UNIVERSIDADE DO ESTADO DO PARÁ
INSTITUTO EVANDRO CHAGAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA PARASITÁRIA NA AMAZÔNIA

ANÁLISE COMPARATIVA DAS PROPRIEDADES BIOQUÍMICAS E IMUNOLÓGICAS DA PROTEÍNA DE FUSÃO DOS VÍRUS LINFOTRÓPICOS DE CÉLULAS T HUMANAS

MATEUS ALMEIDA CASTRO

Belém/PA
2025

MATEUS ALMEIDA CASTRO

ANÁLISE COMPARATIVA DAS PROPRIEDADES BIOQUÍMICAS E IMUNOLÓGICAS DA PROTEÍNA DE FUSÃO DOS VÍRUS LINFOTRÓPICOS DE CÉLULAS T HUMANAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária na Amazônia (PPGBPA), da Universidade do Estado do Pará (UEPA) em parceria com o Instituto Evandro Chagas (IEC), como requisito necessário para obtenção do título de mestre.

Linha de pesquisa: Morfofisiologia e Genética de Agentes Infecciosos, Parasitários e Vetores de Endemias na Amazônia.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Marques de Carvalho.

Belém/PA
2025

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UEPA / SIBIUEPA

Castro, Mateus Almeida

Análise comparativa das propriedades bioquímicas e imunológicas da proteína de fusão dos vírus linfotrópicos de células T humanas / Mateus Almeida Castro. – Belém: UEPA, 2025.

125f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Marques de Carvalho

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Pará, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-graduação em Biologia Parasitária na Amazônia, Belém, 2025.

1. Biologia Computacional. 2. Proteínas Virais de Fusão. 3. Deltaretrovirus. I. Universidade do Estado do Pará. II. Título.

CDD 22.ed. 616.01

Elaborada por Josicléia Garcia Vieira - CRB-2 /562

MATEUS ALMEIDA CASTRO

ANÁLISE COMPARATIVA DAS PROPRIEDADES BIOQUÍMICAS E IMUNOLÓGICAS DA PROTEÍNA DE FUSÃO DOS VÍRUS LINFOTRÓPICOS DE CÉLULAS T HUMANAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária na Amazônia (PPGBPA), da Universidade do Estado do Pará (UEPA) em parceria com o Instituto Evandro Chagas (IEC), como requisito necessário para obtenção do título de mestre.

Orientador:	Prof. Dr. Carlos Alberto Marques de Carvalho Universidade do Estado do Pará (UEPA), Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS).
Banca examinadora:	Profa. Dra. Patrícia Danielle Lima de Lima Universidade do Estado do Pará (UEPA), Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS).
	Prof. Dr. Leonardo Quintão Siravenha Universidade do Estado do Pará (UEPA), Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS).
	Profa. Dra. Maria Alice Freitas Queiroz Universidade Federal do Pará (UFPA), Instituto de Ciências Biológicas (ICB).
	Prof. Dr. Jorge Rodrigues de Sousa Universidade do Estado do Pará (UEPA), Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS).

Belém/PA

2025

EPÍGRAFE

"E repousará sobre ele o Espírito do Senhor, o espírito de sabedoria e de inteligência, o espírito de conselho e de fortaleza, o espírito de conhecimento e de temor do Senhor."

(Isaías 11:2)

DEDICATÓRIA

A Deus e aos meus pais, Valdecir Veloso Castro e Vilma Almeida Castro.

AGRADECIMENTOS

A Deus, o eterno criador, por me conceder a dádiva da vida e por me sustentar diante das minhas necessidades e dificuldades, inspirando-me sempre no caminho da esperança, decência e bem-aventurança.

Aos meus pais, Valdecir Veloso Castro e Vilma Almeida Castro, por sempre me apoiarem na realização dos meus objetivos acadêmico-profissionais e por me incentivarem a nunca desanimar perante os dilemas da vida, oferecendo amor, carinho e conselhos nos momentos em que precisei.

Ao professor e orientador, Dr. Carlos Alberto Marques de Carvalho, pela disposição em me auxiliar no desenvolvimento deste projeto de pesquisa e pelos valiosos ensinamentos oferecidos a mim. Guardarei imensa gratidão por todo o seu apoio.

Às minhas avós, Izaurina Modesto da Silva Almeida e Sidney Veloso Castro, pelo carinho, amparo e orientação concedidos a mim, e por sempre acreditarem na minha capacidade de alcançar o sucesso pleno ao longo da trajetória acadêmico-profissional.

Aos amigos de Pós-Graduação, em especial Fernanda Eduarda das Neves Martins e João Vitor dos Santos Benjamin, pelo companheirismo e pelo auxílio prestado nos momentos em que precisei.

À secretaria do Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária na Amazônia pelo apoio na disponibilização de informações referentes aos preceitos internos do programa e por sempre atender minhas solicitações quanto à concretização das demandas burocráticas.

A todos que, direta ou indiretamente, foram uma bênção de Deus na prestação de apoio nesta importante etapa da minha vida. Obrigado!

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS 10
LISTA DE FIGURAS 13
LISTA DE TABELAS 14
LISTA DE QUADROS 15
RESUMO 16
ABSTRACT 17
1. INTRODUÇÃO 18
1.1. HISTÓRICO 18
1.2. CARACTERÍSTICAS GERAIS DO HTLV-1/2 22
1.2.1. Classificação e taxonomia 22
1.2.2. Estrutura da partícula viral 23
1.2.3. Organização genômica e proteínas codificadas 24
1.2.4. Ciclo de replicação viral 31
1.2.5. Transferência de partículas virais entre células 34
1.2.6. Transmissão, fatores de risco e prevenção 38
1.3. HETEROGENEIDADE GENÉTICA DO HTLV-1/2 41
1.4. ASPECTOS IMUNOPATOLÓGICOS E CLÍNICOS ASSOCIADOS À INFECÇÃO PELO HTLV-1 E PELO HTLV-2 42
1.5. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA INFECÇÃO PELO HTLV-1/2 48
1.6. TRATAMENTO DA INFECÇÃO PELO HTLV-1/2 50
1.7. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA INFECÇÃO PELO HTLV-1/2 50
1.8. ATIVIDADE DOS ANTÍGENOS LEUCOCITÁRIOS HUMANOS DE CLASSES I E II NAS INFECÇÕES VIRAIS 53
1.9. RELEVÂNCIA DA BIOINFORMÁTICA EM PESQUISAS ENVOLVENDO ANÁLISES DE PROTEÍNAS VIRAIS 56
2. OBJETIVOS 58
2.1. OBJETIVO GERAL 58
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 58
3. MATERIAL E MÉTODOS 59
3.1. TIPO DE ESTUDO E ASPECTOS ÉTICOS 59
3.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO 59
3.3. COLETA, PROCESSAMENTO E ANÁLISE DE DADOS 59
3.3.1. Obtenção das sequências aminoacídicas da proteína gp21 59

3.3.2. Alinhamento múltiplo das sequências aminoacídicas da proteína gp21 60

3.3.3. Determinação do peso molecular, da carga líquida, do ponto isoelétrico e das polaridades residuais da proteína gp21..... 61

3.3.4. Predição de estruturas secundárias da proteína gp21 61

3.3.5. Identificação de potenciais sítios de modificações pós-traducionais da proteína gp21 62

3.3.6. Avaliação da antigenicidade por parâmetros de hidrofilicidade, acessibilidade e flexibilidade da proteína gp21..... 62

3.3.7. Verificação da afinidade de ligação aos HLA-I/II de peptídeos derivados da proteína gp21 63

3.3.8. Tabulação e plotagem dos dados 63

4. RESULTADOS 64

5. DISCUSSÃO 72

6. CONCLUSÃO..... 77

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 78

FONTES DE FINANCIAMENTO 93

ANEXO 1..... 94

ANEXO 2..... 95

ANEXO 3..... 96

ANEXO 4..... ...102

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
ANOVA	Análise de Variância
AP-1	Activator Protein 1
APC	Antigen-presenting Cell
ATLL	Adult T-cell Leukemia/Lymphoma
ATLV	Adult T-cell Leukemia Virus
β2M	Beta-2-microglobulina
bZIP	Basic Leucine Zipper
CLIA	Chemioluminescent Immunoassay
CNS	Conselho Nacional de Saúde
DC	Dendritic Cells
DNA	Deoxyribonucleic Acid
dsDNA	DNA de fita dupla
ECM	Extracellular Matrix
EIA	Enzyme Immunoassay
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ER	Endoplasmic Reticulum
ERV	Endogenous Retroviruses
GLUT-1	Glucose Transporter Type 1
GM-CSF	Granulocyte-macrophage Colony-stimulating Factor
HAID	HTLV-1-Associated Infectious Dermatitis
HAM	HTLV-1 Associated Myelopathy
HBZ	HTLV-1 Basic Leucine Zipper Factor
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HLA	Human Leukocyte Antigen
HLA-I	Human Leukocyte Antigen Class I
HLA-II	Human Leukocyte Antigen Class II
HR	Heptad Repeat
HSPG	Proteoglicanos de Sulfato de Heparina
HTLV	Human T-cell Lymphotropic Virus
HTLV-1	Human T-cell Lymphotropic Virus Type 1
HTLV-2	Human T-cell Lymphotropic Virus Type 2

HTLV-1/2	Human T-cell Lymphotropic Virus Types 1 and 2
HTLV-3	Human T-cell Lymphotropic Virus Type 3
HTLV-4	Human T-cell Lymphotropic Virus Type 4
HU	HTLV-1 Uveitis
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule 1
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses
IDU	Intravenous Drug Users
IgE	Imunoglobulina E
IL	Interleucina
IN	Integrase
IRF	Interferon Regulatory Factor
IST	Infecções Sexualmente Transmissíveis
JAK/STAT	Janus Kinase/ Signal Transducer And Activator Of Transcription
kDa	Quilodalton
LAMP	Loop-Mediated Isothermal Amplification
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
LFA-1	Lymphocyte Function-associated Antigen 1
LIA	Line Immunoassay
LTR	Long Terminal Repeats
mRNA	Messenger Ribonucleic Acid
MTOC	Microtubule-Organizing Center
NFAT	Nuclear Factor of Activated T Cells
NF-κB	Nuclear Factor kappa B
NHP	Non-human Primates
NLS	Nuclear Localization Signal
nPCR	Nested Polymerase Chain Reaction
NPS@	Network Protein Sequence @nalysis
NRP-1	Neuropilin 1
nt	Nucleotídeos
ORF	Open Reading Frames
PA	Particle Agglutination
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cells
PCR	Polymerase Chain Reaction

PCR-RFLP	Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism
pH	Potencial Hidrogeniônico
pI	Ponto Isoelétrico
PKC	Proteína-cinase C
PR	Protease
Proteína gp21	Glicoproteína Transmembrana
Proteína gp46	Glicoproteína de Superfície
Proteína gp62	Glicoproteína Precursora de Envelope
Proteína p15	Proteína do Nucleocapsídeo
Proteína p19	Proteína da Matriz Viral
Proteína p24	Proteína do Capsídeo
PTLV	Primate T-cell Lymphotropic Viruses
PVL	Proviral Load
qPCR	Real-Time Polymerase Chain Reaction
RefSeq	Sequência de Referência
RNA	Ribonucleic Acid
RNH	Ribonuclease H
ROS	Reactive Oxygen Species
RSV	Rous Sarcoma Virus
RT	Reverse Transcriptase
SisGen	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
SRF	Serum Response Factor
$ssRNA^+$	RNA de fita simples de senso positivo
STLV	Simian T-cell Lymphotropic Virus
STLV-1	Simian T-cell Lymphotropic Virus type 1
SUS	Sistema Único de Saúde
TCR	T-cell Receptor
TGF	Transforming Growth Factor
TMD	Transmembrane Domain
TNF-α	Tumour Necrosis Factor α
WB	Western blotting
ZIP	Leucine Zipper

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação das possíveis rotas intercontinentais do HTLV-1 e do HTLV-2 no contexto dos antigos fluxos migratórios humanos. 22
Figura 2 – Representação da estrutura das partículas imaturas e maduras do HTLV-1/2. 24
Figura 3 – Representação esquemática do genoma do HTLV-1 e do HTLV-2. 24
Figura 4 – Representação da estrutura tridimensional de um trímero da proteína gp21 do HTLV-1/2. 27
Figura 5 – Representação da atividade de uma proteína de fusão viral de classe I. 32
Figura 6 – Representação esquemática do ciclo de replicação do HTLV-1/2. 34
Figura 7 – Representação esquemática do brotamento polarizado de vírions mediante sinapse virológica. 36
Figura 8 – Representação esquemática de transferência de biofilmes virais entre células. 37
Figura 9 – Representação esquemática da transferência de vírions via condutos celulares. 37
Figura 10 – Representação esquemática da transferência de partículas virais via DC. 38
Figura 11 – Fluxograma de testes laboratoriais recomendados para o diagnóstico da infecção pelo HTLV-1/2. 49
Figura 12 – Representação esquemática dos loci HLA-I/II no braço curto do cromossomo humano 6. 54
Figura 13 – Representação esquemática dos componentes estruturais das moléculas de HLA-I e de HLA-II. 54
Figura 14 – Representação esquemática da dinâmica de processamento da associação peptídeo-HLA-I/II. 56
Figura 15 – Alinhamento múltiplo da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2. 64
Figura 16 – Polaridades residuais da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2. 65
Figura 17 – Estruturas secundárias preditas da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2. 66
Figura 18 – Potencial de modificações pós-traducionais da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 67
Figura 19 – Antigenicidade da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 a partir da convolução das variáveis de hidrofilicidade, flexibilidade e acessibilidade (H/F/A). 68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Afinidade de ligação predita de peptídeos derivados da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 aos alelos mais frequentes do HLA-I. 69
Tabela 2 – Afinidade de ligação predita de peptídeos derivados da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 aos alelos mais frequentes do HLA-II. 70
Tabela 3 – Afinidade de ligação predita de peptídeos derivados da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-2 aos alelos mais frequentes do HLA-I. 71
Tabela 4 – Afinidade de ligação predita de peptídeos derivados da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-2 aos alelos mais frequentes do HLA-II. 71

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Descrição de regiões gênicas presentes no HTLV-1/2 e no HTLV-2, proteínas codificadas nessas regiões e funções das proteínas. 25
Quadro 2 – Proteínas codificadas na região pX do HTLV-1 e do HTLV-2 e suas funções. ... 28

RESUMO

O vírus linfotrópico de células T humanas dos tipos 1 e 2 (HTLV-1/2), membro do gênero *Deltaretrovirus*, possui importante presença em populações humanas da Amazônia brasileira, especialmente em comunidades indígenas. Considera-se que o HTLV-1 é mais patogênico por ter associação com doenças graves, como a mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM), enquanto o HTLV-2 está relacionado a distúrbios neurológicos leves. Análises em Biologia Computacional acerca das propriedades estruturais e funcionais da proteína gp21 – que viabiliza a entrada do HTLV-1/2 nas células hospedeiras – permitem caracterizar particularidades desta macromolécula viral que podem auxiliar na elucidação da virulência diferenciada entre o HTLV-1 e o HTLV-2. O presente estudo teve como objetivo analisar, de forma comparativa, as propriedades bioquímicas e imunológicas da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2. As sequências de referência (RefSeq) da proteína gp21 do HTLV-1/2 foram extraídas do banco de dados NCBI Virus em formato FASTA e submetidas às ferramentas computacionais Clustal Omega, PEPSTATS, PREDATOR, PROSCAN, PCPROF e TepiTool para que fosse possível efetuar as seguintes etapas, respectivamente: realização do alinhamento múltiplo para estimativa do nível de identidade percentual e para detecção de substituições aminoacídicas/inserções/deleções; determinação do peso molecular, carga líquida, ponto isoelétrico e propriedades residuais; predição de estruturas secundárias; identificação de potenciais modificações pós-traducionais; avaliação de antigenicidade a partir da hidrofilicidade, acessibilidade e flexibilidade; e verificação da afinidade de ligação de peptídeos aos antígenos leucocitários humanos de classes I e II (HLA-I/II). Por meio do alinhamento das sequências, observou-se um nível de identidade aminoacídica de 80,68%, com a ocorrência de várias substituições de caráter conservativo, além de raras regiões com substituições semiconservativas e não conservativas, além de *gaps* (inserções/deleções). Os valores encontrados para o peso molecular, carga líquida e ponto isoelétrico da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2, respectivamente, foram: 19,35 e 19,58 kDa; 7,5 e 5,0; e 9,29 e 8,52. Ademais, a proteína gp21 apresentou um predomínio de aminoácidos apolares (~60%) em ambos os tipos de HTLV. Entre os aminoácidos polares, notou-se um menor quantitativo de aminoácidos neutros e um maior de aminoácidos básicos no HTLV-1 (~22% e ~12%, respectivamente) em relação ao HTLV-2 (~24% e ~10%, respectivamente). Em relação ao conteúdo de estruturas secundárias preditas, a proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 apresentou mais alfa-hélices do que folhas-beta, porém parte significativa da sua cadeia polipeptídica continha regiões aleatoriamente enoveladas. Quanto às modificações pós-traducionais, constatou-se que a proteína gp21 do HTLV-1 apresentou menos N-miristoilações do que aquela do HTLV-2, mas ambas obtiveram potencial equivalente para N-glicosilação e para fosforilação por proteína-cinase C (PKC). Na proteína gp21 do HTLV-1, a confluência dos parâmetros de hidrofilicidade, acessibilidade e flexibilidade proporcionou maior antigenicidade em torno dos aminoácidos Asn66/Leu107, enquanto, no HTLV-2, notou-se uma maior antigenicidade em torno dos aminoácidos Asn66/His166. Por fim, evidenciou-se que os peptídeos derivados dos resíduos 90-98 e 151-165 da proteína gp21 do HTLV-1 apresentaram as melhores afinidades de ligação aos alelos HLA-A*02:03 e HLA-DRB5*01:01, com percentis de 0,12 e 0,13, respectivamente; e, naquela do HTLV-2, os peptídeos derivados dos resíduos 90-98 e 132-146 tiveram as melhores afinidades de ligação aos alelos HLA-A*02:03 e HLA-DPA1*03:01/DPB1*04:02, com percentis de 0,12 e 0,24, respectivamente. Embora apresentem substancial semelhança, as sequências de aminoácidos da proteína gp21 dos HTLV-1 e HTLV-2 exibem diferenças estruturais e funcionais relevantes, sendo alvos promissores para pesquisas voltadas ao desenvolvimento de imunógenos e terapias antirretrovirais.

Palavras-chave: Biologia Computacional. Proteínas Virais de Fusão. Deltaretrovirus.

ABSTRACT

Human T-cell lymphotropic virus types 1 and 2 (HTLV-1/2), a member of the *Deltaretrovirus* genus, is present in significant numbers in human populations in the Brazilian Amazon, especially in indigenous communities. HTLV-1 is considered more pathogenic because it is associated with serious diseases, such as HTLV-1-associated myelopathy (HAM), while HTLV-2 is related to mild neurological disorders. Computational Biology analyses of the structural and functional properties of the gp21 protein – which enables the entry of HTLV-1/2 into host cells – allow us to characterize particularities of this viral macromolecule that may help elucidate the differential virulence between HTLV-1 and HTLV-2. The present study aimed to analyze, in a comparative manner, the biochemical and immunological properties of the gp21 protein of HTLV-1 and HTLV-2. The reference sequences (RefSeq) of the gp21 protein of HTLV-1/2 were extracted from the NCBI Virus database in FASTA format and submitted to the computational tools Clustal Omega, PEPSTATS, PREDATOR, PROSCAN, PCPROF and TepiTool so that it was possible to perform the following steps, respectively: multiple alignment to estimate the percentage identity level and to detect amino acid substitutions/insertions/deletions; determination of molecular weight, net charge, isoelectric point and residual properties; prediction of secondary structures; identification of potential post-translational modifications; assessment of antigenicity based on hydrophilicity, accessibility and flexibility; and verification of peptide binding affinity to human leukocyte antigens classes I and II (HLA-I/II). Through sequence alignment, an amino acid identity level of 80.68% was observed, with the occurrence of several conservative substitutions, in addition to rare regions with semiconservative and nonconservative substitutions, in addition to gaps (insertions/deletions). The values found for the molecular weight, net charge and isoelectric point of the gp21 protein of HTLV-1 and HTLV-2, respectively, were: 19.35 and 19.58 kDa; 7.5 and 5.0; and 9.29 and 8.52. Furthermore, the gp21 protein presented a predominance of nonpolar amino acids (~60%) in both HTLV types. Among the polar amino acids, a lower quantity of neutral amino acids and a higher quantity of basic amino acids were observed in HTLV-1 (~22% and ~12%, respectively) compared to HTLV-2 (~24% and ~10%, respectively). Regarding the content of predicted secondary structures, the gp21 protein of HTLV-1 and HTLV-2 presented more alpha-helices than beta-sheets, but a significant part of its polypeptide chain contained randomly coiled regions. Regarding post-translational modifications, it was observed that the gp21 protein of HTLV-1 presented less N-myristoylations than that of HTLV-2, but both obtained equivalent potential for N-glycosylation and for phosphorylation by protein kinase C (PKC). In the HTLV-1 gp21 protein, the confluence of hydrophilicity, accessibility and flexibility parameters provided greater antigenicity around the amino acids Asn66/Leu107, while in HTLV-2, greater antigenicity was observed around the amino acids Asn66/His166. Finally, it was shown that the peptides derived from residues 90-98 and 151-165 of the HTLV-1 gp21 protein presented the best binding affinities to the HLA-A*02:03 and HLA-DRB5*01:01 alleles, with percentiles of 0.12 and 0.13, respectively; and, in that of HTLV-2, peptides derived from residues 90-98 and 132-146 had the best binding affinities to the HLA-A*02:03 and HLA-DPA1*03:01/DPB1*04:02 alleles, with percentiles of 0.12 and 0.24, respectively. Although they present substantial similarity, the amino acid sequences of the gp21 protein of HTLV-1 and HTLV-2 exhibit relevant structural and functional differences, being promising targets for research aimed at the development of immunogens and antiretroviral therapies.

