de DNA das amostras positivas será enviado ao Laboratório de Virologia (UFPA), entretanto, com a aprovação e andamento deste projeto, espera-se realizar reparo do equipamento de PCR em tempo real do LabGeM, e implantar esta metodologia localmente. 4.5 Caracterização molecular do genoma proviral Uma alíquota de DNA das amostras que forem positivas em todos os testes acima descrito, confirmando o diagnóstico de HTLV-1, será submetida a análise do genoma proviral. Inicialmente será realizada a amplificação através de PCR convencional conforme descrito por Borba et al., (2019). Após eletroforese em gel de agarose o fragmento de interesse será purificado com o kit comercial QIAquick PCR Purification (QIAGEN) e enviado para sequenciamento clássico em serviço especializado de terceiros, por meio da metodologia de Sanger.

Metodologia de Análise de Dados:

As informações irão compor bancos de dados no programa Excel e Epi-Info7.2. Serão feitas as avaliações de estatística descritiva por meio de gráficos e tabelas, e posterior associação das variáveis classificatórias por testes não paramétricos, e análises multivariadas. As análises serão realizadas no programa Prism 6 for Windows, Bioestat 5.3 (AYRES M; AYRES-JUNIOR M; AYRES D SANTOS A, 2007).

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227 4º andar
Bairro: CENTRO **CEP:** 65.020-070
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)2109-1250 **Fax:** (98)2109-1002 **E-mail:** cep@huufma.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO - HU/UFMA



Continuação do Parecer: 6.878.783

Desfecho Primário:

Para o participante voluntário, conhecer seu estado sorológico para o vírus HTLV. Ao contribuir para conhecer a ocorrência dos vírus HTLV-1 e HTLV-2 na população do estado, a expectativa é que os resultados obtidos sejam aplicados, diretamente, com as populações examinadas, para acompanhamento.

Desfecho Secundário:

É esperado que sejam definidas informações epidemiológicas concretas para auxiliar futuras tomadas de decisões e na criação de políticas governamentais em saúde. A pesquisa contribuirá de maneira inédita para investigar o polimorfismo genético viral do HTLV circulante na população do estado. Dentre os Impactos Previstos; a pesquisa irá promover a integração das equipes dos dois citados laboratórios, contribuindo para a formação de pesquisadores na área da Virologia, Biologia Molecular e Celular, Genética, Bioinformática e afins no Estado do Maranhão. Os resultados viabilizarão a produção de literatura científica relevante em periódicos indexados internacionalmente e assim, contribuirá agregando informações a respeito deste vírus negligenciado a nível mundial. A divulgação científica e disseminação dos resultados decorrentes do estudo não se limitará ao meio acadêmico, mas alcançará a sociedade em geral.

Haverá uso de fontes secundárias de dados (prontuários, dados demográficos, etc)?

Sim.

Detalhamento:

Poderão ser incluídos no estudo pacientes com suspeita de HTLV encaminhados pelos serviços de Saúde, estes serão testados no contexto deste estudo e caso seja confirmada a infecção, seus dados de prontuários irão compor banco de dados dos mesmos

Objetivo da Pesquisa:

Descrever a frequência do HTLV_{1/2} e os aspectos epidemiológicos e comportamentais de risco para a exposição, e possíveis variantes moleculares e imunológicas para a patogênese, em diferentes estratos populacionais do estado do Maranhão.

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227 4º andar
Bairro: CENTRO **CEP:** 65.020-070
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)2109-1250 **Fax:** (98)2109-1002 **E-mail:** cep@huufma.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO - HU/UFMA



Continuação do Parecer: 6.878.783

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

De acordo com o pesquisador: A coleta do seu sangue será realizada com materiais descartáveis e estéreis. Geralmente, não há dor no local da coleta, mas pode ocorrer, sendo de intensidade limitada e por pouco tempo. Algumas complicações decorrentes da coleta de sangue podem ocorrer, como manchas roxas no local da coleta devido à retirada da agulha pelo profissional antes do garrote ou por perfuração da veia; alergia ao álcool a 70% usado para limpeza local ou contaminações devido à má limpeza feita; É assegurado o encaminhamento de todos os casos de infecção para acompanhamento com a equipe médica de cada estado participante do estudo; Será garantida, ao participante da pesquisa, a assistência integral gratuita devido a danos diretos/indiretos e imediatos ou tardios, pelo tempo que for necessário.

