

## **O papel de genes virais na modulação da resposta imune de indivíduos infectados pelo HTLV-1 e no risco de desenvolvimento da HAM/TSP**

**Aluna:** Ana Carolina Marinho Monteiro Lima

**Orientadora:** Luciane Amorim Santos

### **RESUMO**

**Introdução:** O vírus linfotrópico das células T humanas do tipo 1 (HTLV-1) infecta cerca de 5-10 milhões de pessoas no mundo, aproximadamente 4% dessas pessoas desenvolvem a mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP), uma doença crônica inflamatória que afeta a medula espinhal. Ainda não estão elucidados quais são os fatores moleculares que levam ao desenvolvimento da doença. **Objetivo:** Investigar fatores genéticos virais e do hospedeiro associados ao desenvolvimento da HAM/TSP, em pessoas vivendo com HTLV-1. **Material e métodos:** Um estudo de corte transversal foi realizado para investigar a expressão de genes virais e genes do hospedeiro associados a resposta imune. Células mononucleares do sangue periférico de indivíduos com HTLV-1 foram isoladas para extração do DNA e RNA. Pelo método de RT-qPCR, foi quantificado o mRNA de cada gene alvo e a carga proviral (CPV) dos indivíduos participantes. Adicionalmente, uma revisão sistemática da literatura foi conduzida para identificar mutações no genoma do HTLV-1 associadas ao desenvolvimento da HAM/TSP. A busca foi realizada nos bancos de dados PubMed, Embase, LILACS e Scielo. Foram inclusos artigos originais em português e/ou inglês que abordassem mutações no genoma do HTLV-1 em amostras de indivíduos com HAM/TSP. Os artigos que não correlacionavam as mutações encontradas com dados clínicos foram excluídos. **Resultados:** A expressão de *tax* foi maior em indivíduos com HAM/TSP em comparação aos assintomáticos (AC). Ademais, a expressão de *hbz* e FOXp3 foi maior em indivíduos com CPV  $\geq 1,5\%$ , em relação àqueles com CPV  $< 1,5\%$ . Os participantes com alta CPV também exibiram um padrão de correlações fortes entre genes inflamatórios, não observado em indivíduos com baixa CPV. A revisão sistemática da literatura identificou doze mutações estatisticamente associadas ao desenvolvimento da HAM/TSP, localizadas em *hbz* (R119Q), *tax*

(A7959V), ORF-I (R88K, P86S, S69G, P45L, L40F, C39R, CR9Y) e *env* (V247I, N93D, S72G). **Conclusões:** A presença de mutações em HBZ e Tax, juntamente com as alterações na expressão desses genes relacionadas à CPV e à HAM/TSP, destaca o papel central de ambas nos mecanismos moleculares da infecção pelo HTLV-1. Compreender as vias que levam às diferenças na expressão desses genes entre AC e HAM/TSP, bem como entre diferentes níveis de CPV, é crucial para elucidar os processos que contribuem para a patogênese da HAM/TSP.

**Palavras-chaves:** HTLV-1; HAM/TSP; carga proviral; Tax; HBZ.

## ***The role of viral genes in modulating the immune response of individuals infected with HTLV-1 and the risk of developing HAM/TSP***