Keywords: Computational Biology. Viral Fusion Proteins. Deltaretrovirus.

1. INTRODUÇÃO

1.1. HISTÓRICO

Os retrovírus constituem uma família de vírus cuja replicação demanda o processo de transcrição reversa, que é a capacidade de transcrição de ácido ribonucleico (RNA, do inglês *ribonucleic acid*) desses vírus em ácido desoxirribonucleico (DNA, do inglês *deoxyribonucleic acid*) viral por meio da ação da enzima transcriptase reversa (RT, do inglês *reverse transcriptase*), com a consequente integração do DNA viral sintetizado ao genoma das células de um hospedeiro vertebrado, sobretudo células somáticas. Essas sequências genômicas de retrovírus exógenos, quando integradas ao DNA de células germinativas de vertebrados e transmitidas verticalmente ao longo das gerações, são chamadas de retrovírus endógenos (ERV, do inglês *endogenous retroviruses*), cuja descoberta remonta à década de 1960 (Zheng; Wei; Han, 2022).

Sugere-se que os retrovírus tenham surgido durante a evolução inicial dos vertebrados, por volta de 450 milhões de anos atrás (Zheng; Wei; Han, 2022). Sabe-se que uma ampla variedade de seres vertebrados possui ERV inseridos nos seus genomas, sendo registros de antigas infecções causadas pelos retrovírus durante o processo evolutivo desses animais. Curiosamente, os ERV constituem cerca de 8% do genoma humano, representando remanescentes de infecções retrovirais ancestrais (Griffiths, 2001; Kanda; Tristem; Coulson, 2013; Weiss, 2013).

Em 1911, a partir da obtenção de filtrados oriundos de tumores de galinhas doentes e da injeção desses filtrados em galinhas saudáveis, o médico estadunidense Peyton Rous evidenciou a transmissão de agentes filtráveis indutores de sarcoma entre as aves analisadas, descartando a possibilidade desses agentes serem células, dado que os extratos de tumor produzidos eram preparados em filtros muito finos que restringiam a passagem de células. Posteriormente, constatou-se que os agentes filtráveis obtidos por Rous eram retrovírus, sendo denominados vírus do sarcoma de Rous (RSV, do inglês *Rous sarcoma virus*) (Weiss; Vogt, 2011; Esau, 2017).

Apesar da rejeição de parte da comunidade científica na época, o experimento de Rous marcou o início do entendimento de que possíveis vírus, principalmente os retrovírus, poderiam ser agentes causadores de câncer. Em meados do século XX, a teoria da existência de vírus oncogênicos começou a ser amplamente aceita pela comunidade científica a partir de novas constatações em experimentos envolvendo outros animais (Esau, 2017). Em 1966, Rous conquistou o Prêmio Nobel devido às suas pesquisas pioneiras terem não só possibilitado a

descoberta do RSV, o primeiro retrovírus oncogênico identificado, mas também fundamentado a associação entre a infecção causada por esse oncovírus e o desenvolvimento de neoplasias em animais (Weiss; Vogt, 2011).

No ano de 1970, a descoberta da enzima RT em retrovírus isolados de animais foi um importante passo que possibilitou identificar retrovírus humanos nos anos seguintes, como os diferentes tipos de vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV, do inglês *human T-cell lymphotropic virus*), haja vista que ainda não havia registros de retrovírus infectando humanos (Gallo, 2005). O primeiro retrovírus humano, isto é, o vírus linfotrópico de células T humanas do tipo 1 (HTLV-1, do inglês *human T-cell lymphotropic virus type 1*), foi descoberto em 1979, nos Estados Unidos, e divulgado posteriormente, em 1980, sendo isolado inicialmente a partir de linfócitos provenientes do sangue periférico de um paciente afro-americano com um quadro grave de linfoma cutâneo de células T (Poiesz *et al*., 1980).

Anteriormente, em 1977, na população de Kyushu, uma ilha do sudoeste do Japão, foram descritos casos de um tipo de malignidade hematológica aguda que afetava especialmente indivíduos adultos e que não havia sido ainda registrada na literatura científica: a leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL, do inglês *adult T-cell leukemia/lymphoma*). Mais tarde, a partir da linhagem celular de um paciente com ATLL, ocorreu o isolamento de um agente viral denominado vírus da leucemia de células T do adulto (ATLV, do inglês *adult T-cell leukemia virus*) (Uchiyama *et al*., 1977; Hinuma *et al*., 1981).

Através de ensaios moleculares, verificou-se que o HTLV-1 e o ATLV eram o mesmo vírus e, em seguida, estabeleceu-se que a infecção causada pelo HTLV-1 estava associada à ATLL (Popovic *et al*., 1982; Gallo; Sliski; Wong-Staal, 1983). Alguns indícios foram decisivos para estabelecer a associação entre o HTLV-1 e a ATLL, como a verificação de que pacientes com ATLL apresentavam anticorpos contra o HTLV-1, a correspondência entre elevada incidência de casos de ATLL e a significativa concentração de casos de infecção pelo HTLV-1 nas mesmas áreas estudadas, a imortalização de células T humanas *in vitro* após a infecção pelo HTLV-1 e a integração de DNA do HTLV-1 no genoma de indivíduos com ATLL (Takatsuki, 2005).

A descoberta do HTLV-1 e a associação entre a infecção causada por esse retrovírus e o desenvolvimento da ATLL influenciaram, de forma significativa, os primeiros estudos investigativos sobre a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS, do inglês *acquired immunodeficiency syndrome*), cujo reconhecimento clínico ocorreu no início da década de 1980

a partir do surgimento de casos de sarcoma de Kaposi e pneumonia causada por fungos do gênero *Pneumocystis* em indivíduos declaradamente homossexuais (Esau, 2017).

Além da ATLL, em meados da década de 1980, a partir da realização de exames sorológicos e de investigações epidemiológicas, a infecção pelo HTLV-1 também foi associada a um quadro neurológico que proporcionava dificuldade de locomoção em indivíduos afetados: a mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM, do inglês *HTLV-1-associated myelopathy*) (Gessain *et al*., 1985; Osame *et al*., 1986). Através de novos estudos investigativos, descobriu-se que a infecção pelo HTLV-1 também estava associada a outras enfermidades, além de influenciar a ocorrência de outras infecções (Alvarez *et al*., 2016).

No ano de 1982, ocorreu a descoberta do vírus linfotrópico de células T humanas do tipo 2 (HTLV-2, do inglês *human T-cell lymphotropic virus type 2*), isolado a partir de um indivíduo que tinha um quadro de leucemia de células pilosas (Kalyanaraman *et al*., 1982). A associação entre o HTLV-2 e a referida doença não foi estabelecida, porém, apesar de não ocorrerem associações com manifestações clínicas bem definidas, foi proposta, posteriormente, a possível associação entre a infecção pelo HTLV-2 e o desenvolvimento de distúrbios neurológicos (Araujo; Hall, 2004).

Depois, em 1983, ocorreu a identificação de um retrovírus considerado o agente etiológico da AIDS, sendo inicialmente denominado vírus linfotrópico de células T humanas do tipo 3 (HTLV-3, do inglês *human T-cell lymphotropic virus type 3*) dada a sua proximidade evolutiva com os isolados do HTLV-1 e do HTLV-2 que haviam sido recentemente descobertos. Os estudos do vírus linfotrópico de células T humanas dos tipos 1 e 2 (HTLV-1/2, do inglês *human T-cell lymphotropic virus types 1 and 2*) permitiram que pesquisadores pudessem realizar a caracterização do HTLV-3, que, em 1986, passou a ser denominado vírus da imunodeficiência humana (HIV, do inglês *human immunodeficiency virus*) (Melbye, 1986; Esau, 2017).

No Brasil, os primeiros casos de HTLV foram registrados no ano de 1986 a partir da detecção de anticorpos para HTLV-1 em uma comunidade de imigrantes japoneses presente em Campo Grande, no estado do Mato Grosso do Sul (Kitagawa *et al*., 1986). Com o estabelecimento da obrigatoriedade da triagem sorológica para o HTLV em bancos de sangue no ano de 1993, diversos casos de infecção causada por esses retrovírus foram amplamente registrados no país (Catalan-Soares; Proietti; Carneiro-Proietti, 2001).

Em 2005, a partir de exames realizados com amostras de sangue de pacientes originários dos Camarões do Sul, antigo país da África Ocidental cujo território corresponde atualmente às

províncias do noroeste e sudoeste dos Camarões, foi descoberto o HTLV-3 em caçadores de primatas não humanos (NHP, do inglês *non-human primates*) (Calattini *et al*., 2005). Em seguida, no mesmo ano, um novo tipo do HTLV foi isolado, o vírus linfotrópico de células T humanas do tipo 4 (HTLV-4, do inglês *human T-cell lymphotropic virus type 4*), a partir de uma amostra proveniente de um caçador das florestas dos Camarões do Sul, que relatou ter caçado NHP e ter sido mordido e arranhado por um animal selvagem não especificado (Wolfe *et al*., 2005). Diferentemente do HTLV-1 e do HTLV-2, que possuem importante distribuição mundial, o HTLV-3 e o HTLV-4 se encontram ainda restritos a áreas isoladas dos Camarões, além de, até o presente momento, não terem sido associados a doenças e à transmissão entre humanos (Duong *et al*., 2008).

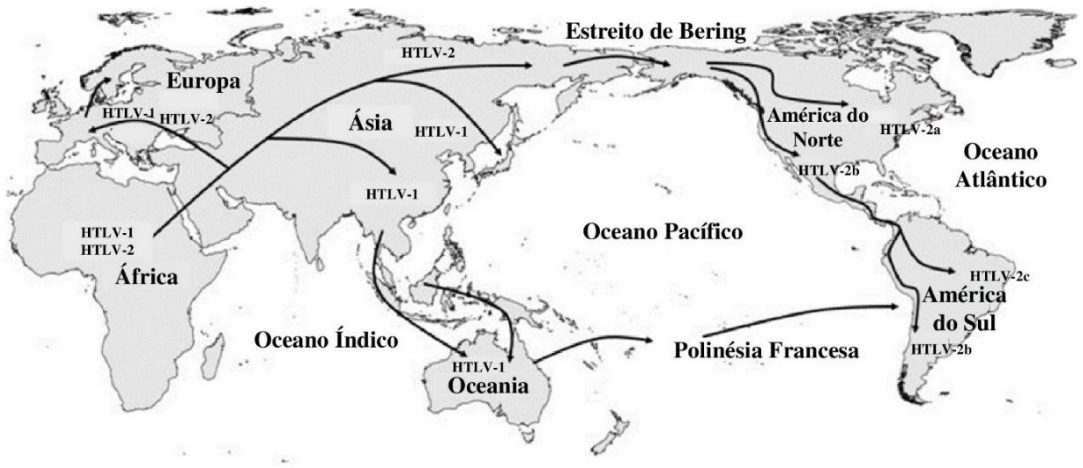
Sugere-se que, há aproximadamente 27.300 anos, o HTLV-1 tenha surgido na África a partir da transmissão zoonótica do vírus linfotrópico de células T símias do tipo 1 (STLV-1, do inglês *simian T-cell lymphotropic virus type 1*) de NHPs para humanos, sendo que, ainda hoje, essa transmissão interespécie é muito comum na África. Na América do Sul, estima-se que as rotas de infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2 seguiram caminhos diferentes no contexto histórico de colonização de territórios do Novo Mundo, apresentando período e formas de dispersão distintas (Jégado *et al*., 2019; Ishak *et al*., 2020).

Considera-se que o HTLV-1 não é um vírus de presença pré-colombiana na América do Sul, sendo que sua introdução massiva no continente americano pode ter ocorrido a partir da costa leste do Brasil durante o século XVI no contexto do tráfico de pessoas escravizadas vindas da África. No Brasil, além do período escravista, ocorreu uma segunda entrada massiva do HTLV-1 na ocasião da migração de japoneses no início do século XX (Jégado *et al*., 2019; Ishak *et al*., 2020). Uma descoberta intrigante ainda levanta debates sobre a provável presença pré-colombiana do HTLV-1 na América do Sul: a detecção de faixas de material genético do HTLV-1 isoladas a partir da medula óssea de múmias andinas com cerca de 1500 anos encontradas no Peru. Esse achado fornece evidências que reforça a hipótese de que asiáticos antigos transportaram o HTLV-1 para os Andes antes do período colonial (Sonoda *et al*., 2000).

Quanto ao HTLV-2, seu surgimento possivelmente também ocorreu na África em uma época remota, por meio de transmissão zoonótica de retrovírus ancestral de NHP. A chegada do HTLV-2 nas Américas ocorreu a partir de antigos fluxos migratórios humanos que atravessaram o Estreito de Bering rumo ao Alasca entre 30 mil e 15 mil anos atrás. Depois, ocorreu o estabelecimento do HTLV-2 na América do Sul, com ondas migratórias direcionadas para as regiões andina e amazônica. Na Amazônia brasileira, a presença do HTLV-2 em

comunidades indígenas remonta a essa época. É provável que o HTLV-1 tenha chegado na América do Sul através de migrações humanas pelo Oceano Pacífico, encontrando populações já expostas ao HTLV-2 (Figura 1). Logo, diz-se que a infecção pelo HTLV-2 no continente americano é mais antiga do que a pelo HTLV-1 (Vallinoto; Ishak, 2017; Ishak *et al*., 2020).

Figura 1 – Representação das possíveis rotas intercontinentais do HTLV-1 e do HTLV-2 no contexto dos antigos fluxos migratórios humanos.



Fonte: Adaptado de Ishak *et al*. (2020).

1.2. CARACTERÍSTICAS GERAIS DO HTLV-1/2

1.2.1. Classificação e taxonomia

Os retrovírus causadores de infecções em primatas estão inclusos no grupo dos vírus linfotrópicos de células T de primatas (PTLV, do inglês *primate T-cell lymphotropic viruses*), que se divide em quatro tipos, o PTLV-1, o PTLV-2, o PTLV-3 e o PTLV-4, englobando, respectivamente, o HTLV-1, o HTLV-2, o HTLV-3 e o HTLV-4, além dos três tipos de vírus linfotrópico de células T símias (STLV, do inglês *simian T-cell lymphotropic virus*) associados filogeneticamente, de forma respectiva, aos três primeiros tipos de HTLV, isto é, o STLV-1, o STLV-2 e o STLV-3, os quais infectam NHP. Até o presente momento, ainda não foi encontrado um possível correspondente não humano do HTLV-4, sendo considerado um membro de linhagem filogeneticamente diferente dos demais tipos virais do HTLV e das estirpes do STLV (Gessain *et al*., 2013).

Além disso, os retrovírus podem ser classificados taxonomicamente através de análises filogenéticas, observações de características morfológicas e percepção da presença ou ausência de genes regulatórios e acessórios. Conforme exposto pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV, do inglês *International Committee on Taxonomy of Viruses*), os retrovírus, de

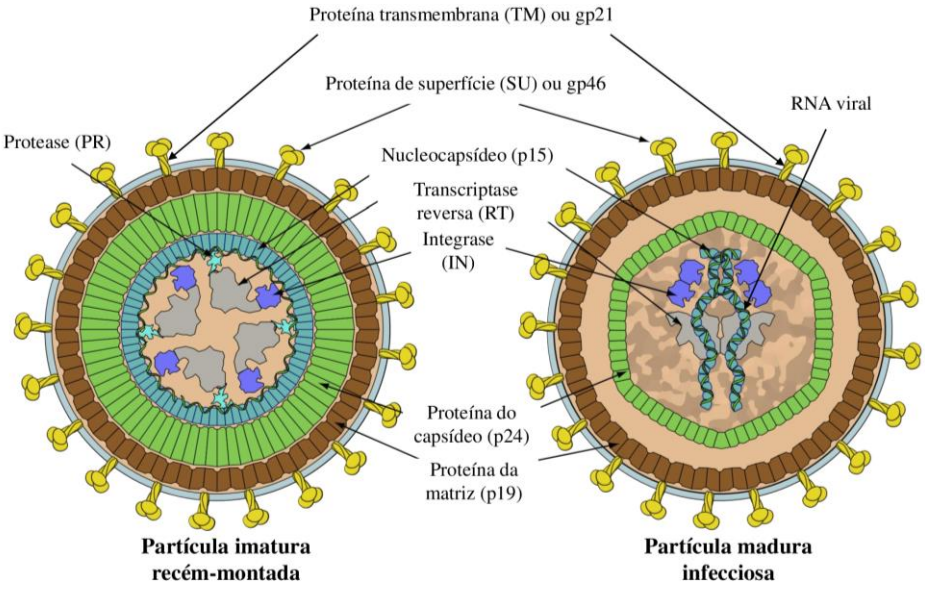
modo geral, pertencem ao domínio *Riboviria*, reino *Pararnavirae*, filo *Artververiricota*, classe *Revtraviricetes*, ordem *Ortervirales* e família *Retroviridae*, sendo que essa última categoria inclui duas subfamílias: *Orthoretrovirinae*, que reúne seis gêneros (*Alpharetrovirus*, *Betaretrovirus*, *Deltaretrovirus*, *Epsilonretrovirus*, *Gammaretrovirus* e *Lentivirus*), e *Spumaretrovirinae*, que reúne cinco gêneros (*Bovispumavirus*, *Equispumavirus*, *Felispumavirus*, *Prosimiispumavirus* e *Semiispumavirus*). As duas subfamílias mencionadas incluem 68 espécies de retrovírus. Os quatro tipos de HTLV pertencem à subfamília *Orthoretrovirinae* e ao gênero *Deltaretrovirus* (Coffin *et al*., 2021). Com a atualização da nomenclatura taxonômica em nível de espécie viral realizada em 2024 pelo ICTV, o HTLV-1 passou a corresponder à espécie *Deltaretrovirus priTlym1*, e o HTLV-2, à espécie *Deltaretrovirus priTlym2*.

1.2.2. Estrutura da partícula viral

O HTLV-1/2 possui formato esférico, com diâmetro entre 80 e 100 nanômetros (nm), e é um vírus envelopado contendo duas cópias de RNA de fita simples de senso positivo ($ssRNA^+$) originadas de um mesmo DNA proviral, apresentando duas glicoproteínas que compõem o envelope lipoproteico viral originado a partir da membrana plasmática de uma célula infectada: a glicoproteína de superfície (SU), ou proteína gp46, e a glicoproteína transmembrana (TM), ou proteína gp21. Essas duas glicoproteínas formam o complexo gp46/gp21, sendo que a proteína gp46 está envolvida no processo de adsorção viral a um receptor-alvo e a proteína gp21 é crucial no fenômeno de fusão do envelope viral à membrana plasmática de uma célula hospedeira (Verdonck *et al*., 2007; Campbell; Hope, 2015; Rotem *et al*., 2018; Brites *et al*., 2021; Coffin *et al*., 2021; Kalinichenko; Komkov; Mazurov, 2022).