Benefícios:

Segundo o pesquisador: Este estudo poderá auxiliar nas tomadas de decisão por parte dos gestores da saúde, bem como na realização de ações mais efetivas de prevenção da transmissão do vírus.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo relevante que tem como objetivo descrever a frequência do HTLV 1/2 e os aspectos epidemiológicos e comportamentais de risco para a exposição, e possíveis variantes moleculares e imunológicas para a patogênese, em diferentes estratos populacionais do estado do Maranhão e poderá contribuir para auxiliar nas tomadas de decisão por parte dos gestores da saúde, bem como na realização de ações mais efetivas de prevenção da transmissão do vírus.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo apresenta documentos referente aos "Termos de Apresentação Obrigatória": Folha de rosto, Declaração de compromisso em anexar os resultados na plataforma Brasil garantindo o sigilo, Orçamento financeiro detalhado, Cronograma com etapas detalhada, Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), Autorização do Gestor responsável do local para a realização da coleta de dados e Projeto de Pesquisa Original na íntegra em Word. Atende à

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227 4º andar
Bairro: CENTRO **CEP:** 65.020-070
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)2109-1250 **Fax:** (98)2109-1002 **E-mail:** cep@huufma.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO - HU/UFMA



Continuação do Parecer: 6.878.783

Norma Operacional no 001/2013 (item 3/ 3.3). O protocolo apresenta ainda a declaração de responsabilidade financeira e termo de compromisso com a utilização dos dados resguardando o sigilo e a confidencialidade.

Recomendações:

Após o término da pesquisa o CEP-HUUFMA solicita que se possível os resultados do estudo sejam devolvidos aos participantes da pesquisa ou a instituição que autorizou a coleta de dados de forma anonimizada.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O PROTOCOLO não apresenta óbices éticos, portanto atende aos requisitos fundamentais da Resolução CNS/MS nº 466/12 e suas complementares. Sendo considerado APROVADO.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Comitê de Ética em Pesquisa, CEP-HUUFMA, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº.466/2012 e Norma Operacional nº. 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela APROVAÇÃO do projeto de pesquisa proposto.

Eventuais modificações ao protocolo devem ser inseridas à plataforma por meio de emendas de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Relatórios parcial e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente após a coleta de dados e ao término do estudo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2285608.pdf	28/05/2024 21:37:24		Aceito
Outros	CARTA_RESPOSTA_assinado.pdf	28/05/2024 21:35:06	VINICIOS OLEGARIO MESQUITA ARRAES	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA_DE_ATIVIDADES_ATUALIZADO.pdf	28/05/2024 21:33:42	VINICIOS OLEGARIO MESQUITA ARRAES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Assentimento_12_a_17_anos_Atualizado.pdf	28/05/2024 21:33:03	VINICIOS OLEGARIO MESQUITA ARRAES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	Termo_de_Assentimento_7_a_11_anos_Atualizado.pdf	28/05/2024 21:32:40	VINICIOS OLEGARIO	Aceito

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227 4º andar
Bairro: CENTRO **CEP:** 65.020-070
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)2109-1250 **Fax:** (98)2109-1002 **E-mail:** cep@huufma.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO - HU/UFMA



Continuação do Parecer: 6.878.783

Justificativa de Ausência	Termo_de_Assentimento_7_a_11_anos Atualizado.pdf	28/05/2024 21:32:40	MESQUITA ARRAES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_HTLV_Responsavel_Menor_Atualizado.pdf	28/05/2024 21:32:29	VINICIOS OLEGARIO MESQUITA ARRAES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_HTLV_ATUALIZADO.pdf	28/05/2024 21:31:54	VINICIOS OLEGARIO MESQUITA ARRAES	Aceito
Outros	TERMO_DE_ANUENCIA_LABGEM_assinado.pdf	23/04/2024 19:36:31	VINICIOS OLEGARIO MESQUITA ARRAES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.pdf	23/04/2024 19:34:14	VINICIOS OLEGARIO MESQUITA ARRAES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_DE_PESQUISA.pdf	18/03/2024 10:54:22	VINICIOS OLEGARIO MESQUITA ARRAES	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.pdf	18/03/2024 10:35:31	VINICIOS OLEGARIO MESQUITA ARRAES	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto.pdf	18/03/2024 10:28:39	VINICIOS OLEGARIO MESQUITA ARRAES	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO LUIS, 10 de Junho de 2024

Assinado por:
Camiliane Azevedo Ferreira
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227 4º andar
Bairro: CENTRO **CEP:** 65.020-070
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)2109-1250 **Fax:** (98)2109-1002 **E-mail:** cep@huufma.br