### **SUMMARY**

**Background:** Human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) infects approximately 5–10 million people worldwide, and around 4% of these individuals develop HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP), a chronic inflammatory disease that affects the spinal cord. The molecular factors that lead to disease development remain unclear. **Objective:** To investigate viral and host genetic factors associated with the development of HAM/TSP in individuals living with HTLV-1. **Materials and Methods:** A cross-sectional study was conducted to investigate the expression of viral and host immune response genes. Peripheral blood mononuclear cells from HTLV-1-infected individuals were isolated for DNA and RNA extraction. Using the qPCR method, the mRNA of each target gene and the proviral load (PVL) of participants were quantified. Additionally, a systematic literature review was conducted to identify mutations in the HTLV-1 genome associated with HAM/TSP development. Searches were performed in the PubMed, Embase, LILACS, and Scielo databases. Original articles in Portuguese and/or English that addressed HTLV-1 genome mutations in samples from individuals with HAM/TSP were included. Articles that did not correlate the identified mutations with clinical data were excluded. **Results:** The expression of tax was higher in individuals with HAM/TSP compared to asymptomatic carriers (AC). Additionally, the expression of hbx and FOXp3 was higher in individuals with  $PVL \geq 1.5\%$  compared to those with  $PVL < 1.5\%$ . Participants with high PVL also exhibited a pattern of strong correlations between inflammatory genes, which was not observed in individuals with low PVL. The systematic literature review identified twelve mutations statistically associated with HAM/TSP development, located in hbx (R119Q), tax (A7959V), ORF-I (R88K, P86S, S69G, P45L, L40F, C39R, CR9Y), and env (V247I, N93D, S72G). **Conclusions:** The presence of mutations in HBZ and Tax, along with expression changes in these genes associated with PVL and HAM/TSP, highlights their central role in the molecular mechanisms of HTLV-1 infection. Understanding the pathways leading to differences in the expression of these genes between AC

*and HAM/TSP, as well as across different PVL levels, is crucial for elucidating the processes contributing to HAM/TSP pathogenesis.*

**Keywords:** HTLV-1; HAM/TSP; proviral load; Tax; HBZ.

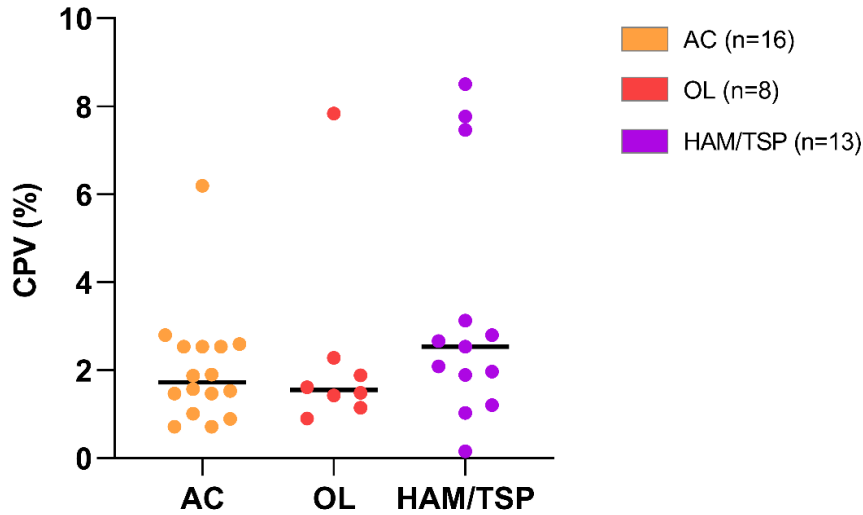
## Seção 1 – O papel de HBZ e Tax na modulação da resposta imune de indivíduos infectados pelo HTLV-1