Na parte interna, encontram-se as proteínas da matriz viral (p19), que compõem uma camada proteica próxima ao envelope do HTLV. O capsídeo viral, que possui simetria icosaédrica, é constituído por proteínas p24, com o cerne viral contendo duas cópias de $ssRNA^+$, que são envolvidas por proteínas do nucleocapsídeo (p15), além de albergar também importantes enzimas promotoras da replicação viral, como a protease (PR), a integrase (IN) e a RT (Figura 2) (Rotem *et al*., 2018; Brites *et al*., 2021; Coffin *et al*., 2021; Kalinichenko; Komkov; Mazurov, 2022; Machado *et al*., 2022).

Figura 2 – Representação da estrutura das partículas imaturas e maduras do HTLV-1/2.

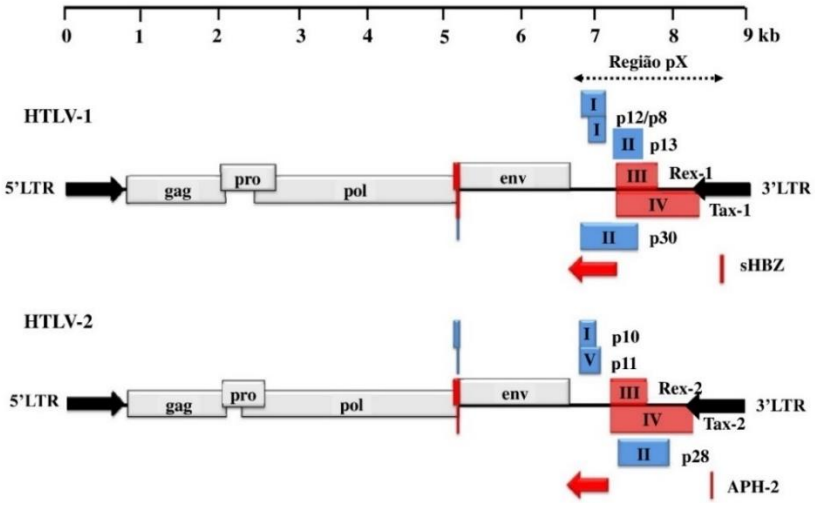


Fonte: Adaptado de ViralZone (2024): <https://viralzone.expasy.org/91>.

1.2.3. Organização genômica e proteínas codificadas

O genoma de ssRNA^{+} do HTLV-1 e do HTLV-2 possui, aproximadamente, 9.000 nucleotídeos (nt) de extensão. Ambos são retrovírus que compartilham cerca de 70% de similaridade nucleotídica. No genoma desses retrovírus, cujas extremidades são duas repetições terminais longas (LTR, do inglês *long terminal repeats*), estão presentes tanto os genes *gag*, *pro, pol* e *env*, que são responsáveis pela síntese de enzimas e proteínas estruturais e que estão localizados próximos da porção 5', quanto a sequência localizada a 3' do gene *env* denominada região pX, que possui genes codificadores de proteínas regulatórias e acessórias (Figura 3) (Gessain *et al*., 2013; Harrod, 2019; Machado *et al*., 2022; Martinez; Al-Saleem; Green, 2019).

Figura 3 – Representação esquemática do genoma do HTLV-1 e do HTLV-2.



Fonte: Adaptado de Gessain *et al*. (2013).

As regiões LTR são fundamentais para facilitar a integração do DNA viral ao genoma celular, contendo importantes elementos promotores e sinais de poliadenilação, além de possuir outras sequências reguladoras cruciais para o processo de transcrição do RNA viral (Kalinichenko; Komkov; Mazurov, 2022). As LTR presentes nas extremidades 5' e 3', ou seja, 5' LTR e 3' LTR, respectivamente, são constituídas por três regiões: U3, R e U5 (Barbeau; Mesnard, 2011). No Quadro 1, estão descritas resumidamente as regiões gênicas, as proteínas codificadas nessas regiões tanto no HTLV-1 quanto no HTLV-2 e as funções desses polipeptídeos.

Quadro 1 – Descrição de regiões gênicas presentes no HTLV-1/2 e no HTLV-2, proteínas codificadas nessas regiões e funções das proteínas.

Região gênica	**Proteína codificada**	**Função da proteína**	**Referência**
gag	p15	Atua no reconhecimento e empacotamento genômico	Lyngdoh *et al.* (2019)
	p19	Atua na ancoragem da poliproteína Gag à membrana plasmática e empacotamento do RNA viral	
	p24	Atua no processo de oligomerização da poliproteína Gag	
pro	Protease (PR)	Efetua a clivagem de proteínas	Kassay *et al.* (2021)
pol	Transcriptase reversa (RT)	Atua na síntese de DNA a partir de RNA viral	Ilina *et al.* (2021)
	Integrase (IN)	Insere o DNA proviral no DNA do hospedeiro	Lyngdoh *et al.* (2019)
env	Glicoproteína de superfície (SU)/Proteína gp46	Atua no processo de adsorção viral ao receptor-alvo	Martinez, Al-Saleem e Green (2019)
	Glicoproteína transmembrana (TM)/Proteína gp21	Atua na fusão entre as membranas do vírus e da célula-alvo	

Fonte: Próprio autor.

O gene *gag* codifica as proteínas estruturais p15, p19 e p24. A proteína p15 constitui o nucleocapsídeo, que envolve o RNA viral diploide, sendo crucial para o reconhecimento e empacotamento genômico, além de ser um potencial alvo no desenvolvimento de terapias antirretrovirais. A proteína p19 compõe a matriz da membrana interna, sendo fundamental na ancoragem da poliproteína Gag à membrana plasmática e no empacotamento do RNA viral. A proteína p24 estrutura o capsídeo, atuando no processo de oligomerização da poliproteína Gag na ocasião da montagem do nucleocapsídeo (Lyngdoh *et al*., 2019).

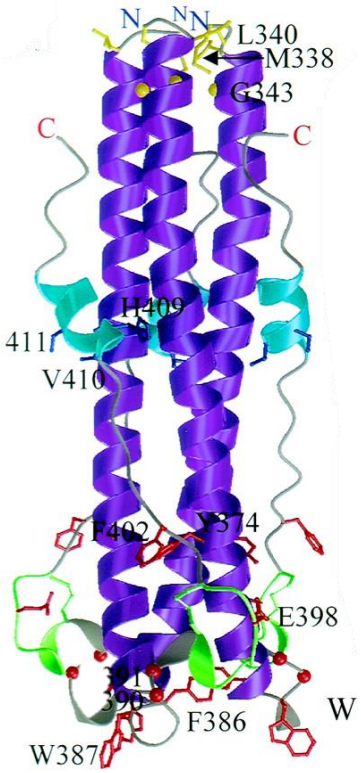
O gene *pro* codifica a enzima PR, que também é codificada no gene *pol* e na extremidade 3' da região gênica *gag* (Trentin; Rebeyrotte; Mamoun, 1998; Lyngdoh *et al*., 2019). A PR dos retrovírus possui atividade enzimática crucial no ciclo de replicação viral, haja vista que, através do processo de proteólise, faz a clivagem de poliproteínas, o que resulta na formação das proteínas p15, p19, p24, RT e IN (Kassay *et al*., 2021). O gene *pol* codifica as enzimas PR, RT e IN (Trentin; Rebeyrotte; Mamoun, 1998). A enzima RT apresenta atividades de DNA polimerase e ribonuclease H (RNH), sintetizando DNA de fita dupla a partir de RNA viral no processo de transcrição reversa durante o ciclo de replicação dos retrovírus (Ilina *et al*., 2021). A IN medeia a integração do DNA proviral no DNA do hospedeiro durante o ciclo de replicação viral (Lyngdoh *et al*., 2019).

O gene *env* do HTLV-1/2 codifica a glicoproteína precursora de envelope (gp62), cuja clivagem realizada por PR da família das furinas gera um peptídeo sinal e duas glicoproteínas do envelope viral, isto é, as proteínas gp46 e gp21, que são inseridas na superfície externa da membrana plasmática das células hospedeiras nos locais de montagem de vírions (Kalinichenko; Komkov; Mazurov, 2022). As proteínas gp46 e gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 compartilham 65% e 79% de similaridade de resíduos, respectivamente, sendo que a gp46 é uma glicoproteína inteiramente extracelular e que estabelece ligação com a gp21, a qual está inserida no envelope viral (Jones *et al*., 2011; Martinez; Al-Saleem; Green, 2019).

A proteína gp21 do HTLV-1/2 é uma proteína de fusão viral de classe I de passagem única, com aproximadamente 176 aminoácidos em sua estrutura primária, sendo reconhecida por conter apenas um sítio de N-glicosilação, uma ligação dissulfeto e um resíduo de cisteína S-palmitoilado, além de formar homotrímeros não covalentemente ligados em suas conformações apresentadas antes e após o fenômeno de fusão. O conteúdo marcante de estruturas secundárias dessas proteínas de fusão de classe I é a espiral α-helicoidal trimérica, que é paralela ao domínio C-terminal pós-fusão. Outrossim, a proteína gp21 possui um peptídeo de fusão hidrofóbico N-terminal e dois domínios de repetição heptal (HR, do inglês *heptad*

repeat) em espiral, além de apresentar um domínio transmembranar (TMD, do inglês *transmembrane domain*) presente na porção C-terminal, cujo papel é ancorar o complexo glicoproteico ao envelope viral e à membrana plasmática da célula-alvo (Figura 4) (Maerz *et al*., 2000; Wilson *et al*., 2005; Ratner, 2022).

Figura 4 – Representação da estrutura tridimensional de um trímero da proteína gp21 do HTLV-1/2.



Fonte: Adaptado de Maerz *et al*. (2000).

Legenda: Conforme o estudo de Maerz *et al*. (2000), na ilustração, as hélices formadoras de hélices enroladas estão representadas na cor magenta. O *Loop* com ligação dissulfeto está representado na cor verde. As hélices C-terminais estão representadas na cor ciano. O restante da cadeia está representado na cor cinza.

A região pX do HTLV-1 apresenta quatro quadros de leitura aberta (ORF, do inglês *open reading frames*), sendo que a ORF-I codifica a proteína p8 e p12; a ORF-II codifica as proteínas p13 e p30; a ORF-III codifica a proteína Rex do HTLV-1 (Rex-1) e a sua isoforma truncada p21Rex; e a ORF-IV codifica a proteína Tax do HTLV-1 (Tax-1). Por outro lado, o HTLV-2 possui cinco ORF na região pX: a ORF-I, que codifica a proteína p10; a ORF-II, que codifica a proteína p28; a ORF-III, que codifica a proteína Rex do HTLV-2 (Rex-2) e as suas isoformas truncadas tRex; a ORF-IV, que codifica a proteína Tax do HTLV-2 (Tax-2); e a ORF-V, que codifica a proteína p11. A região pX possui gene antissenso codificador do fator zíper de leucina básica (HBZ, do inglês *HTLV-1 basic leucine zipper factor*) e APH-2, as quais são proteínas codificadas somente no HTLV-1 e no HTLV-2, respectivamente (Anupam; Doueiri;

Green, 2013; Harrod, 2019; Martinez; Al-Saleem; Green, 2019). No Quadro 2, estão descritas as proteínas codificadas na região pX do HTLV-1 e do HTLV-2 e as suas respectivas funções.

Quadro 2 – Proteínas codificadas na região pX do HTLV-1 e do HTLV-2 e suas funções.

ORF da região pX	Tipo viral do HTLV	Proteína codificada	Função da proteína	Referência
I	HTLV-1	p8	Atua na regulação de reconhecimento celular e formação de condutos celulares	Van Prooyen *et al*. (2011) e Bai e Nicot (2012)
		p12	Atua na modulação de ativadores da resposta imune	
	HTLV-2	p10	Estabelece ligação com o MHC-I	Martinez, Al-Saleem e Green (2019)
II	HTLV-1	p13	Controla o fluxo de íons e moléculas, interage com a Tax e regula a morte celular	Omsland *et al*. (2020)
		p30	Influencia a oncogênese	Moles *et al*. (2019)
	HTLV-2	p28	Atua na persistência viral *in vivo*	Martinez, Al-Saleem e Green (2019)
III	HTLV-1	Rex-1	Atua em atividades pós-transcricionais	Kesic *et al*. (2009)
	HTLV-2	Rex-2		Martinez, Al-Saleem e Green (2019)
IV	HTLV-1	Tax-1	Regula o ciclo de replicação e a atividade celular	Ciminale *et al*. (2014) e Al-Saleem *et al*. (2019)
	HTLV-2	Tax-2	Interação com componentes limitados de vias de sinalização celular	Shirinian *et al*. (2013) e Heym *et al*. (2022)
V	HTLV-2	p11	Modula a resposta imune	Martinez, Al-Saleem e Green (2019)
-	HTLV-1	HBZ	Regulação de genes virais	Polakowski *et al*. (2023)
-	HTLV-2	APH-2	Modulação de vias de sinalização celular	Martini *et al*. (2019) e Londhe e Kulkarni (2021)

Fonte: Próprio autor.

A proteína p12 do HTLV-1, que é pequena e hidrofóbica, pode sofrer clivagem proteolítica no interior do retículo endoplasmático (ER, do inglês *endoplasmic reticulum*) para produzir a proteína p8. A proteína p12 fica retida no ER e na porção *cis*-Golgi e a proteína p8 é conduzida para a superfície celular. As seguintes funções são executadas pela proteína p12: ligação a cadeias γ e β do receptor de interleucina (IL) 2 e aumento da proliferação de células T; modulação da liberação de cálcio e ativação de células T; retrotranslocação do complexo principal de histocompatibilidade classe I (MHC-I, do inglês *major histocompatibility complex class I*) para degradação pelo proteassoma; redução de MHC-I na superfície das células e evasão do sistema imune. Por sua vez, a proteína p8 apresenta as seguintes funções: regulação negativa da sinalização proximal do receptor de células T (TCR, do inglês *T-cell receptor*) e estabelecimento de contato intercelular através da formação de condutos celulares (Van Prooyen *et al*., 2011; Bai; Nicot, 2012).

Localizada especialmente em mitocôndrias, a proteína p13 do HTLV-1 é uma macromolécula proteica que apresenta as seguintes propriedades funcionais: indução do influxo de potássio mediante membrana mitocondrial interna, aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês *reactive oxygen species*), obtenção de cálcio mitocondrial, interações associativas com a proteína Tax e regulação da morte celular (Omsland *et al*., 2020). A combinação da expressão das proteínas p12 e p13 proporciona o aumento da intensidade e da duração de níveis citosólicos de cálcio em reação à estimulação do TCR, o que gera uma maior ativação do fator nuclear de células T ativadas (NFAT, do inglês *nuclear factor of activated T cells*) (Silic-Benussi *et al*., 2010). Residente no nucléolo, a proteína p30 do HTLV-1 apresenta importante atividade transcricional, regula a latência viral, inibe a progressão do ciclo celular, modula o processo de reparo do DNA, contribui com o oncogene *c-myc* na transformação celular, influencia a glicólise induzida por TP53 e regula a apoptose (Moles *et al*., 2019).

A proteína Rex-1 do HTLV-1 consiste em uma fosfoproteína localizada no nucléolo com atuação pós-transcricional. Essa proteína estabelece ligação preferencial com mRNs virais não processados e de processamentos incompletos e exporta esses ácidos nucleicos do núcleo para o citoplasma, regulando a expressão de proteínas estruturais e enzimáticas para a geração de progênie viral (Kesic *et al*., 2009). O HTLV-1 expressa a isoforma truncada p21Rex e o HTLV-2 codifica quatro isoformas tRex, que são originadas através de dois mRNA distintos com diferentes códons de iniciação e estado de fosforilação (Ciminale *et al*., 2014; Martinez; Al-Saleem; Green, 2019).

A Tax-1 é uma proteína reguladora de papel fundamental no ciclo de replicação do HTLV-1, pois recruta complexos CREB/ATF e p300 para o promotor viral, o que proporciona a ativação e o aumento da transcrição do gene viral, além de contribuir para a oncogênese do HTLV-1 (Ciminale *et al*., 2014; Al-Saleem *et al*., 2019). Na transformação celular, a proteína Tax-1 promove interações com diversos componentes do sistema de sinalização celular, controlando a proliferação, a distribuição de proteínas, a migração celular e o estabelecimento de sinapses virológicas (Bertazzoni *et al*., 2011).

Contendo um domínio zíper de leucina (ZIP, do inglês *leucine zipper*) no seu C-terminal, que exerce dimerização com diversos fatores de transcrição de zíper de leucina básica (bZIP, do inglês *basic leucine zipper*), a proteína HBZ do HTLV-1 é expressa sob duas isoformas diferentes: uma forma emendada com 206 aminoácidos (sp1) e outra não emendada com 209 aminoácidos (us) (Accolla, 2022). A proteína HBZ está associada ao processo de regulação de diversos genes virais, além de atuar na transcrição de provírus do HTLV-1 (Polakowski *et al*., 2023).

Demonstrou-se que a proteína p10 do HTLV-2 estabelece ligação com o MHC-I, mas outras particularidades dessa proteína ainda se encontram obscuras, sendo crucial a definição de novos estudos investigativos sobre o papel da p10 no ciclo de replicação do HTLV-2. A proteína p28 do HTLV-2 é essencial para a persistência viral *in vivo*. A proteína p11 do HTLV-2 se liga ao MHC-I para modular a resposta imune (Martinez; Al-Saleem; Green, 2019). As formas truncadas p21Rex e tRex não apresentam sinais de localização nuclear (NLS, do inglês *nuclear localization signal*) rico em arginina N-terminal, sendo inviáveis para estabelecer ligação com RXRE. Verificou-se que a proteína tRex inibe a proteína Rex-2, favorecendo a latência do HTLV-2. As proteínas Rex-1 e Rex-2 compartilham 60% de similaridade aminoacídica, sendo ambas proteínas fosforiladas que trafegam entre o núcleo celular e o citoplasma para a exportação de mRNA viral que tem *splicing* incompleto (Ciminale *et al*., 2014).

As proteínas Tax-1 e Tax-2 apresentam 85% de similaridade aminoacídica. Diferentemente da proteína Tax-1, que interage com diversos componentes do sistema de sinalização celular, a proteína Tax-2 interage com um número mais limitado de componentes, cuja maioria pertence à família de proteína fator nuclear kappa B (NF-κB, do inglês *nuclear factor kappa B*). Outrossim, a proteína Tax-2 é incapaz de processar a proteína p100 como faz a Tax-1, além de não ser capaz de ativar a via não canônica de NF-κB, mas apenas a via clássica,

o que pode justificar a inviabilidade da proteína Tax-2 em transformar células T e induzir a ocorrência de neoplasias (Shirinian *et al*., 2013; Heym *et al.*, 2022).

Verificou-se que a proteína APH-2 do HTLV-2, semelhantemente à proteína HBZ do HTLV-1, inibe a expressão gênica mediada pela proteína Tax e regula negativamente a via de NF-κB mediada pela proteína Tax, porém apresenta efeitos divergentes na sinalização do fator de crescimento transformador (TGF, do inglês *transforming growth factor*) β e do fator regulador de interferon (IRF, do inglês *interferon regulatory factor*) 1, demonstrando que os efeitos distintos entre APH-2 e HBZ podem influenciar na diferença de patogenicidade entre o HTLV-1 e o HTLV-2 (Martini *et al*., 2019; Londhe; Kulkarni, 2021).

1.2.4. Ciclo de replicação viral

O HTLV-1 tem tropismo por linfócitos T $CD4^+$, porém possui potencial para causar infecções em diversas células de um hospedeiro, como células T $CD8^+$, células dendríticas (DC, do inglês *dendritic cells*), linfócitos B, monócitos, células endoteliais, células mieloides e fibroblastos, entre outras, enquanto o HTLV-2 infecta preferencialmente células T $CD8^+$ (Martin *et al*., 2016; Araujo, 2020). Sabe-se que três receptores da superfície de células-alvo estão associados à entrada do HTLV-1: transportador de glicose do tipo 1 (GLUT-1, do inglês *glucose transporter type 1*), neuropilina 1 (NRP-1, do inglês *neuropilin 1*) e proteoglicano de sulfato de heparana (HSPG, do inglês *heparan sulphate proteoglycan*). O HTLV-2 utiliza como macromoléculas receptoras apenas NRP-1 e GLUT-1 (Martinez; Al-Saleem; Green, 2019).

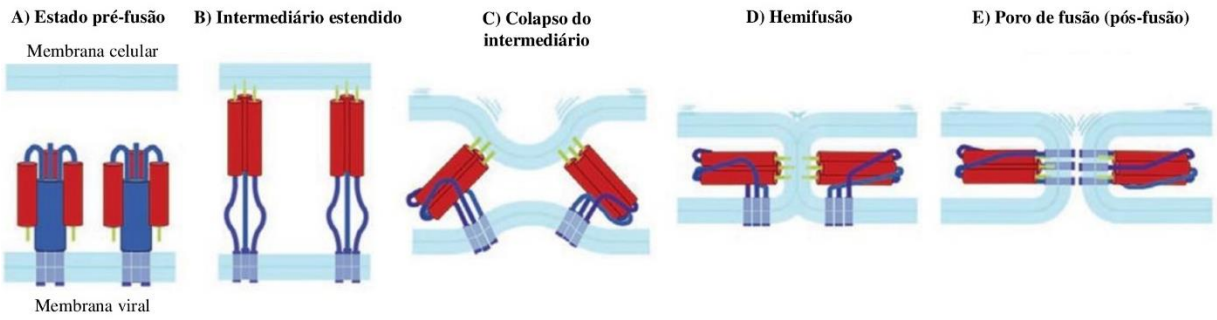
A entrada desses retrovírus nas células hospedeiras ocorre através do fenômeno de fusão do envelope viral com a membrana plasmática ou com membranas endossomais depois de internalização mediante via endocítica, sendo que, em ambas as possibilidades, a entrada dos retrovírus segue duas etapas subsequentes: a ligação do vírus ao receptor-alvo mediada pela proteína gp46 e o processo de fusão mediado pela proteína gp21, uma proteína de fusão viral de classe I (Jones *et al*., 2011). No caso do HTLV-1, a proteína gp46 inicia a interação com o HSPG, recrutando, em seguida, NRP-1. Depois, ocorre a formação de um complexo HSPG/NRP-1. Subsequentemente, esse complexo se associa ao GLUT-1 para dar início à fusão através da ativação do peptídeo fusogênico da proteína gp21 (Martin *et al*., 2016; Kalinichenko; Komkov; Mazurov, 2022).

Antes da interação entre o complexo gp46/gp21 e um receptor celular, a proteína gp21 permanece em uma conformação metaestável fusogênica inativa, com seu peptídeo de fusão hidrofóbico N-terminal ocultado, a fim de prevenir uma possível fusão prematura do vírus à célula hospedeira. A ativação do processo de fusão é proporcionada por uma sequência de

eventos de alteração conformacional da proteína gp21, que ocasiona a projeção de seu peptídeo fusogênico na sua porção N-terminal. Esse processo envolve a formação de um feixe espiralado de seis hélices, o qual permite a aproximação entre as membranas do vírus e da célula-alvo, resultando na fusão de ambas (Jones *et al*., 2011; Wilson *et al*., 2005).

O peptídeo fusogênico da proteína gp21 liga-se à espiral central mediante uma sequência rica em resíduos de glicina e serina, as quais estão associadas, de modo frequente, à liberdade de rotação da cadeia polipeptídica. Através do alinhamento de sequências aminoacídicas, percebeu-se, em diversos gêneros de retrovírus, a conservação da extensão total e dos tipos de aminoácidos do peptídeo de fusão e dos segmentos ricos em glicina da proteína gp21 (Wilson *et al*., 2005). A atividade de uma proteína de fusão viral de classe I pode ser evidenciada, em etapas, conforme exposto na Figura 5.

Figura 5 – Representação da atividade de uma proteína de fusão viral de classe I.



Fonte: Adaptado de Lozada *et al*. (2021).

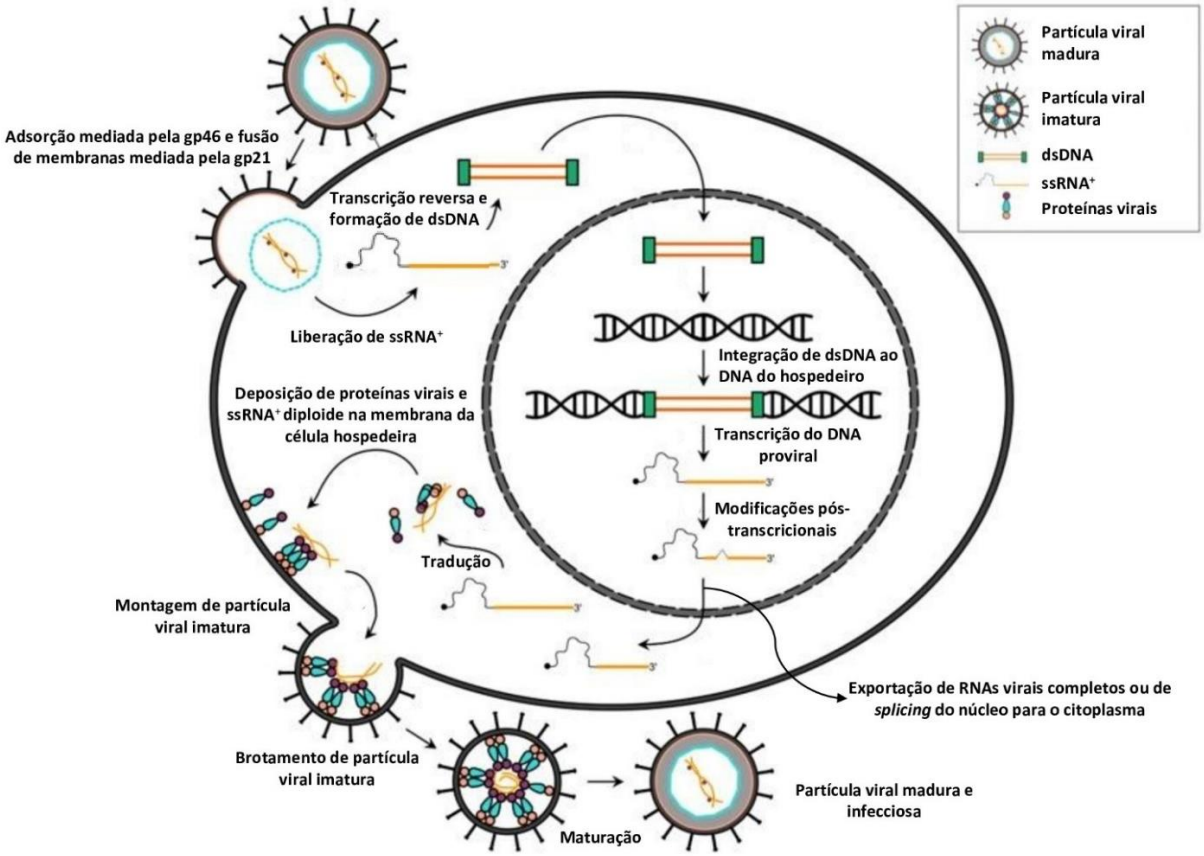
Legenda: Conforme o estudo de Lozada *et al*. (2021), as etapas de atividade de uma proteína de fusão viral de classe I consistem em: (A) Estado pré-fusão: a proteína encontra-se em um estado de conformação pré-fusão, com peptídeo de fusão ocultado (cor verde claro); (B) Intermediário estendido: a proteína é aberta e estende seu peptídeo de fusão para conectar-se à bicamada alvo, sendo que a parte da proteína que sustenta o peptídeo de fusão é composto por um cluster de trímero; (C) Colapso do intermediário estendido: um segmento da extremidade C-terminal da proteína se contorce para trás, ao longo da parte externa do núcleo do trímero. Cada uma das três subunidades efetua esse movimento independentemente, o que permite que, em qualquer estágio, elas tenham a oportunidade de se projetar em comprimentos distintos ao longo do eixo do trímero. Consequentemente, o trímero inteiro pode se dobrar exteriormente, distanciando-se da membrana que está sofrendo deformação; (D) Hemifusão: conforme o colapso do intermediário progride de modo a aproximar as duas bicamadas lipídicas, os folhetos mais internos dispostos um para o outro são fundidos, criando uma estrutura com forma de pedúnculo denominada hemifusão; (E) Poro de fusão: à medida que as bicamadas do processo de hemifusão se abrem, criando um poro de fusão, as partes finais do ectodomínio C-terminal se alinham de forma integral. Esse rearranjo final proporciona a estabilização do trímero em sua conformação pós-fusão, que é considerada simétrica, o que impossibilita o fechamento reverso do poro.

Depois que ocorre a ligação e a fusão do envelope de retrovírus maduros à célula hospedeira, o conteúdo do nucleocapsídeo é disperso no citoplasma e, consequentemente, o

RNA viral é liberado, ocorrendo a conversão desse ácido nucleico em DNA de fita dupla (dsDNA) mediante a atividade catalítica da RT. Ademais, o dsDNA convertido no processo de transcrição reversa é transportado para o interior do núcleo celular, sendo integrado ao genoma nuclear da célula hospedeira através da enzima viral IN. Em seguida, o DNA proviral integrado ao genoma da célula-alvo, que também pode ser chamado de provírus, é transcrito pela ação da RNA polimerase II, de origem celular, gerando, portanto, ácido ribonucleico mensageiro (mRNA, do inglês *messenger ribonucleic acid*) (Martin *et al*., 2016; Eusebio-Ponce *et al*., 2019).

Nas regiões LTR do provírus, estão presentes os elementos promotores essenciais da transcrição dos genes virais. A transcrição viral é impulsionada pela proteína Tax durante o início de uma infecção, proporcionando o recrutamento de múltiplos fatores de transcrição. Após a regulação pós-transcricional e o *splicing*, que ocorre mediante a atividade da proteína viral Rex, o mRNA do HTLV-1 e do HTLV-2 é conduzido para a parte exterior do núcleo e ocorre a tradução para a síntese de proteínas virais, as quais são transportadas para a membrana da célula hospedeira com o $ssRNA^+$ viral diploide. Por fim, ocorre a montagem do nucleocapsídeo e o brotamento de partículas virais imaturas é efetuado, ocorrendo a maturação da partícula liberada através da ação de PR virais, que proporciona a clivagem de poliproteínas para tornar a partícula recém-liberada infecciosa (Figura 6) (Martin *et al*., 2016; Eusebio-Ponce *et al*., 2019).

Figura 6 – Representação esquemática do ciclo de replicação do HTLV-1/2.



Fonte: Adaptado de Martin *et al*. (2016).

1.2.5. Transferência de partículas virais entre células

Diferentemente do HIV, a transferência intercelular do HTLV-1/2 é mais eficiente e mais comum do que a transmissão através da disseminação de vírions livres, demandando coordenação entre etapas do ciclo de replicação viral e mecanismos de adesão célula-célula. Essa diferença de eficiência e frequência desses dois modos de transmissão do HTLV-1 e do HTLV-2 deve-se ao fato de que as partículas infecciosas dispersadas livremente enfrentam diversas dificuldades para terem a oportunidade de interagir com células-alvos, como, por exemplo, as estratégias defensivas promovidas pelo sistema imune dos hospedeiros, as limitações ambientais e as longas distâncias a serem percorridas até encontrarem uma célula-alvo (Gross; Thoma-Kress, 2016; Kalinichenko; Komkov; Mazurov, 2022).

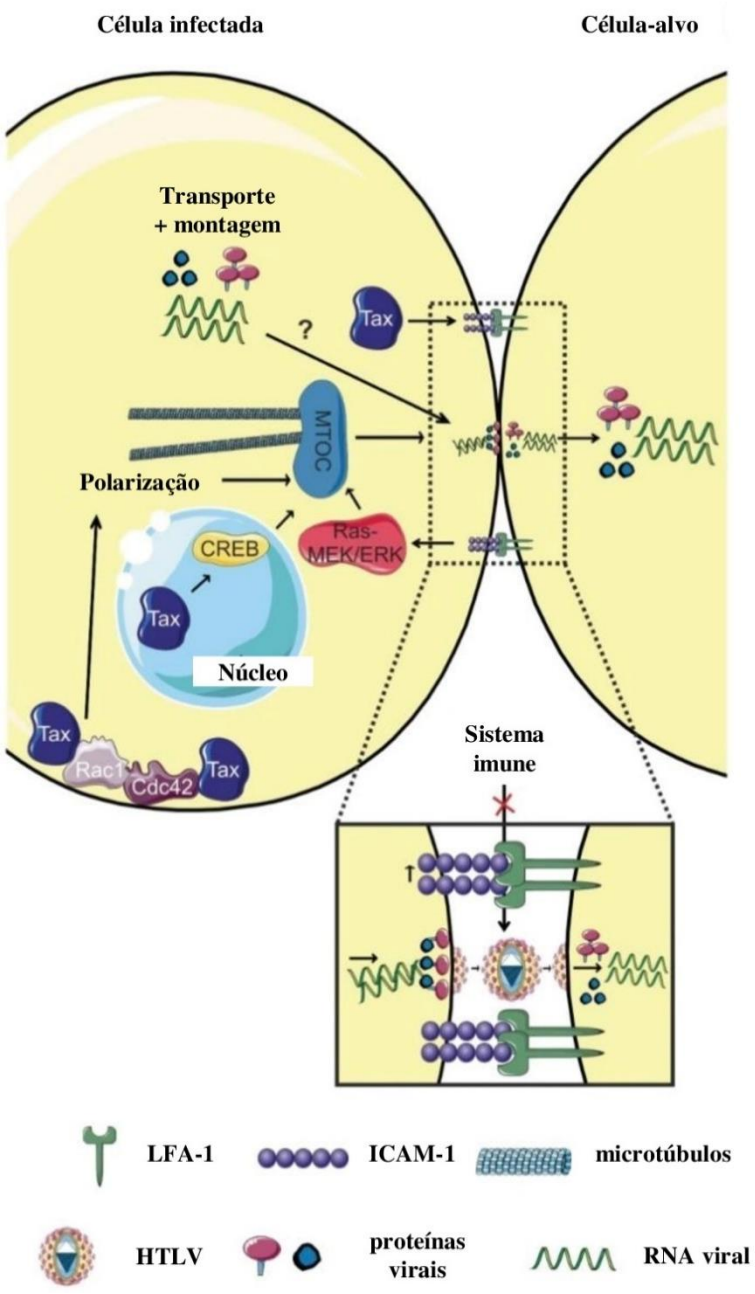
Demonstrou-se que os linfócitos T infectados pelo HTLV-1 geram pouquíssimas partículas virais livres *in vitro*, sendo observado que 1 em cada 100.000 vírions livres produzidos é potencialmente infeccioso. Através de análises do plasma sanguíneo de indivíduos infectados pelo HTLV-1, verificou-se que o RNA viral não é detectado de forma significativa,

revelando risco baixo de infecção por vírions livres dispersos nesse fluido biológico (Kalinichenko; Komkov; Mazurov, 2022).

Por outro lado, a transmissão célula-célula apresenta a capacidade de maximizar a multiplicidade da infecção, evadir da resposta imune e acelerar a cinética de replicação viral, sendo que dois modos de interação célula-célula se demonstram críticos para a transmissão do HTLV: os contatos estreitos e os condutos celulares. Em ambas as possibilidades, os vírions são transmitidos em áreas restritas que não permitem a interferência da resposta imune. Na transmissão em contatos estreitos, dois mecanismos podem ocorrer mediante sinapses virológicas, ou seja, pelo brotamento polarizado de partículas virais e pela transferência de biofilmes virais na superfície celular. A sinapse virológica é definida como uma área de contato entre células induzida por uma infecção viral, permitindo a transferência, de forma direcionada, de partículas virais entre uma célula infectada e uma célula-alvo, tornando a transmissão viral mais eficiente. Outra possibilidade de transferência intercelular de partículas virais ocorre via DC (Nejmeddine; Bangham, 2010; Gross; Thoma-Kress, 2016; Kalinichenko; Komkov; Mazurov, 2022; Ratner, 2022).

No brotamento polarizado mediante sinapse virológica, verificou-se que o RNA viral e as proteínas p19, p15, gp46 e gp21 do HTLV se aglomeram na interface entre uma célula T infectada e uma célula-alvo, com a subsequente transferência de partículas virais para a célula-alvo. Esse fluxo é acompanhado pela polarização do centro organizador de microtúbulos (MTOC, do inglês *microtubule-organizing center*) em células infectadas e a formação da sinapse virológica, que demandam sinalização da proteína Tax, sinalização dependente de CREB, reticulação de molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1, do inglês *intercellular adhesion molecule 1*) e ligação de ICAM-1 ao antígeno associado à função linfocitária 1 **(**LFA-1, do inglês *lymphocyte function-associated antigen 1*) de células-alvo. Em seguida, ocorre a reorganização do citoesqueleto de células infectadas, a montagem, o brotamento de partículas virais no sentido da fenda sináptica e a entrada do vírus na célula-alvo (Figura 7) (Gross; Thoma-Kress, 2016).

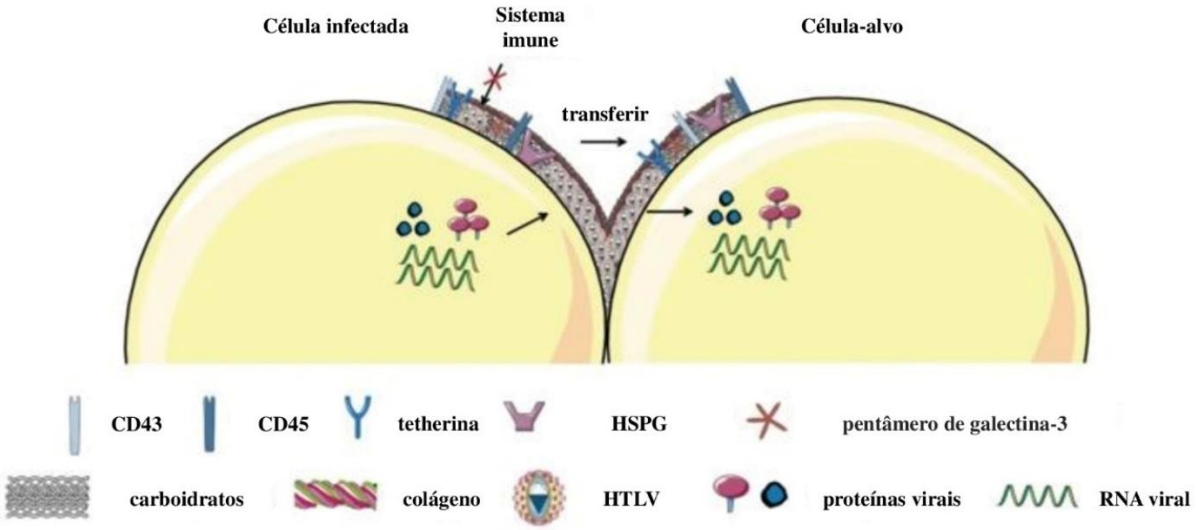
Figura 7 – Representação esquemática do brotamento polarizado de vírions mediante sinapse virológica.



Fonte: Adaptado de Gross e Thoma-Kress (2016).

Ademais, a progênie do HTLV pode formar biofilmes virais na superfície de células infectadas, ou seja, um aglomerado de vírions constituído por carboidratos, componentes de matriz extracelular (ECM, do inglês *extracellular matrix*), como o colágeno, e lectinas. Além disso, os biofilmes virais são compostos, em algumas partes, por HSPG agrina, proteínas de ligação, como galectina-3 e tetherina, e receptores de superfície O-glicosilados, como CD43 e CD45. Sob o biofilme viral, que pode se sobrepor aos contatos intercelulares, os vírions são transferidos para uma célula-alvo através de fendas sinápticas ou da periferia do contato intercelular (Figura 8) (Gross; Thoma-Kress, 2016).