**Tabela 1.** Caracterização da população inclusa neste estudo.

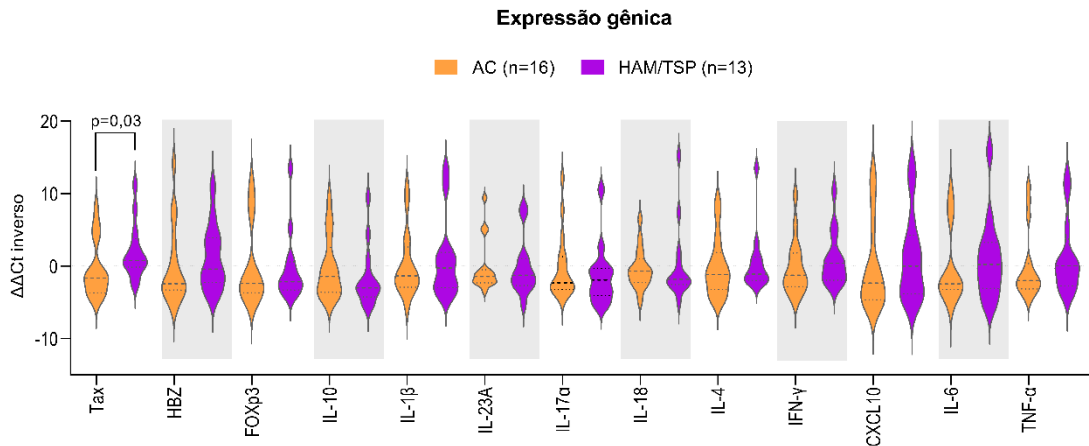
<b>Características</b>	<b>Total (n=37)</b>	<b>AC (n=16)</b>	<b>OL (n=8)</b>	<b>HAM/TSP (n=13)</b>	<b>Valor de p</b>
<b>Sexo (n, %)</b>					0,97
<b>Feminino</b>	32 (86,5)	14 (87,5)	7 (87,5)	11 (84,6)	
<b>Masculino</b>	5 (13,5)	2 (12,5)	1 (12,5)	2 (15,4)	
<b>Idade (anos, mediana)</b>	58 (45 - 66)	54 (41 - 63)	60 (48 - 69)	58 (42 - 65)	0,57
<b>Cor (n, %)</b>					0,08
<b>Pardo</b>	19 (51,4)	6 (37,5)	3 (37,5)	10 (76,9)	
<b>Negro</b>	14 (37,8)	8 (50)	3 (37,5)	3 (23,1)	
<b>Branco</b>	4 (10,8)	2 (12,5)	2 (25)	0 (0)	
<b>CPV (% mediana)</b>	1,89 (1,31 - 2,62)	1,72 (1,12 - 2,54)	1,55 (1,21 - 2,18)	2,53 (1,55 - 5,29)	0,21

As variáveis quantitativas foram representadas pela mediana (intervalo interquartil). A CPV foi mensurada em cópias de DNA viral/100 células. Para as variáveis sexo e cor foi aplicado o teste de Chi-quadrado e para as variáveis Idade e CPV foi aplicado o teste Kruskal-Wallis. AC: assintomáticos; CPV: carga proviral; HAM/TSP: mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical; OL: oligossintomáticos.

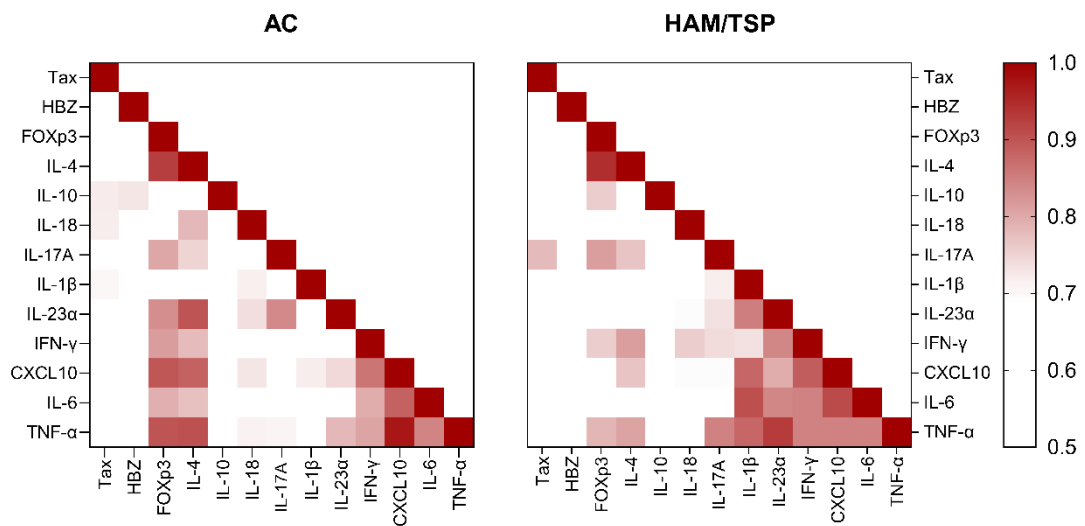
### Distribuição da CPV em indivíduos infectados pelo HTLV-1