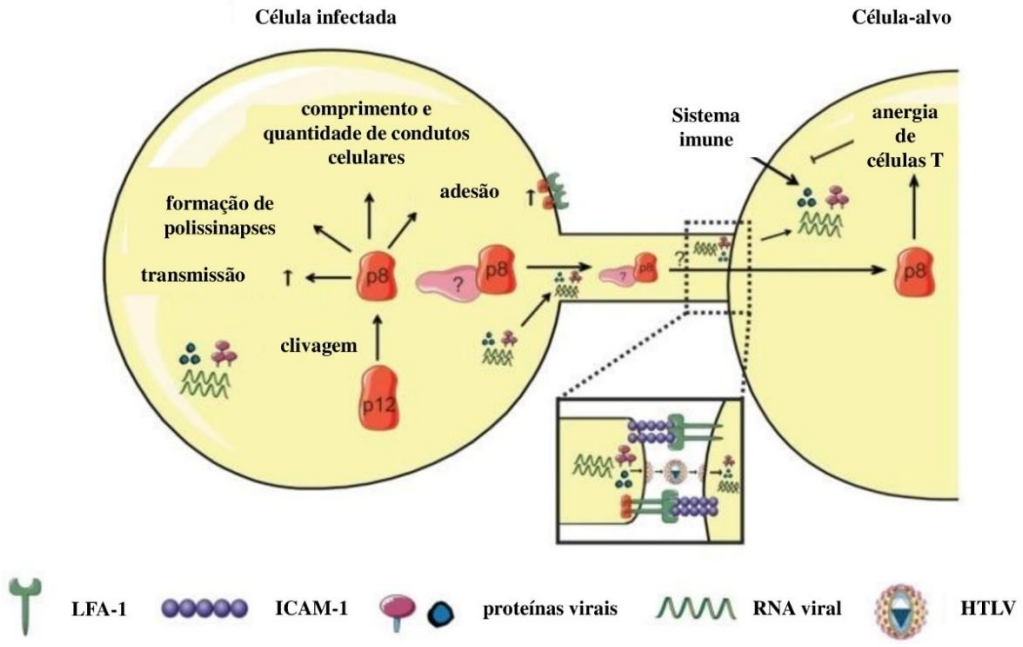
Figura 8 – Representação esquemática de transferência de biofilmes virais entre células.



Fonte: Adaptado de Gross e Thoma-Kress (2016).

Na transferência de partículas virais via condutos celulares, a formação de condutos é influenciada pela proteína p8 do HTLV (componente proteico derivado da clivagem proteolítica da proteína p12), que aumenta a extensão e a quantidade de condutos, os quais são formados através do crescimento direcionado de saliências, além de ocorrer o aumento da formação de polissinapses, o que potencializa a transmissão de partículas virais. Ademais, a proteína p8 proporciona o aumento da adesão de linfócitos T, que pode ocorrer através do agrupamento de LFA-1 na superfície dessas células. Nas áreas de contato entre um conduto e uma célula-alvo, ocorre a transferência de vírions (Figura 9) (Gross; Thoma-Kress, 2016).

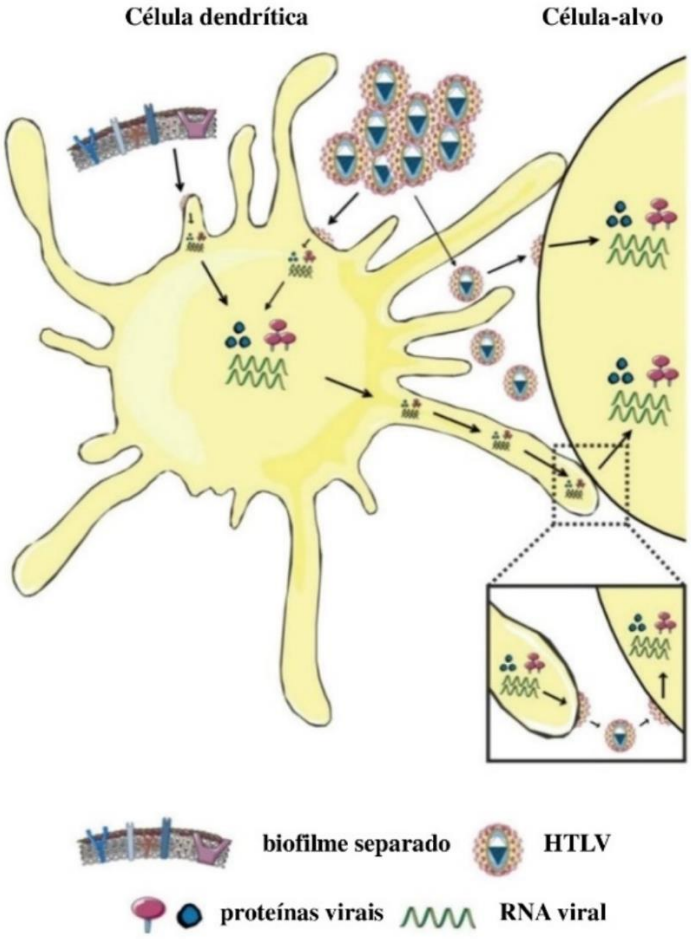
Figura 9 – Representação esquemática da transferência de vírions via condutos celulares.



Fonte: Adaptado de Gross e Thoma-Kress (2016).

Na transferência de partículas do HTLV via DC, as DC apresentadoras de antígenos podem capturar os vírions e os transferir para as células-alvo ou podem ser infectadas e transferir os vírions (Figura 10). Porém, ainda não está consolidada a ideia de que as DC colaborem para a viabilidade de uma infecção crônica pelo HTLV (Gross; Thoma-Kress, 2016).

Figura 10 – Representação esquemática da transferência de partículas virais via DC.



Fonte: Adaptado de Gross e Thoma-Kress (2016).

1.2.6. Transmissão, fatores de risco e prevenção

Os indivíduos infectados podem transmitir eficientemente o HTLV-1 e o HTLV-2 através de fluidos corporais contendo células com provírus, que podem ser transferidas para outro indivíduo através da via sexual, da via parenteral – como o uso compartilhado de objetos perfurocortantes ou através de transfusões de sangue e hemocomponentes – e da via vertical, ou seja, da mãe para o filho, mediante transferência transplacentária, parto ou amamentação (Paiva; Casseb, 2014; Gross; Thoma-Kress, 2016; Araujo, 2020; Millen; Thoma-Kress, 2022).

As infecções causadas pelo HTLV-1/2 podem ser transmitidas durante relações sexuais sem proteção através do contato com fluidos seminais ou vaginais contaminados. No caso do

HTLV-1, o aumento da carga proviral (PVL, do inglês *proviral load*) em células mononucleares do sangue periférico (PBMC, do inglês *peripheral blood mononuclear cells*) corresponde a um importante fator de risco para a transmissão pela via sexual. Considera-se que a transmissão do HTLV-1 e do HTLV-2 de um homem infectado para uma mulher suscetível é mais eficiente do que o inverso. Essa estimativa surgiu a partir de um estudo prospectivo realizado com casais sorodiscordantes, que revelou que a taxa de transmissão do HTLV-1 e do HTLV-2 de homem para a mulher era de 1,2 transmissão por ano e a taxa de transmissão da mulher para o homem era de 0,4 transmissão por ano (Paiva; Casseb, 2014; Rosadas; Menezes; Galvão-Castro; Assone; Miranda; Aragón; Caterino-de-Araújo; Taylor; Ishak, 2021). A limitação de transmissão do HTLV-1 e do HTLV-2 de mulheres para homens pode ser explicada por possíveis diferenças entre a infecciosidade do HTLV e a efetividade do sistema imune nas secreções cervicovaginais em comparação aos fluidos seminais (Ayerdi *et al*., 2023).

Podem-se verificar os seguintes fatores de risco para a infecção pelo HTLV-1 e pelo HTLV-2 transmitidas sexualmente: relações sexuais sem preservativo, variedade de parceiros sexuais, relações sexuais com usuários de drogas intravenosas (IDU, do inglês *intravenous drug users*) ou indivíduos provenientes de áreas endêmicas para HTLV, baixa escolaridade, baixo poder aquisitivo e histórico de infecções sexualmente transmissíveis (IST) ulcerativas ou não ulcerativas. As úlceras penianas e as lesões na mucosa vaginal resultantes, por exemplo, de IST representam importantes vantagens para a transmissão do HTLV-1 e do HTLV-2, pois potencializam a aquisição desses vírus. Ademais, alguns grupos sociais apresentam importante risco de exposição, como IDU, profissionais do sexo, recebedores de transfusão de sangue sem triagem para o HTLV e indivíduos com parceiros sexuais infectados (Paiva; Casseb, 2014; Rosadas; Menezes; Galvão-Castro; Assone; Miranda; Aragón; Caterino-de-Araújo; Taylor; Ishak, 2021; Martel; Gotuzzo, 2022).

Recomendam-se as seguintes ações preventivas contra a transmissão sexual do HTLV-1 e do HTLV-2: utilização de preservativos, rastreamento de parceiros sexuais de indivíduos soropositivos, aconselhamento de indivíduos soropositivos e implementação de programas direcionados para divulgação e educação em saúde sobre a infecção (Bandeira *et al*., 2021; Martel; Gotuzzo, 2022).

O compartilhamento de objetos perfurocortantes contaminados, como agulhas e seringas, é um importante veículo de transmissão parenteral do HTLV-1 e do HTLV-2, sendo que as maiores taxas de prevalência se associam a indivíduos que utilizam drogas injetáveis. Em algumas comunidades indígenas, a escarificação de pele e a autoflagelação constituem

importantes modos de transmissão do HTLV-1 e do HTLV-2 pela via parenteral (Rosadas; Menezes; Galvão-Castro; Assone; Miranda; Aragón; Caterino-de-Araújo; Taylor; Ishak, 2021). Os IDU correspondem a uma população-chave para a transmissão do HTLV-1 e do HTLV-2 e de outras IST, sobretudo por meio do compartilhamento de drogas injetáveis, da ocasião e da intensidade do consumo de drogas, do tipo de substância ilícita consumida, de relações sexuais sem preservativos, da variedade de parceiros sexuais e da realização de sexo com fins comerciais (Oliveira-Filho *et al*., 2022).

Após a descoberta do HTLV-1 e do HTLV-2, verificou-se que a transfusão sanguínea apresentava associação com elevadas taxas de transmissão desses retrovírus através da infusão de linfócitos infectados. A introdução da triagem de anticorpos para o HTLV-1 e para o HTLV-2 foi realizada em diversos países, visando prevenir a transmissão através de transfusões de sangue, além de possibilitar, em segundo plano, a análise estimada da prevalência da infecção pelos HTLVs-1/2 (Murphy, 2016). No Brasil, em 1993, com a implementação da obrigatoriedade da triagem sorológica para o HTLV-1 e para o HTLV-2 em hemocentros e postos de saúde, a transmissão desses retrovírus através de transfusão sanguínea tornou-se menos frequente (Castro *et al*., 2018). Em transplantes de aloenxertos, a transmissão do HTLV pode acontecer (Pise-Masison; Franchini, 2022).

Apesar das possibilidades de transmissão pela via transplacentária e pelo parto existirem, a maior frequência de casos de infecção pelo HTLV-1 e pelo HTLV-2 transmitida verticalmente ocorre através da amamentação. O leite de mães vivendo com o HTLV-1 e com o HTLV-2 pode conter células infectadas ou vírions livres que podem migrar para alguns locais nos filhos, como, por exemplo, o epitélio da orofaringe ou do trato gastrointestinal, sendo que o intestino delgado está sujeito à infecção caso as células infectadas ou os vírions livres tenham resistido à passagem pelo conteúdo ácido do estômago (Rosadas; Taylor, 2019; Rosadas; Menezes; Galvão-Castro; Assone; Miranda; Aragón; Caterino-de-Araújo; Taylor; Ishak, 2021; Millen; Thoma-Kress, 2022).

Estima-se que, até o desmame, um bebê possa ingerir um quantitativo de 10^8 células infectadas pelo HTLV-1 no leite materno. Durante a amamentação, os seguintes mecanismos estão associados à infecção de bebês através da migração das células infectadas de mães com HTLV para os filhos: invasão de um epitélio rompido, travessia de epitélio intacto, contato célula-célula e produção de partículas virais livres em células que podem atravessar o epitélio por transcitose. A transferência celular do HTLV durante a amamentação ainda não está definida. Sabe-se que as células epiteliais luminais da mama apresentam permissividade à

infecção pelo HTLV-1, proporcionando a ativação de células T primárias e a intensificação da infecção pelo HTLV-1 nas mães (Rosadas; Taylor, 2019).

Os seguintes fatores estão associados ao risco da ocorrência de transmissão vertical: amamentação prolongada, alta PVL no sangue e no leite de mães infectadas, correspondência de antígeno leucocitário humano (HLA, do inglês *human leukocyte antigen*) entre mães e filhos, coinfecção com *Strongyloides stercoralis* e mães com anticorpos anti-HTLV não testados oriundas de áreas endêmicas (Rosadas; Taylor, 2019; Itabashi; Miyazawa; Uchimaru, 2023). A triagem pré-natal do HTLV-1 e do HTLV-2 é uma medida preventiva crucial para evitar a disseminação viral. Além disso, as mães com HTLV necessitam de acompanhamento multidisciplinar para garantir uma assistência plena (Rosadas *et al*., 2018). No Brasil, a triagem pré-natal do HTLV-1 e do HTLV-2 tornou-se obrigatória em gestantes atendidas no Sistema Único de Saúde (SUS) conforme a Portaria GM/MS nº 3.148 e a infecção pelo HTLV-1 e pelo HTLV-2 passou a constar na lista nacional de notificação compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública do Ministério da Saúde (MS) do Brasil (Brasil, 2024).

A possibilidade de uma vacina contra o HTLV permanece um desafio, haja vista que a capacidade desse retrovírus de integrar o seu material genético no DNA do hospedeiro, assim como a existência de proteínas virais que modulam o sistema imune e a heterogeneidade genética do vírus, representam fortes obstáculos no desenvolvimento de uma vacina. Entretanto, verificou-se que as glicoproteínas de superfície do HTLV, isto é, as proteínas gp46 e gp21, que podem ser facilmente reconhecidas pelo sistema imune, são considerados potenciais antígenos para a produção de vacinas (Moin *et al*., 2023).

1.3. HETEROGENEIDADE GENÉTICA DO HTLV-1/2

O mapeamento de substituições nucleotídicas estáveis em variadas regiões geográficas tornou-se útil para classificar cepas virais em subtipos geográficos (Martinez; Al-Saleem; Green, 2019). Considerando as suas áreas endêmicas e as análises filogenéticas associadas à diversidade nucleotídica de regiões LTR e *env*, o HTLV-1 possui sete subtipos moleculares: um subtipo cosmopolita (HTLV-1a), cinco subtipos africanos (HTLV-1b, HTLV-1d, HTLV-1e, HTLV-1f e HTLV-1g) e um subtipo australo-melanésio (HTLV-1c), que é o subtipo que apresenta maior divergência do HTLV-1. O HTLV-1a, que possui uma grande distribuição mundial, pode ser dividido em cinco subgrupos: transcontinental (A), japonês (B), oeste-africano (C), norte-africano (D) e afro-peruano (E) (Nozuma *et al*., 2017; Jégado *et al*., 2019; Saito, 2019).

Através da metodologia de relógio molecular e de análise filogenética, verificou-se que o HTLV-1a, o HTLV-1b, o HTLV-1d, o HTLV-1e e o HTLV-1f teriam surgido em um período compreendido entre 27.000 e 8.200 anos atrás. O registro de casos de ATLL em indivíduos infectados pelo HTLV-1a (subtipo mais recorrente), HTLV-1b e HTLV-1c indicam que o desenvolvimento da ATLL não tem relação com o subtipo molecular do HTLV-1 mais frequente como acreditava-se anteriormente, sendo que ainda não foi confirmada se a menor frequência de casos de ATLL em indivíduos infectados pelo HTLV-1b ou HTLV-1c está associada à ausência das proteínas p12 e/ou p30, haja vista que não produzem tais proteínas auxiliares (Jégado *et al*., 2019).

Sabe-se que uma ampla variedade de NHP, como macacos e símios do Velho e Novo Mundo, estão infectados, de modo natural, pelo STLV-1, que possui uma elevada similaridade nucleotídica com o HTLV-1, sendo que suas cepas mais divergentes foram encontradas na espécie de NHP da Indonésia denominado *Macaca tonkeana*. Esse NHP apresenta relação com o HTLV-1c mais divergente (Jégado *et al*., 2019). O HTLV-2 possui quatro subtipos moleculares: HTLV-2a, HTLV-2b, HTLV-2c e HTLV-2d (Hall *et al*., 1992; Eiraku *et al*., 1996; Vandamme *et al*., 1998). O correspondente do HTLV-2 em símios, isto é, o STLV-2, encontra-se restrito a bonobos (*Pan paniscus*) mantidos em cativeiro em zoológicos e centros de primatas da Europa e dos Estados Unidos. Esses NHP são endêmicos no Congo (Ahuka-Mundeke *et al*., 2012; Ahuka-Mundeke *et al*., 2016).

1.4. ASPECTOS IMUNOPATOLÓGICOS E CLÍNICOS ASSOCIADOS À INFECÇÃO PELO HTLV-1 E PELO HTLV-2

Estima-se que cerca de 95% das pessoas com HTLV-1 não apresentam quaisquer manifestações clínicas associadas à infecção por esse retrovírus, porém, ao contrário do HIV, que se prolifera continuamente em quadros assintomáticos, o HTLV-1 representa uma infecção latente, sugerindo que apenas a infecção pelo HTLV-1 não é suficiente para promover alterações patológicas nos hospedeiros. Entretanto, verificou-se que o HTLV-1 pode evadir do sistema imune e causar alterações nos mecanismos de defesa dos hospedeiros infectados, como a indução da anergia de células T e aquisição de fenótipo regulatório de células T (Nakahata *et al*., 2023).

Logo, sugere-se que os diversos quadros clínicos associados ao HTLV-1 podem ser oriundos de modificações nos mecanismos da resposta resultante da infecção de linfócitos T $CD4^+$, os quais possuem cascatas de sinalização modificadas e fatores de transcrição ativados.

Nesse contexto, a proteína Tax do HTLV-1 apresenta papel essencial, pois regula importantes fatores de transcrição, como CREB/ATF, NF-κB, proteína ativadora 1 (AP-1, do inglês *activator protein 1*), fator de resposta sérica (SRF, do inglês *serum response factor*) e NFAT, além de contribuir na proliferação de células T e desencadear a ativação de uma série de cascatas de sinalização que envolvem proteínas contendo o domínio PDZ, como Rho-GTPases e Janus Quinase (JAK, do inglês *Janus kinase*)/transdutor de sinal e ativador da transcrição (STAT, do inglês *signal transducer and activator of transcription*), causando alterações nas cascatas de TGF-β (Quaresma *et al*., 2015; Nakahata *et al*., 2023).

Além disso, verificou-se que a expressão de Foxp3, que é um fator de transcrição crucial na diferenciação e homeostase de células T reguladoras (Treg), pode ser alterada em indivíduos infectados pelo HTLV-1, resultando no desenvolvimento de doenças autoimunes devido ao bloqueio da tolerância imunológica. Desse modo, as mudanças nas vias de sinalização e ativação de fatores de transcrição sob influência de proteínas virais mostram-se fundamentais na alteração da homeostase do sistema imunológico, gerando um ambiente de citocinas que modifica o fenótipo de células imunes, como a liberação de IFN-γ, que causa a estimulação da produção de células Th1, e de IL-4, que ocasiona a diferenciação de células Th2 (Quaresma *et al*., 2015).

Cerca de 10% dos indivíduos infectados pelo HTLV-1 podem desenvolver doenças associadas a esse vírus, o que inclui malignidades através da ocorrência da ATLL, enfermidades neurológicas e inflamatórias e complicações resultantes do aumento da suscetibilidade a infecções, como helmintíases e micobacterioses. Quanto aos quadros neurológicos e inflamatórios relacionados à infecção pelo HTLV-1, destacam-se a HAM, a uveíte por HTLV-1 (HU, do inglês *HTLV-1 uveitis*), a síndrome de Sjögren, a dermatite infecciosa associada ao HTLV-1 (HAID, do inglês *HTLV-1-associated infectious dermatitis*), a alveolite e a artropatia (Alvarez *et al*., 2016; Martin *et al*., 2016).

Além das condições clínicas supracitadas, a infecção pelo HTLV-1 pode apresentar associação com diversas complicações neurológicas, como a disfunção erétil, a bexiga hiperativa, a astenia, a hiperflexia e a polineuropatia (Poetker *et al*., 2011). Considerando que a maioria dos casos de infecção pelo HTLV-1 são assintomáticos, não se pode apontar a transmissão desse vírus como sendo a única causa das doenças associadas ao HTLV-1 (Alvarez *et al*., 2016).

A ATLL corresponde a um distúrbio linfoproliferativo maligno agressivo e fatal de linfócitos T $CD4^+$, sendo clinicamente classificada em duas categorias principais: a ATLL do

tipo agressiva, com células leucêmicas de crescimento acelerado, como a ATLL aguda e a ATLL do tipo linfoma; e a ATLL do tipo indolente, com células leucêmicas com crescimento lento, como a ATLL crônica e a ATLL latente (Gross; Thoma-Kress, 2016; Martin *et al*., 2016; Tan *et al*., 2021). As proteínas Tax e HBZ do HTLV-1 assumem papel fundamental na ATLL, proporcionando instabilidade genética, efeito inibitório da apoptose, expansão clonal contínua de células infectadas e oncogênese (Tan *et al*., 2021; Legrand *et al*., 2022).

A proteína Tax realiza a ativação de diversas vias de sinalização celular, como NF-κB, enquanto a proteína HBZ induz a hiperproliferação de células T $CD4^+$. No genoma de células ATLL, algumas mutações podem se acumular nos genes PLCG1, PKCB e CARD11, que são sequências associadas à via de sinalização de NF-κB e que também integram a sinalização do TCR. Ainda não existe resposta sobre como essas mutações e a atividade das proteínas Tax e HBZ proporcionam a ATLL no decorrer do período de latência. Assim, sugere-se, em última análise, que a infecção pelo HTLV-1 e a ocorrência de leucemogênese na ATLL apresentam correspondência com a via de sinalização do TCR e a ativação e diferenciação de células T $CD4^+$ (Tan *et al*., 2021).

A HAM pode ser definida como uma doença neurológica crônica caracterizada por uma desmielinização progressiva que afeta a medula espinhal, apresentando acúmulo de células infectadas e células T $CD8^+$ direcionadas para eliminar antígenos do HTLV-1 no líquido cefalorraquidiano (LCR) e tecidos nervosos, além de gerar altos níveis de PVL e expansão de células infectadas pelo HTLV-1 (Futsch *et al*., 2018; Umekita; Okayama, 2020). A HAM causa espasticidade e fraqueza nos membros inferiores, além de proporcionar distúrbios urinários. De modo distinto da ATLL, que possui particularidades patológicas multifacetadas, verificou-se que a incidência de HAM apresenta correlação com PVL do HTLV-1 e os locais de integração do DNA viral no genoma das células-alvo (Martin *et al*., 2016).

O perfil imunológico dominante em pacientes com HAM é Th1. Em células mononucleares do sangue periférico de indivíduos com HAM, pode-se observar a produção autônoma de citocinas inflamatórias, como IL-6 e fator de necrose tumoral α (TNF- α, do inglês *tumor necrosis factor α*) (Umekita; Okayama, 2020). A partir da década de 1990, foi confirmada, através de uma sequência de estudos em laboratório, a associação direta entre a infecção pelo HTLV-1 e a ocorrência de uveíte, ou seja, a primeira manifestação ocular identificada em indivíduos infectados por esse retrovírus (Kamoi, 2020).

A HU é uma inflamação intraocular resultante da infecção pelo HTLV-1, dado que as células T infectadas pelo HTLV-1 proporcionam o rompimento da barreira hemato-ocular e a

liberação de citocinas, causando uma resposta inflamatória no olho. Os indivíduos afetados por essa condição relatam sintomas como visão turva, moscas volantes, hiperemia ocular, dor e fotofobia, sendo que a opacidade vítrea e a vasculite retiniana são as características clínico-patológicas mais frequentes em indivíduos com HU (Kamoi, 2020; Kamoi *et al*., 2022).

A persistência da opacidade vítrea pode causar perda irreversível da visão, enquanto a vasculite retiniana afeta drasticamente as funções da retina. As células infectadas pelo HTLV-1 e as células inflamatórias podem ser encontradas na câmara anterior e no vítreo, proporcionando diversos danos aos tecidos intraoculares. Outras complicações oculares podem surgir a partir da HU, como glaucoma, catarata, edema macular cistoide e ceratoconjuntivite (Kamoi *et al*., 2022). No sangue periférico de indivíduos com HU, detecta-se uma maior PVL do que em assintomáticos, sendo que, no fluido ocular, a PVL é ainda mais expressiva (Kamoi, 2020).

Através de resultados obtidos a partir da realização das técnicas de reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês *polymerase chain reaction*) e de citometria de fluxo, diversos aspectos da patogênese da HU foram esclarecidos. Em pesquisas laboratoriais, verificou-se que os clones de células T adquiridos de tecidos intraoculares de indivíduos com HU revelaram a produção excessiva de citocinas, como IL-1α, IL-2, IL-3, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-γ e fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF, do inglês *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*). Essas evidências indicam que as intensas reações inflamatórias no olho de indivíduos com HU se devem à produção significativa de citocinas por células T infectadas (Kamoi; Mochizuki, 2012). Alguns estudos sinalizam que a via horizontal é o modo de transmissão do HTLV-1 mais comum em casos de HU (Zong *et al*., 2022).

A síndrome de Sjögren é uma doença autoimune crônica caracterizada por infiltração de linfócitos e resposta inflamatória em glândulas exócrinas, sobretudo glândulas lacrimais e salivares, causando a disfunção dessas glândulas através da destruição de ductos, além de gerar o ressecamento da cavidade oral, olhos, nariz, faringe e vagina. A partir de 1988, foi descrita a associação entre a síndrome de Sjögren e a infecção pelo HTLV-1. A alta PVL do HTLV-1 pode influenciar na produção de TGF-β, gerando formação fibrosa e modificações em glândulas salivares (Cruz; Catalan-Soares; Proietti, 2005; Liu; Chu, 2021).

Em 1990, foi estabelecida a associação entre uma condição dermatológica rara caracterizada por uma dermatite infantil exsudativa de caráter crônico e grave e a infecção pelo HTLV-1, sendo denominada HAID (Batista *et al*., 2019; Garcia *et al*., 2022). A HAID é transmitida principalmente da mãe para o filho mediante amamentação, cuja patogênese

apresenta as seguintes características: desregulação da resposta imune, superinfecção bacteriana e inflamação crônica. O estado pró-inflamatório da HAID apresenta associação com a proliferação de linfócitos T e o aumento dos níveis de IL-1, IL-6, TNF-α e IFN-α (Garcia *et al*., 2022).

Os indivíduos que possuem doenças inflamatórias relacionadas à infecção pelo HTLV-1, como HAM e HU, podem ter lesões teciduais significativas nos pulmões quando comparados aos indivíduos assintomáticos, apresentando aumento expressivo do nível de células Treg ($CD4^+$ e $CD25^+$), IL-2, IL-12, IFN-γ, MIP-1α, IP-10 e ICAM-1, o que evidencia, portanto, a relação entre doenças associadas ao HTLV-1 e a ocorrência de alveolites (Dias *et al*., 2018).

Outra condição clínica associada à infecção pelo HTLV-1 é a artropatia inflamatória crônica. A artropatia associada ao HTLV-1 é caracterizada pela proliferação sinovial com degradação óssea e cartilaginosa, sendo uma condição indistinta da artrite reumatoide. A proteína Tax do HTLV-1 regula a expressão de genes relacionados à inflamação e proliferação celular através de interações com fatores celulares e DNA proviral, ocasionando a produção de IL-1, IL-2, IL-2Ra, GM-CSF, TNF-α e ICAM-1. Esses produtos expressos induzem a migração de linfócitos infectados para o tecido sinovial. As células infectadas pelo HTLV-1 produzem TNF-α, proporcionando a proliferação sinovial, a degradação da cartilagem e a erosão articular (Cruz; Catalan-Soares; Proietti, 2005).

A infecção pelo HTLV-1 pode aumentar a susceptibilidade à tuberculose, pois esse retrovírus pode ocasionar a alteração na resposta inata do hospedeiro, potencializando a multiplicação de bacilos *Mycobacterium tuberculosis* e a gravidade da tuberculose. Sugere-se que o HTLV-1 influencia a redução de TNF-α, o qual possui relevante papel na proteção contra o *M. tuberculosis*. Evidenciou-se também que a produção de IL-1b e IL-17 foi menor em indivíduos com coinfecção HTLV-1 e *M. tuberculosis*, o que pode justificar o aumento da susceptibilidade às micobactérias (Dias *et al*., 2018).

A estrongiloidíase é uma doença parasitária causada por helmintos do gênero *Strongyloides*, especialmente *Strongyloides stercoralis*, apresentando associação com a infecção pelo HTLV-1. Na maioria dos casos dessa helmintíase, ocorre infecção leve, com poucos sintomas. Os indivíduos infectados pelo HTLV-1 apresentam maior suscetibilidade à estrongiloidíase, podendo obter um quadro grave de hiperinfecção (Malpica *et al*., 2019; Barreto *et al*., 2022). A coinfecção com o HTLV-1 resulta no aumento dos níveis de Tregs circulantes, aumento da produção de IFN-γ e regulação negativa de IL-4, IL-5, IL-13 e IgE, que são essenciais na imunidade contra parasitos (Malpica *et al*., 2019; Nakahata *et al*., 2023). A

estrongiloidíase pode atuar como um cofator na ocorrência de ATLL e indivíduos com a coinfecção *S. stercoralis*/HTLV-1 podem apresentar uma alta PVL (Blaizot *et al*., 2019).

O HTLV-1 pode influenciar a replicação do HIV. Os indíviduos com a coinfecção HTLV-1/HIV-1 apresentam risco estimado 2,5 vezes maior de contrair tuberculose (Laher; Ebrahim, 2018). Algumas evidências apontam a relação direta e indireta entre o HIV-1 e o HTLV-1, como a regulação positiva da infecção pelo HIV-1 através de partículas infecciosas e proteínas do HTLV-1, que causam a ativação de células T $CD4^+$; o aumento na síntese de antígenos e na concentração de mRNA do HTLV-1 após a coinfecção com o HIV-1; o aumento na replicação do HIV-1 em cultura de macrófagos com coinfecção HTLV-1/HIV-1; e a estimulação da replicação do HIV-1 pela proteína Tax do HTLV-1 mediante ativação de região LTR do HIV-1 (Araujo, 2020).

Ao contrário do HTLV-1, o HTLV-2 apresenta baixa patogenicidade, sendo associado a síndromes neurológicas subagudas e ao aumento da contagem de linfócitos, sem, no entanto, causar malignidades linfoides. A coinfecção HTLV-2/HIV-1 ainda não está plenamente compreendida e sugere-se que pode proporcionar uma progressão mais lenta para a AIDS. Diferentemente do HTLV-1, alguns pesquisadores sugerem que o HTLV-2 possa oferecer um papel protetor na ocorrência da AIDS, aumentando a sobrevida de indivíduos com a coinfecção, pois o HTLV-2 pode favorecer o predomínio de resposta protetora Th1 em oposição à resposta Th2, que é mais deletéria. Ademais, o HTLV-2 pode induzir uma redução na síntese de beta-quimiocinas, causando respostas imunes mais eficientes, além de modular a replicação do HIV-1 (Cavallari *et al*., 2013; González-Alcaide *et al*., 2016; Araujo; 2020; Casseb *et al*., 2020).

A baixa patogenicidade do HTLV-2 em comparação ao HTLV-1 pode ser justificada pela diferença na atividade de proteínas acessórias de ambos. No HTLV-1, as proteínas acessórias desempenham importante papel na infecciosidade, proliferação e transformação celular. Por outro lado, as proteínas acessórias do HTLV-2 apresentam impacto patogênico pouco expressivo. Isso pode ser constatado na diferença funcional entre as proteínas homólogas Tax-1 e Tax-2. A atividade da proteína Tax-1 resulta em danos ao DNA do hospedeiro, ativação de via não canônica de NF-κB e desregulação do processo de autofagia, o que não se percebe claramente na atuação da proteína Tax-2 (Casseb *et al*., 2020).

Outro exemplo que pode ser analisado é a distinção entre as proteínas HBZ do HTLV-1 e APH-2 do HTLV-2, que, apesar de terem funções parecidas, apresentam diferenças quase impercebíveis, influenciando na diferença de patogenicidade entre ambos os tipos do HTLV. A proteína HBZ apresenta maior estabilidade, além de proporcionar a contenção do produto da

resposta imune inata IRF-1, aumento da sinalização de TGF-β e expressão de Foxp3, causando alteração fenotípica de células T. Essas características não podem ser verificadas na proteína APH-2 (Casseb *et al*., 2020).

1.5. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA INFECÇÃO PELO HTLV-1/2

O diagnóstico laboratorial da infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2 se baseia, inicialmente, na triagem sorológica através da realização de métodos de alta sensibilidade, como o ensaio imunoenzimático (EIA ou ELISA, do inglês *enzyme immunoassay* ou *enzyme-linked immunosorbent assay*) de terceira geração, imunoensaio de quimioluminescência (CLIA, do inglês *chemioluminescent immunoassay*) e aglutinação de partículas (PA, do inglês *particle agglutination*), haja vista que permitem detectar possíveis anticorpos contra o HTLV-1 e o HTLV-2 em amostras de plasma ou soro de sangue total (Ji *et al*., 2020; Rosadas; Brites; Arakaki-Sanchez; Casseb; Ishak, 2021; Lopes *et al*., 2022). As amostras consideradas não reagentes sinalizam ausência de anticorpos anti-HTLV-1 e anti-HTLV-2 nas amostras analisas, excluindo, portanto, a possibilidade de infecção. Entretanto, para as amostras com resultado reagente ou indeterminado, recomenda-se a submissão aos testes confirmatórios sorológicos ou moleculares (Brasil, 2021).

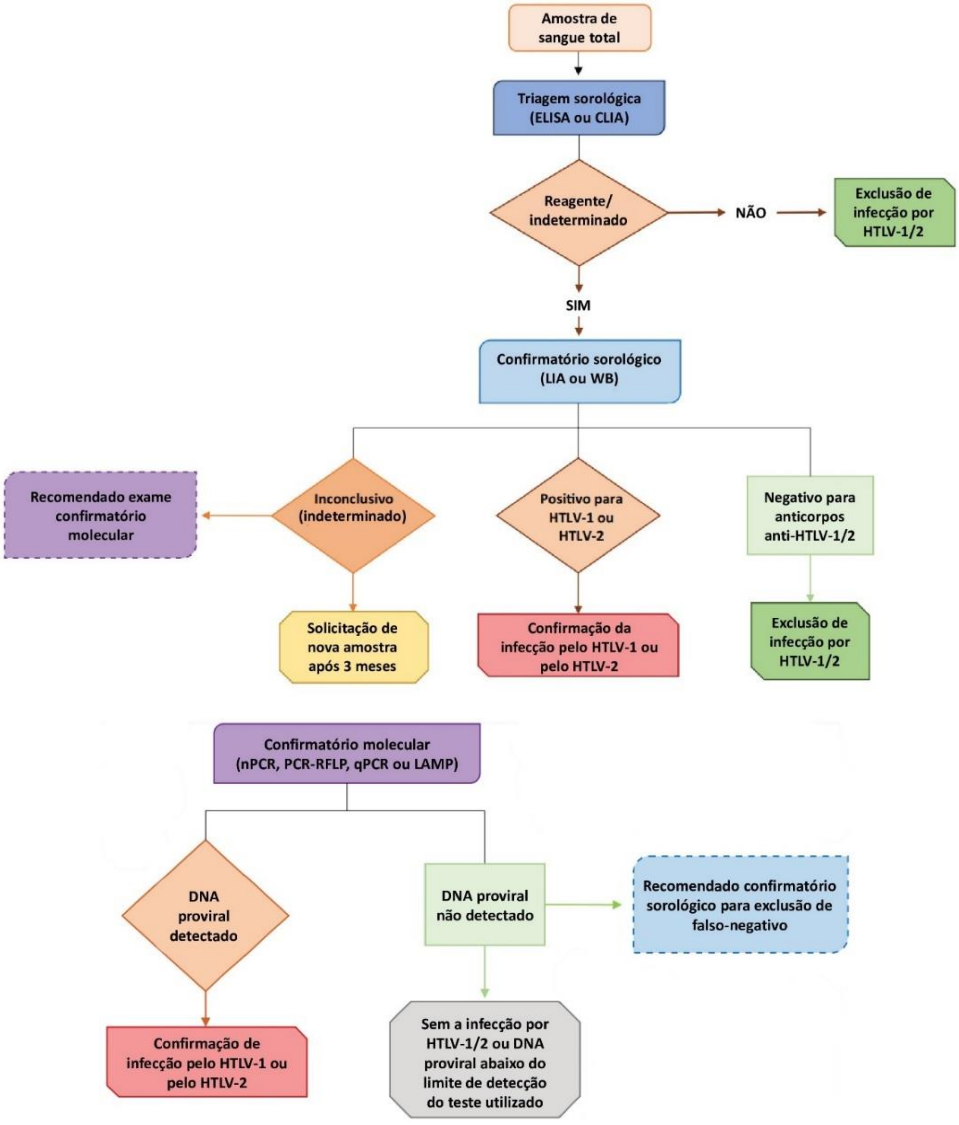
Isso se mostra necessário pelo fato desses ensaios de triagem estarem associados a uma importante taxa de resultados falsos-positivos, sobretudo em populações de baixa soroprevalência, sendo recomendados testes confirmatórios de alta especificidade para se chegar a um possível diagnóstico (Ji *et al*., 2020). Assim, a confirmação da infecção pelo HTLV-1/2 pode ser obtida através da realização do método de *Western blotting* (WB), que é o mais utilizado, permitindo reconhecer anticorpos para distintos antígenos do HTLV-1 e do HTLV-2. Além do WB, o método de imunoensaio de linha (LIA, do inglês *line immunoassay*) também pode ser aplicado (Brasil, 2021).

O método de LIA apresenta maior acurácia em relação ao WB. No caso de resultado indeterminado após a conclusão dos exames confirmatórios sorológicos, procede-se para a realização de exames confirmatórios moleculares, os quais possibilitam a amplificação de segmentos de DNA proviral em amostras contendo células infectadas pelo HTLV-1 e HTLV-2, como os diversos formatos de testes moleculares baseados na PCR, ou seja, reação de cadeia da polimerase aninhada (nPCR, do inglês *nested polymerase chain reaction*), reação de cadeia da polimerase para polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição (PCR-RFLP, do inglês *polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism*), reação de cadeia da polimerase em tempo real (qPCR, do inglês *real-time polymerase chain reaction*) e

amplificação isotérmica mediada por alça (LAMP, do inglês *loop-mediated isothermal amplification*) (Gonçalves *et al*., 2022).

O emprego de oligonucleotídeos específicos (iniciadores ou *primers*) direcionados a regiões genômicas do HTLV-1/2, como as regiões *pol* e pX (Tax), que são altamente conservadas e adequadas para a diferenciação entre HTLV-1 e HTLV-2, aliado à amplificação exponencial do material genômico viral, confere elevada especificidade e sensibilidade aos testes moleculares. Os resultados dos testes moleculares irão evidenciar a detecção ou a não detecção de DNA proviral nas amostras (Brasil, 2021). A sequência recomendada de realização dos exames laboratoriais para o diagnóstico da infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2 está ilustrada na Figura 11.

Figura 11 – Fluxograma de testes laboratoriais recomendados para o diagnóstico da infecção pelo HTLV-1/2.



Fonte: Adaptado de Brasil (2021).

1.6. TRATAMENTO DA INFECÇÃO PELO HTLV-1/2

A infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2 não possui tratamento medicamentoso que possa proporcionar a sua cura. As estratégias terapêuticas existentes consistem na aplicação de cuidados paliativos combinados com a administração de medicamentos direcionados para a resolução de quadros sintomáticos e complicações associados à infecção por esses retrovírus, como a ocorrência de HAM e ATLL (Rosadas; Brites; Arakaki-Sanchez; Casseb; Ishak, 2021; Aben-Athar *et al*., 2022). Assim, as diferentes estratégias terapêuticas variam conforme a apresentação clínica, evolução de sintomas e acesso a medicamentos. Além disso, as pessoas infectadas pelo HTLV-1 e HTLV-2 devem ter acompanhamento em serviços especializados de apoio psicossocial. É fundamental que seja realizado o diagnóstico precoce das doenças associadas à infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2 (Rosadas; Brites; Arakaki-Sanchez; Casseb; Ishak, 2021).

A infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2 é amplamente negligenciada apesar das doenças associadas a esses retrovírus representarem uma grave ameaça na saúde pública global. Consequentemente, essa infecção permanece marginalizada em termos de investigação científica robusta e desenvolvimento de possibilidades terapêuticas. Os quadros de câncer associados à infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2 são recorrentemente tratados com quimioterapia convencional, transplante de medula óssea ou aplicação de anticorpos monoclonais, porém, muitas vezes, representam alternativas de tratamento que não resolvem essas malignidades (Moin *et al*., 2023).