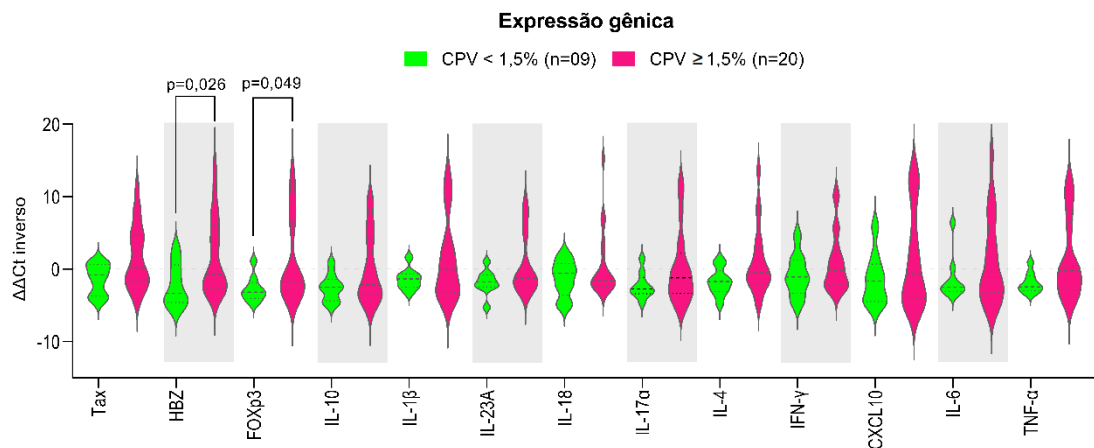
**Figura 1.** Distribuição da carga proviral de indivíduos infectados pelo HTLV-1. A CPV foi mensurada em cópias de DNA viral/100 células. AC: assintomático; OL: oligossintomático; HAM/TSP: mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical; CPV: carga proviral; HTLV-1: vírus linfotrófico das células T humanas do tipo 1.



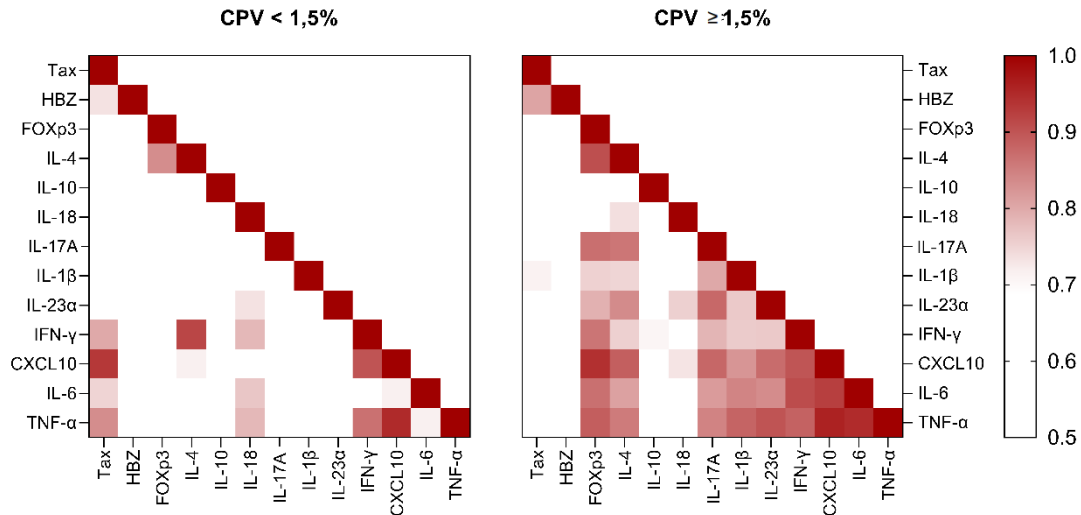
**Figura 2.** Expressão dos genes virais *tax* e *hbz* e de genes associados a resposta imune em indivíduos infectados pelo HTLV-1 AC e com HAM/TSP. O  $\Delta\Delta Ct$  inverso representa a normalização do valor de Ct pela expressão do gene endógeno GAPDH e pela média do grupo AC, por fim o valor obtido é multiplicado por -1 para auxiliar na interpretação gráfica. O teste t de Mann-Whitney foi aplicado para observar as diferenças entre os grupos. AC: assintomático; HAM/TSP: mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical; Ct: cycle treshold.