No Brasil, o atendimento de casos menos complexos de pessoas vivendo com o HTLV-1 e HTLV-2 pode ser efetuado na atenção primária à saúde. Contudo, em casos mais complexos, quando existe a necessidade de diagnóstico de doenças associadas à infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2 ou de manejo clínico desses indivíduos, o atendimento deve ser realizado nos níveis secundário ou terciário de atenção à saúde. A assistência concedida a pacientes soropositivos deve ser fornecida por equipes multiprofissionais (Aben-Athar *et al*., 2022).

1.7. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA INFECÇÃO PELO HTLV-1/2

No panorama global, estima-se que a infecção pelo HTLV-1 afeta, aproximadamente, entre 10 e 20 milhões de indivíduos, cuja distribuição varia conforme grupos étnicos, fatores comportamentais de risco e região geográfica estudada (Gessain; Cassar, 2012; Lopes *et al*., 2022). Na maioria das áreas analisadas, a distribuição de casos da infecção pelo HTLV-1 não é uniforme, dado que o HTLV-1 possui presença marcante em focos pequenos com alta

prevalência de casos de infecção por esse vírus, os quais estão próximos de áreas de endemia muito baixa. As áreas de maior endemicidade para o HTLV-1 no mundo correspondem ao sudoeste do Japão, ilhas do Caribe, América do Sul, África intertropical, partes do Oriente Médio e áreas específicas na Australo-Melanésia (Gessain; Cassar, 2012).

Ademais, estima-se que, no mundo, cerca de 800 mil indivíduos estejam infectados pelo HTLV-2 e a metade desse quantitativo global está concentrada nos Estados Unidos, afetando, portanto, a população geral principalmente pela via sexual. A infecção pelo HTLV-2 apresenta impacto relevante em populações nativas e IDU dos Estados Unidos (Murphy; Cassar; Gessain, 2015). O HTLV-2 está distribuído em populações indígenas do continente americano e tribos pigmeus na África, além de ter importante presença em IDU na América do Norte e na Europa Ocidental (Abad-Fernández *et al*., 2022).

No Brasil, estima-se que até 2,5 milhões de indivíduos apresentam a infecção pelo HTLV-1, sendo, portanto, considerada uma infecção endêmica em nível nacional, o que o torna o país com o maior número absoluto de casos. A alta prevalência de casos de infecção pelo HTLV-1 no país apresenta variação entre as regiões brasileiras, pois, por exemplo, verifica-se uma baixa ocorrência de casos na região Sul, porém existe uma elevada prevalência de casos nas regiões Norte e Nordeste (Glória *et al*., 2015). A Bahia é o estado brasileiro com maior prevalência do HTLV-1 e HTLV-2, seguido dos estados do Maranhão e do Pará, sendo que o HTLV-1aA, HTLV-2a e HTLV-2c apresentam as maiores frequências em distintos grupos populacionais brasileiros (Oliveira-Filho *et al*., 2019).

A cidade de Salvador, capital do estado da Bahia, foi considerada o epicentro da infecção causada pelo HTLV-1 no território brasileiro, com 1,48% da população da cidade apresentando a infecção, sendo que a maior prevalência de casos pode ser verificada entre mulheres negras ou pardas de baixa escolaridade (Orletti *et al*., 2021). Apesar da importante morbimortalidade em determinados casos, a maioria dos indivíduos com a infecção pelo HTLV-1 são assintomáticos, dificultando a identificação de casos, além de criar fluxos de transmissão silenciosos em áreas limitadas com hiperendemicidade (Vieira *et al*., 2021).

A infecção pelo HTLV-2, no Brasil, afeta entre 200 mil e 250 mil indivíduos (Murphy; Cassar; Gessain, 2015). Sabe-se que a infecção pelo HTLV-2 em diversas populações indígenas do Brasil é hiperendêmica, com taxas de prevalência que superam 30%, sobretudo nas comunidades Kayapó, que estão presentes Amazônia brasileira. A infecção pelo HTLV-1 também pode ser detectada nas comunidades indígenas, porém em menor prevalência ou em casos isolados (Abreu *et al*., 2022; Amianti *et al*., 2022).

A transmissão de mãe para filho é considerada a via frequente e mais relevante de manutenção do HTLV-2 em comunidades epidemiologicamente fechadas, como as populações indígenas da região amazônica do Brasil (Ishak; Ishak; Vallinoto, 2020). Isso pode ser atestado pela presença do HTLV-2c em indígenas do grupo Kayapó, sendo que a provável forma de transmissão entre esses indivíduos é a amamentação. Assim, considera-se que a hiperendemicidade do HTLV-2 em comunidades restritas é mantida pela amamentação cruzada, pois é uma prática habitual em várias populações nativas e representa a principal fonte nutricional dos lactentes desses agrupamentos (Ishak *et al*., 2001).

A detecção do HTLV-2c em novas aldeias do grupo indígena Kayapó, especificamente da etnia Xikrin, reafirmou a posição do HTLV-2c como um subtipo molecular hiperendêmico entre populações indígenas da região amazônica do Brasil, sendo que a distribuição geográfica do HTLV-2c entre os esses povos varia do norte ao sul da Amazônia brasileira (Braço *et al*., 2019). Entretanto, o HTLV-2c também foi detectado em áreas urbanas da região amazônica brasileira, como os municípios de Belém, capital do estado do Pará (Vallinoto *et al*., 2002), e de Manaus, capital do estado do Amazonas (Pontes *et al*., 2020). Além dos povos indígenas, diversos segmentos populacionais da Amazônia brasileira adquiriram a infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2, como indivíduos com HIV, doadores de sangue, imigrantes japoneses, populações ribeirinhas, gestantes e profissionais do sexo (Ishak *et al*., 1998; Vallinoto *et al*., 2004; Sequeira *et al*., 2012; Alencar *et al*., 2020; Souza *et al*., 2020; Lima *et al*., 2022).

Apesar de estarem situadas próximas de tribos ameríndias hiperendêmicas para o HTLV-2, algumas comunidades indígenas, após décadas de vigilância epidemiológica, aparentam ser livres da infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2 devido ao isolamento sociocultural, como os grupos Araweté, Asurini e Kaapor, revelando que a falta de contato interétnico é uma importante barreira contra a disseminação desses retrovírus entre povos tradicionais (Ishak *et al*., 2023; Vallinoto *et al*., 2019).

A infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2 foi registrada em indígenas da etnia Warao oriundos da Venezuela e que vivem refugiados no município de Belém devido à crise humanitária que assola o país de origem desses indivíduos (Abreu *et al*., 2022). Além da detecção do HTLV-2b entre esses indivíduos, ocorreu também a identificação anterior desse subtipo molecular em um doador de sangue em Belém e entre usuários de drogas ilícitas de diversos municípios do Pará (Santos *et al*., 2009; Oliveira-Filho *et al*., 2019).

No Pará, o HTLV-1 e o HTLV-2 também estão presentes em comunidades remanescentes de quilombos. Isso foi evidenciado pela confirmação da infecção por esses

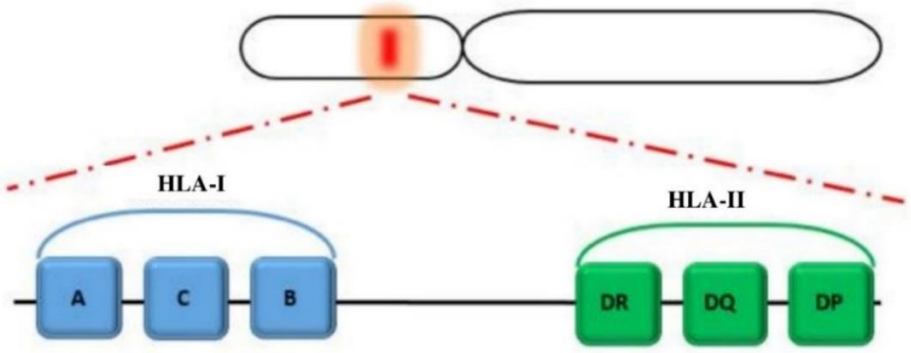
retrovírus em comunidades afro-brasileiras de vilarejos da Ilha do Marajó (Vallinoto *et al*., 2006). Detectou-se também a infecção pelo HTLV-1 em um indivíduo pertencente à comunidade quilombola de Itamoari, além de ter sido detectada a infecção pelo HTLV-2 em dois indivíduos da comunidade quilombola de São Benedito e em um indivíduo da comunidade quilombola de Arimandeua (Brito *et al*., 2022).

1.8. ATIVIDADE DOS ANTÍGENOS LEUCOCITÁRIOS HUMANOS DE CLASSES I E II NAS INFECÇÕES VIRAIS

Nas infecções virais, o complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês *major histocompatibility complex*), que, em humanos, é denominado antígeno leucocitário humano (HLA, do inglês *human leucocyte antigen*), proporciona a regulação da resposta imune adaptativa mediada por células contra os vírus ao reconhecer peptídeos virais, além de exercer controle sobre a replicação desses patógenos, oportunizando a catálise de outras respostas imunes (Medhasi; Chantratita, 2022; Nagler *et al*., 2021). As moléculas HLA correspondem a glicoproteínas de superfície celular que possuem papel de apresentar antígenos endógenos ou exógenos aos linfócitos T para que ocorra uma resposta imune eficiente. Por serem altamente poligênicos e polimórficos, as moléculas HLA podem estabelecer ligações com diversos peptídeos (Medhasi; Chantratita, 2022).

As moléculas do sistema HLA envolvidas na apresentação de antígenos são classificadas em duas categorias principais: HLA de classe I (HLA-I), expresso na maioria das células nucleadas, cuja principal função é apresentar peptídeos derivados de proteínas endógenas aos linfócitos T $CD8^+$; e HLA de classe II (HLA-II), cuja expressão é restrita às células apresentadoras de antígenos (APC, do inglês *antigen-presenting cells*), como macrófagos, linfócitos B e células dendríticas, sendo responsável por apresentar peptídeos exógenos aos linfócitos T $CD4^+$. Os principais genes clássicos do HLA-I são HLA-A, HLA-B e HLA-C, enquanto os do HLA-II incluem HLA-DR, HLA-DQ e HLA-DP. Os *loci* que codificam essas moléculas estão presentes no braço curto do cromossomo 6 (Figura 12) (Souri; Ahmadieh, 2024).

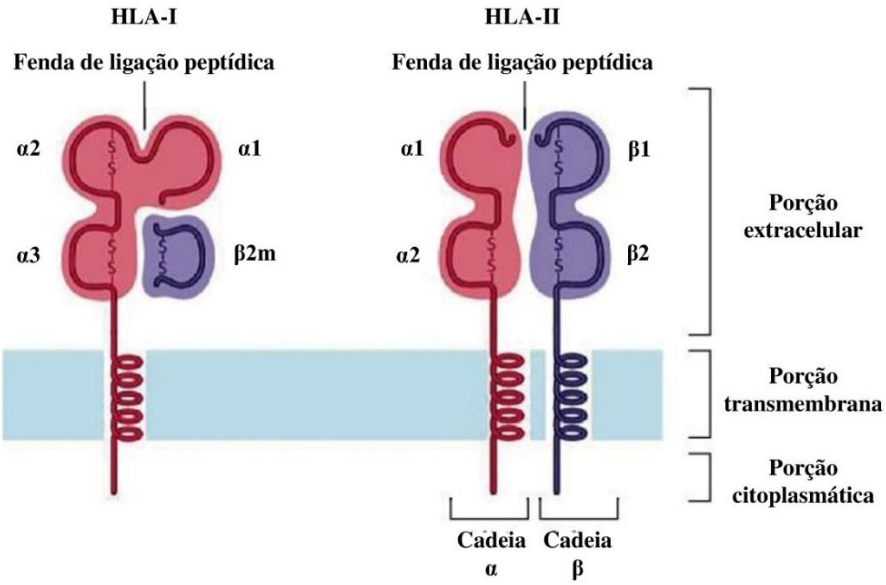
Figura 12 – Representação esquemática dos *loci* HLA-I/II no braço curto do cromossomo humano 6.



Fonte: Souri e Ahmadieh (2024).

Os três componentes não covalentemente ligados que constituem as moléculas HLA-I são três: uma cadeia pesada glicosilada de 45 kDa (quilodalton), uma cadeia leve de 12 kDa denominada beta-2-microglobulina (β2M) e um peptídeo endógeno curto constituído de 8 a 10 aminoácidos. A cadeia pesada dos HLA-I é constituída por uma porção citoplasmática contendo 30 resíduos, uma porção transmembrana com 40 resíduos e uma porção extracelular, que é dividida em três domínios semelhantes a imunoglobulinas com cerca de 90 resíduos cada um (α1, α2 e α3). Sabe-se que os domínios α1 e α2 proporcionam a formação do sulco de ligação de peptídeos, isto é, o local que contém os sítios que considerados determinantes para o encaixe dos peptídeos e para a interação com receptores de linfócitos T. As moléculas HLA-II apresentam duas cadeias α e β, sendo que cada uma possui dois domínios, ou seja, α1 e α2, β1 e β2, e um autopeptídeo presente em uma fenda constituída pelos domínios α1 e β1 (Figura 13) (Wang; Claesson, 2014).

Figura 13 – Representação esquemática dos componentes estruturais das moléculas de HLA-I e de HLA-II.

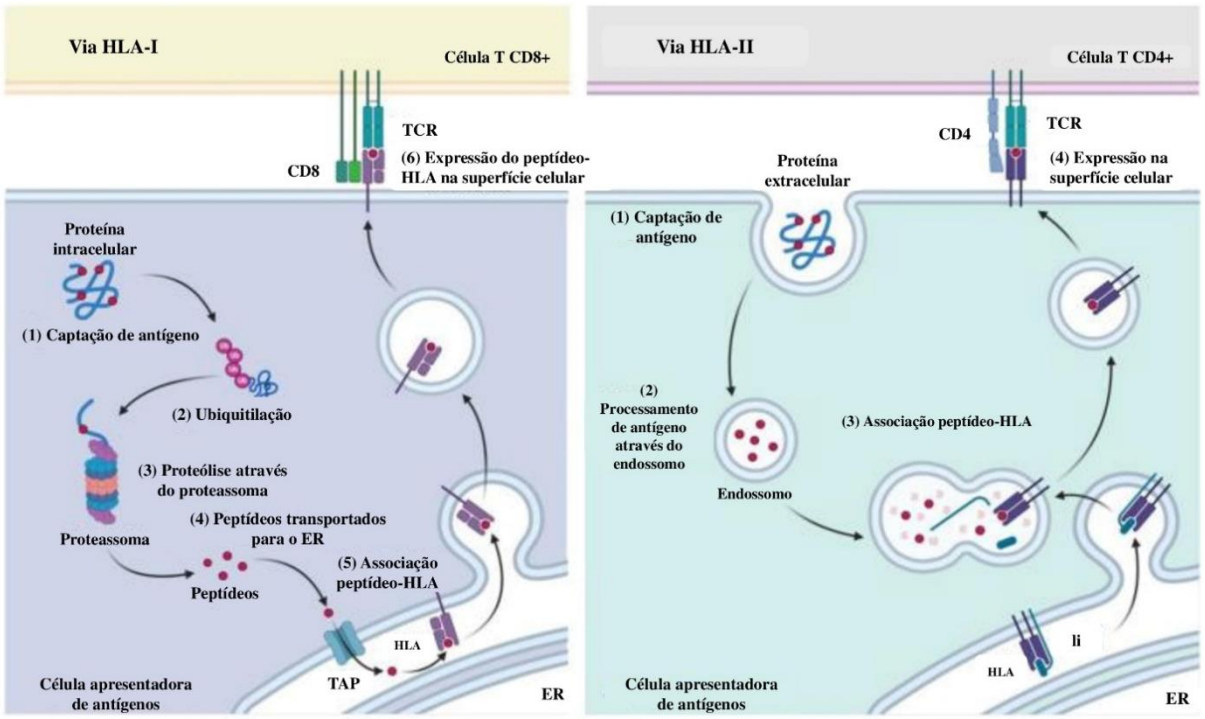


Fonte: Adaptado de Medhasi e Chantratita (2022).

As moléculas HLA-I são conhecidas por apresentar peptídeos oriundos de proteínas intracelulares, como autoproteínas e componentes proteicos de patógenos virais ou bacterianos, aos linfócitos T $CD8^+$. No ambiente intracelular, essas proteínas são condicionadas à degradação, mas, inicialmente, são marcadas com ubiquitina para que, em seguida, sejam quebradas pelo proteassoma, um componente multiproteico responsável por realizar a clivagem proteolítica de proteínas em pequenos fragmentos de peptídeos. Consequentemente, os peptídeos são conduzidos para o ER através do transportador associado ao processamento de antígenos (TAP, do inglês *transporter associated with antigen processing*). No ER, uma rede proteínas chaperonas e o complexo de carregamento de peptídeos proporcionam o carregamento dos peptídeos nas cadeias pesadas do HLA-I conectadas à β2m para que seja possível formar um complexo HLA-I/peptídeo. Esse complexo sai do ER e é direcionado para a superfície celular mediante o auxílio do complexo de Golgi. Por fim, o peptídeo pode ser reconhecido pelo TCR dos linfócitos T $CD8^+$ (Figura 14) (Fuentes *et al*., 2024; Goulder; Walker, 2014).

As moléculas HLA-II possuem a função de apresentar componentes exógenos aos linfócitos T $CD4^+$. Inicialmente, as proteínas extracelulares são internalizadas pela APC mediante os processos de endocitose ou fagocitose. Tais proteínas são degradadas em peptídeos no interior de compartimentos endossomais e lisossomais acidificados. As moléculas HLA-II recém-sintetizadas se reúnem no ER conectadas às cadeias invariantes (li). Em seguida, o complexo HLA-II-li é conduzido até os endossomos tardios para que ocorra a degradação de li. Após esse processamento, a formação do complexo entre HLA-II e peptídeo é concluído, sendo conduzido para a superfície celular para que o peptídeo possa ser reconhecido pelo TCR dos linfócitos T $CD4^+$ (Figura 14) (Fuentes *et al*., 2024).

Figura 14 – Representação esquemática da dinâmica de processamento da associação peptídeo-HLA-I/II.



Fonte: Adaptado de Fuentes *et al*. (2024).

1.9. RELEVÂNCIA DA BIOINFORMÁTICA EM PESQUISAS ENVOLVENDO ANÁLISES DE PROTEÍNAS VIRAIS

Nas últimas décadas, a aplicação de recursos tecnológicos de alto rendimento no estudo de sistemas de biologia molecular impactou significativamente a pesquisa biomédica, favorecendo pesquisadores no estudo sistemático de genomas, de transcriptomas e de proteomas de várias entidades biológicas. Entre as diversas biomoléculas existentes, as proteínas apresentam significativa complexidade de organização molecular e celular, além de estarem envolvidas na maioria dos processos fisiológicos e patológicos (Chen; Huang; Wu, 2017).

Nesse sentido, diversos pesquisadores manifestaram o interesse de aplicar técnicas proteômicas de alto rendimento em pesquisas envolvendo análises de biologia estrutural e de processos patológicos, sendo desenvolvidos, por exemplo, bancos de dados associados a proteínas e ferramentas de *software* de análise de dados proteômicos e de modelagem tridimensional em nível atômico, a fim de que fosse possível organizar e disponibilizar informações que são úteis em análises sequenciais, físico-químicas e evolutivas (Chen; Huang; Wu, 2017; Carugo; Djinović-Carugo, 2023).

A bioinformática corresponde a um campo interdisciplinar que visa aplicar ferramentas computacionais no estudo de macromoléculas biológicas, auxiliando na organização, compreensão e armazenamento de informações. Como uma subárea da bioinformática, a bioinformática estrutural de proteínas tem como objetivo estudar a participação de macromoléculas proteicas em mecanismos celulares (Bilotta; Tradigo; Veltri, 2018).