**Figura 3.** Matriz de correlação da expressão de genes virais e de genes associados a resposta imune em indivíduos infectados pelo HTLV-1 com HAM/TSP e AC. Estão demonstrados neste mapa de calor os valores de  $r$  obtidos no teste de Correlação de Spearman, com  $r \geq 0,7$  e  $p \leq 0,05$ . PLWHTLV: pessoas vivendo com HTLV; AC: assintomático; HAM/TSP: mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical.

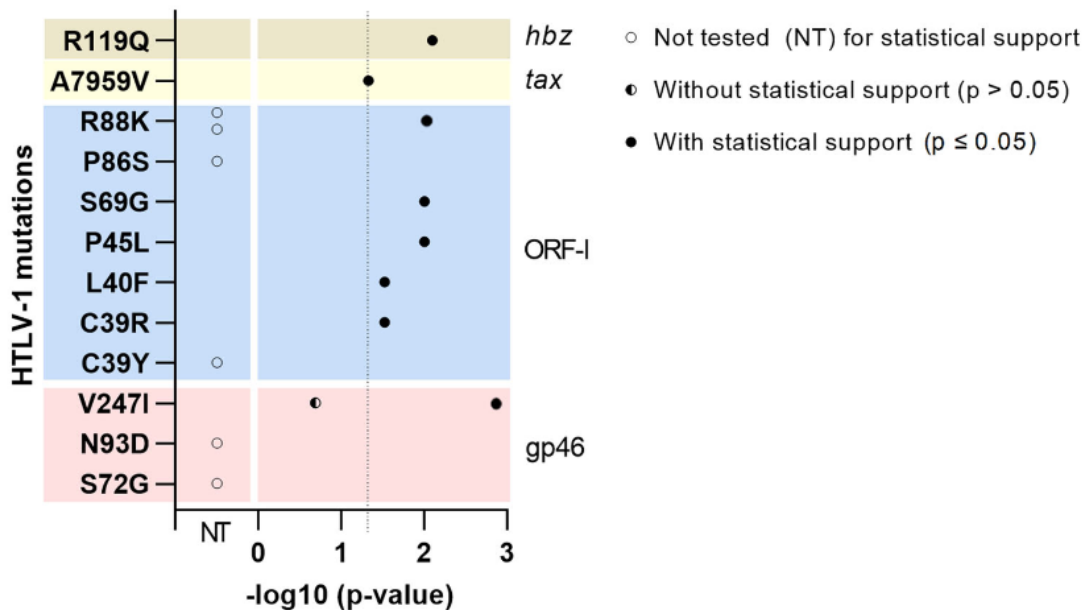


**Figura 4.** Expressão dos genes virais *tax* e *hbz* e de genes associados a resposta imune em indivíduos infectados pelo HTLV-1 estratificado por carga proviral. A CPV foi mensurada em cópias de DNA viral/100 células. O  $\Delta\Delta Ct$  inverso representa a normalização do valor de Ct pela expressão do gene endógeno GAPDH e pela média do grupo AC, por fim o valor obtido é multiplicado por -1 para auxiliar na interpretação gráfica. O teste t de Mann-Whitney foi aplicado para observar as diferenças entre os grupos. CPV: carga proviral; Ct: cycle threshold.



**Figura 5.** Matriz de correlação da expressão de genes virais e de genes associados a resposta imune em indivíduos infectados pelo HTLV-1 estratificados por CPV. A CPV foi mensurada em cópias de DNA viral/100 células. Estão demonstrados neste mapa de calor os valores de  $r$  obtidos no teste de Correlação de Spearman, com  $r \geq 0,7$  e  $p \leq 0,05$ . CPV: carga proviral.

## Seção 2 – Mutações no genoma do HTLV-1 associadas ao desenvolvimento da HAM/TSP: uma revisão sistemática



**Figura 1.** Mutações associadas ao desenvolvimento da HAM/TSP.