No contexto das interações entre proteínas de vírus e de hospedeiros, o desenvolvimento de abordagens computacionais possibilitou predizer e elucidar características dessas interações, as quais se mostram fundamentais no processo de infecção por esses agentes, como o mecanismo de fusão do envelope viral à membrana de uma célula hospedeira, e na geração da resposta imune efetuada pelos hospedeiros. As ferramentas computacionais possibilitaram compreender eficientemente as propriedades estruturais e funcionais de proteínas de fusão virais, permitindo realizar análises comparativas entre diferentes parâmetros (Mei; Zhu, 2014; Sharma; Priyadarshini; Vrati, 2015; Halder *et al*., 2018; Tuerkova; Kasson, 2021). No que tange à elucidação das propriedades imunológicas associadas à atividade de proteínas virais, os recursos computacionais, por exemplo, podem descrever a afinidade de ligação entre peptídeos virais e moléculas HLA-I/II (Nagler *et al*., 2021).

As predições computacionais sobre a biologia estrutural dos retrovírus foram fundamentais para entender os mecanismos necessários para a plenitude do funcionamento das proteínas de fusão desses vírus, oferecendo *insights* sobre a entrada viral na célula hospedeira, além de servirem como suporte prévio para a formulação de hipóteses testáveis experimentalmente para a interpretação de resultados gerados pelos experimentos (Tuerkova; Kasson, 2021). Os recursos computacionais já foram usados para analisar tanto alterações estruturais na proteína gp21 do HTLV-1/2 quanto a ocorrência de substituições aminoacídicas na cadeia polipeptídica dessa proteína de fusão viral (Mota-Miranda *et al*., 2013).

Considerando a importante presença do HTLV-1 e do HTLV-2 na Amazônia brasileira, especialmente em populações vulneráveis e desassistidas, as análises computacionais podem possibilitar a compreensão das propriedades bioquímicas e imunológicas de proteínas estruturais e não estruturais desses retrovírus, sobretudo a proteína gp21, que representa um potencial alvo no desenvolvimento de fármacos e vacinas antirretrovirais. Apesar de significativa semelhança nas sequências aminoacídicas da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2, as pequenas diferenças nessas sequências podem resultar em variações nas propriedades bioquímicas e imunológicas que justifiquem a patogenicidade diferenciada entre esses dois tipos de HTLV.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Analisar comparativamente as propriedades bioquímicas e imunológicas da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Detectar eventuais substituições aminoacídicas em sequências alinhadas da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2.
- Determinar o peso molecular, a carga líquida, o ponto isoelétrico e as polaridades residuais da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2.
- Predizer o conteúdo de estruturas secundárias e sua localização na cadeia polipeptídica da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2.
- Identificar os potenciais sítios de modificações pós-traducionais da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2.
- Avaliar a antigenicidade derivada dos parâmetros de hidrofilicidade, acessibilidade e flexibilidade da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2.
- Verificar a afinidade de ligação aos HLA-I/II de peptídeos derivados da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. TIPO DE ESTUDO E ASPECTOS ÉTICOS

Trata-se de um estudo *in silico*, transversal e descritivo, com abordagem quali-quantitativa, cujos resultados foram obtidos a partir da utilização de ferramentas de bioinformática de livre acesso e previamente validadas pela comunidade científica.

Esta pesquisa dispensou apreciação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e/ou pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) para que fosse executada, haja vista que, conforme os incisos II, III e V do Parágrafo Único do Artigo 1º da Resolução 510/2016 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), pesquisas que utilizem informações de acesso/domínio público ou com bancos de dados cujas informações são agregadas, sem possibilidade de identificação individual, não são registradas nem avaliadas pelo Sistema CEP/CONEP.

No entanto, por acessar sequências aminoacídicas derivadas por tradução conceitual de sequências nucleotídicas obtidas de material biológico, este estudo foi cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o número A8AC796 (Anexo 1), conforme preconizado pela Lei 13.123/2015 e regulamentado pelos Decretos 8.772/2016 e 10.844/2021 da Presidência da República.

3.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Quanto aos critérios de inclusão, foram selecionadas as regiões nucleotídicas codificantes da proteína gp21 correspondentes à sequência de referência (RefSeq) do genoma do HTLV-1/2 depositadas no banco de dados GenBank (disponível no site <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Em relação aos critérios de exclusão, foram descartados quaisquer fragmentos peptídicos que não estavam assinalados como componentes estruturais da proteína alvo deste estudo.

3.3. COLETA, PROCESSAMENTO E ANÁLISE DE DADOS

3.3.1. Obtenção das sequências aminoacídicas da proteína gp21

As sequências aminoacídicas da proteína gp21 do HTLV-1/2, derivadas por tradução conceitual de suas respectivas sequências nucleotídicas depositadas no banco de dados GenBank, foram acessadas através da plataforma NCBI Virus (disponível no site <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/virus/vssi/#/>). Tal plataforma, mantida pelo *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) do *National Institutes of Health* (NIH) dos Estados Unidos, congrega informações genéticas de diversos vírus, como sequências

nucleotídicas e aminoacídicas, sendo subsidiada por uma colaboração internacional denominada *International Nucleotide Sequence Database Collaboration* (INSDC), na qual diversos pesquisadores trocam dados de forma diária. A referida plataforma reúne informações do principal repositório do NCBI, isto é, o GenBank, que é um amplo banco de dados genéticos de livre acesso.

Por meio da barra de buscas da opção "*Search by virus*" da plataforma NCBI Virus, foi adicionado o nome de apenas um dos tipos virais de interesse por vez (HTLV-1 ou HTLV-2). Após a geração de resultados para o HTLV-1 ou para o HTLV-2, foi considerada a opção "*Advanced filters for GenBank sequences*", com a disponibilização de diversas sequências nucleotídicas e aminoacídicas, além do genoma de referência. No filtro "*Proteins*" da opção "*Refine Results*", foi adicionado o nome da proteína de interesse do estudo (gp21), a fim de que a busca por sequências aminoacídicas fosse direcionada apenas para essa proteína. Depois, as sequências aminoacídicas da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 foram salvas no formato FASTA.

3.3.2. Alinhamento múltiplo das sequências aminoacídicas da proteína gp21

A partir da utilização do servidor Clustal Omega (disponível no site <https://www.ebi.ac.uk/jdispatcher/msa/clustalo>), cuja programação foi realizada por Sievers *et al*. (2011), efetuou-se o alinhamento múltiplo das sequências aminoacídicas da proteína gp21 do HTLV-1/2. A ferramenta Clustal Omega efetuou o alinhamento mediante o uso de árvores-guia semeadas e modelos ocultos de Markov (HMMs, do inglês *Hidden Markov Models*) para que fossem fornecidos níveis de identidade percentuais entre as sequências de interesse.

Através do alinhamento múltiplo das sequências aminoacídicas realizado pela ferramenta Clustal Omega, foi possível verificar posições em que os aminoácidos alinhados estavam conservados e posições onde ocorriam substituições aminoacídicas conservativas, semiconservativas e não conservativas, além de permitir o reconhecimento de *gaps* (lacunas), que representam possíveis deleções ou inserções de aminoácidos em determinadas posições nas sequências alinhadas.

A substituição aminoacídica de caráter conservativo é caracterizada pela troca de um aminoácido por outro que compartilha propriedades estruturais e funcionais similares. Na substituição semiconservativa, ocorre a troca de um aminoácido por outro que apresenta apenas algumas propriedades em comum, proporcionando impactos moderados na estrutura e na função de uma proteína. A substituição não conservativa refere-se à troca de aminoácidos com

propriedades muito distintas, o que pode resultar em impactos expressivos na estrutura e na função de uma proteína.

3.3.3. Determinação do peso molecular, da carga líquida, do ponto isoelétrico e das polaridades residuais da proteína gp21

As sequências primárias da proteína gp21 do HTLV-1/2 foram utilizadas como arquivos de entrada no servidor PEPSTATS (disponível no site <https://www.ebi.ac.uk/jdispatcher/seqstats/emboss_pepstats>) da plataforma *European Molecular Biology Open Software Suite* (EMBOSS), que reúne um conjunto de softwares de código aberto (Rice; Longden; Bleasby, 2000). Essa ferramenta permitiu que ocorresse a determinação de diferentes características físico-químicas da proteína gp21, como peso molecular, carga líquida, ponto isoelétrico (pI) e polaridades residuais. Como parâmetro de análise das sequências aminoacídicas, as cargas terminais dos aminoácidos foram incluídas, mas sem considerar pesos monoisotópicos.

O peso molecular de uma proteína, que pode ser expresso em kDa, refere-se à força que atua sobre a massa molecular dessa macromolécula; a carga líquida de um componente proteico corresponde à carga elétrica resultante da substância, ou seja, a soma algébrica das cargas elétricas dos aminoácidos que compõem a proteína, que pode ser positiva ou negativa; o pI equivale ao valor do potencial hidrogeniônico (pH) no qual uma proteína possui carga líquida nula, isto é, a proteína apresenta-se eletricamente neutra, com quantidade de cargas positivas e negativas em equilíbrio.

Em relação às polaridades residuais, que se referem ao momento de dipolo elétrico dos aminoácidos que estruturam a proteína gp21, os dados obtidos a partir da ferramenta PEPSTATS foram apresentados na forma de gráficos de setores, considerando as diferenças de classificação dos aminoácidos quanto à sua cadeia lateral, que podem ser apolares, polares neutros (sem carga), polares básicos (com carga positiva) ou polares ácidos (com carga negativa).

3.3.4. Predição de estruturas secundárias da proteína gp21

Nesta etapa, foi utilizada a ferramenta virtual PREDATOR (disponível no site <https://npsaprabi.ibcp.fr/NPSA/npsa_predator.html>) da plataforma *Network Protein Sequence @nalysis* (NPS@) (Combet *et al*., 2000), que realizou a predição do conteúdo de estruturas secundárias localizadas na cadeia polipeptídica da proteína gp21 do HTLV-1/2, como

alfa-hélices, folhas-beta pregueadas e regiões intrinsecamente não estruturadas (bobinas aleatórias).

Essa predição ocorreu através da adição das sequências aminoacídicas da proteína-alvo na ferramenta supracitada, estabelecendo a largura de saída em 70 aminoácidos e o assinalamento de dados de estruturas secundárias do tipo DSSP. A ferramenta indicou tanto a posição das estruturas secundárias, através da geração de um código de cores que se sobrepôs à estrutura primária da proteína gp21, quanto a abundância dessas estruturas na macromolécula, que foi evidenciada, posteriormente, em gráficos de barras.

3.3.5. Identificação de potenciais sítios de modificações pós-traducionais da proteína gp21

A busca de potenciais sítios de modificações pós-traducionais nas sequências aminoacídicas da proteína gp21 do HTLV-1/2 foi efetuada pela ferramenta PROSCAN (disponível no site <https://npsa-prabi.ibcp.fr/NPSA/npsa_proscan.html>) da plataforma NPS@ (Combet *et al*., 2000), com nível de similaridade de 100% (sem incompatibilidades).

Esse recurso computacional fez a análise da sequência de aminoácidos da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 e realizou o reconhecimento de sítios que apresentavam propensão a sofrer modificações pós-traducionais, além de ter determinado a classificação de cada potencial modificação identificada. Os dados gerados pela ferramenta PROSCAN foram representados na forma de gráficos de radar, indicando os tipos e a quantidade de modificações pós-traducionais potencialmente localizadas na proteína de interesse.

Tais modificações são mecanismos que permitem modular a função da proteína, a fim de que possa se adaptar a estímulos intracelulares ou extracelulares de forma rápida. Uma ampla gama de proteínas sofre distintas formas de modificações pós-traducionais, ou seja, alterações químicas, caracterizadas por alterações covalentes na cadeia polipeptídica mediante a adição ou retirada de grupos químicos em resíduos de aminoácidos, que influenciam na atividade, antigenicidade e função biológica de proteínas já formadas.

3.3.6. Avaliação da antigenicidade por parâmetros de hidrofilicidade, acessibilidade e flexibilidade da proteína gp21

Ainda no ambiente virtual da plataforma NPS@ (Combet *et al*., 2000), a ferramenta PCPROF (disponível no site <https://npsa-prabi.ibcp.fr/NPSA/npsa_pcprof.html>) foi utilizada mediante a inserção de sequências aminoacídicas para que a antigenicidade da proteína gp21 fosse calculada a partir de parâmetros como a hidrofilicidade, a acessibilidade e a flexibilidade

dos seus aminoácidos constituintes, com tamanho de janela de análise de 7 resíduos. Os dados fornecidos por esse algoritmo foram expressos como gráficos de linhas, destacando os valores individuais característicos de cada agrupamento de aminoácidos das sequências referentes à proteína gp21 do HTLV-1/2.

A hidrofilicidade se refere à propriedade de estruturas polares de efetuar interações com uma solução aquosa, a acessibilidade representa a capacidade de uma molécula ser acessível ou não a outras moléculas do meio circundante para estabelecer interações biológicas e a flexibilidade compreende a habilidade de movimentação e de alteração da conformação das moléculas para atingir um certo objetivo em processos químicos ou biológicos. Por sua vez, a antigenicidade é definida como a capacidade de um antígeno ser reconhecido por um anticorpo, sendo, em última análise, determinada pela convergência das três propriedades anteriores.

3.3.7. Verificação da afinidade de ligação aos HLA-I/II de peptídeos derivados da proteína gp21

Para que fosse verificada a afinidade de ligação de peptídeos derivados da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 aos alelos de HLA-I/II, foi empregada a ferramenta TepiTool (disponível no site <http://tools.iedb.org/tepitool/>) (Paul *et al*., 2016), utilizando o método consenso na configuração padrão para baixo número de peptídeos e considerando os alelos de HLA-I A/B e HLA-II DP/DQ/DR mais frequentes. Os dados obtidos foram organizados em tabelas.

3.3.8. Tabulação e plotagem dos dados

Após a obtenção de diferentes tipos de variáveis quantitativas geradas a partir das ferramentas computacionais utilizadas, os dados foram tabulados e plotados na forma de gráficos através do programa Excel 365 (Microsoft).

4. RESULTADOS

Considerando a RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 (com 176 resíduos, cujo código de acesso no GenBank é NP_955621.1) e do HTLV-2 (com 178 resíduos, cujo código de acesso no GenBank é NP_954569.1), verificou-se, através do alinhamento múltiplo, que o nível de identidade percentual entre ambas foi de 80,68%, indicando, assim, uma significativa similaridade entre as sequências analisadas.

Além disso, ainda por meio do alinhamento múltiplo, foi possível detectar a ocorrência de substituições aminoacídicas e *gaps* em algumas posições das duas sequências primárias alinhadas, sendo que em 24 posições ocorreram substituições conservativas, sinalizando, portanto, uma expressiva conservação entre grupos distintos de propriedades físico-químicas semelhantes. Entretanto, foi possível também reconhecer substituições semiconservativas em 2 posições, substituições não conservativas em 8 posições e *gaps* (inserções/deleções) em 2 posições (Figura 15).

Figura 15 – Alinhamento múltiplo da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2.

```
p21 (HTLV-1)     AVPVAVWLVSALAMGAGVAGRITGSMSLASGKSLLHEVDKDISQLTQAIVKNHKNLLKIA   60
p21 (HTLV-2)     AVPIAVWLVSALAAGTGIAGGVTGSLSLASSKSLLLEVDKDISHLTQAIVKNHQNILRVA   60
                 ***:*********#*:*:**#:***:****.****#*******:*********:*:*::*

p21 (HTLV-1)     QYAAQNRRGLDLLFWEQGGLCKALQEQCCFLNITNSHVSILQERPPLENRVLTGWGLNWD   120
p21 (HTLV-2)     QYAAQNRRGLDLLFWEQGGLCKAIQEQCCFLNISNTHVSVLQERPPLEKRVITGWGLNWD   120
                 **********************:*********:*:***:********:**:********

p21 (HTLV-1)     LGLSQWAREALQTGITLVALLLLVILAGPCILRQLRHLPSRVRY  PHYSLINPESSL     176
p21 (HTLV-2)     LGLSQWAREALQTGITILALLLLVILFGPCILRQIQALPQRLQNRHNQYSLINPETML     178
                 ****************::********#*******::#**.*::#--#:*******:#*

* Sem substituição
: Substituição conservativa
. Substituição semiconservativa
# Substituição não conservativa
- Inserção/deleção
```

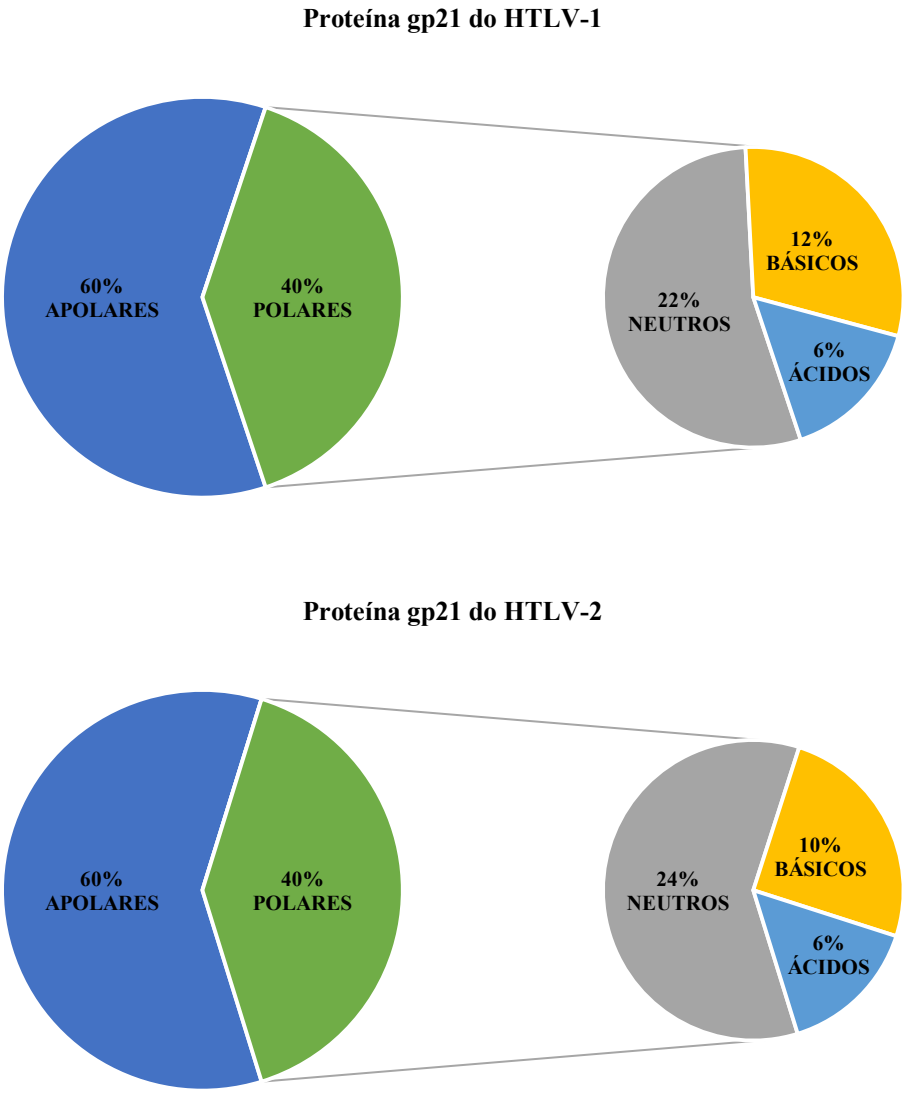
Fonte: Próprio autor.

Legenda: Na ilustração, é possível observar o alinhamento da sequência aminoacídica de referência da proteína gp21 do HTLV-1 em relação à do HTLV-2, cuja simbologia dos aminoácidos (representados em letras maiúsculas) pode ser interpretada segundo o Anexo 2. No lado esquerdo da figura, a numeração indica a quantidade de aminoácidos dispostos de 60 em 60 unidades até o fim das sequências alinhadas. Embaixo das sequências de aminoácidos alinhadas, percebe-se a simbologia adotada para o reconhecimento de substituições aminoacídicas.

Os valores aproximados dos pesos moleculares da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 foram, respectivamente, 19,35 e 19,58 kDa, enquanto os valores de suas cargas líquidas foram 7,5 e 5,0, respectivamente, e os valores aproximados de seus pIs foram 9,29 e

8,52, respectivamente. Quanto às polaridades residuais, a proteína gp21 apresentou um predomínio do perfil apolar (aproximadamente 60%) tanto no HTLV-1 quanto no HTLV-2; dentre os aminoácidos polares, notou-se um menor teor de resíduos neutros e um maior teor de resíduos básicos no HTLV-1 (aproximadamente 22% e 12%, respectivamente) em comparação ao HTLV-2 (aproximadamente 24% e 10%, respectivamente) (Figura 16).

Figura 16 – Polaridades residuais da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2.

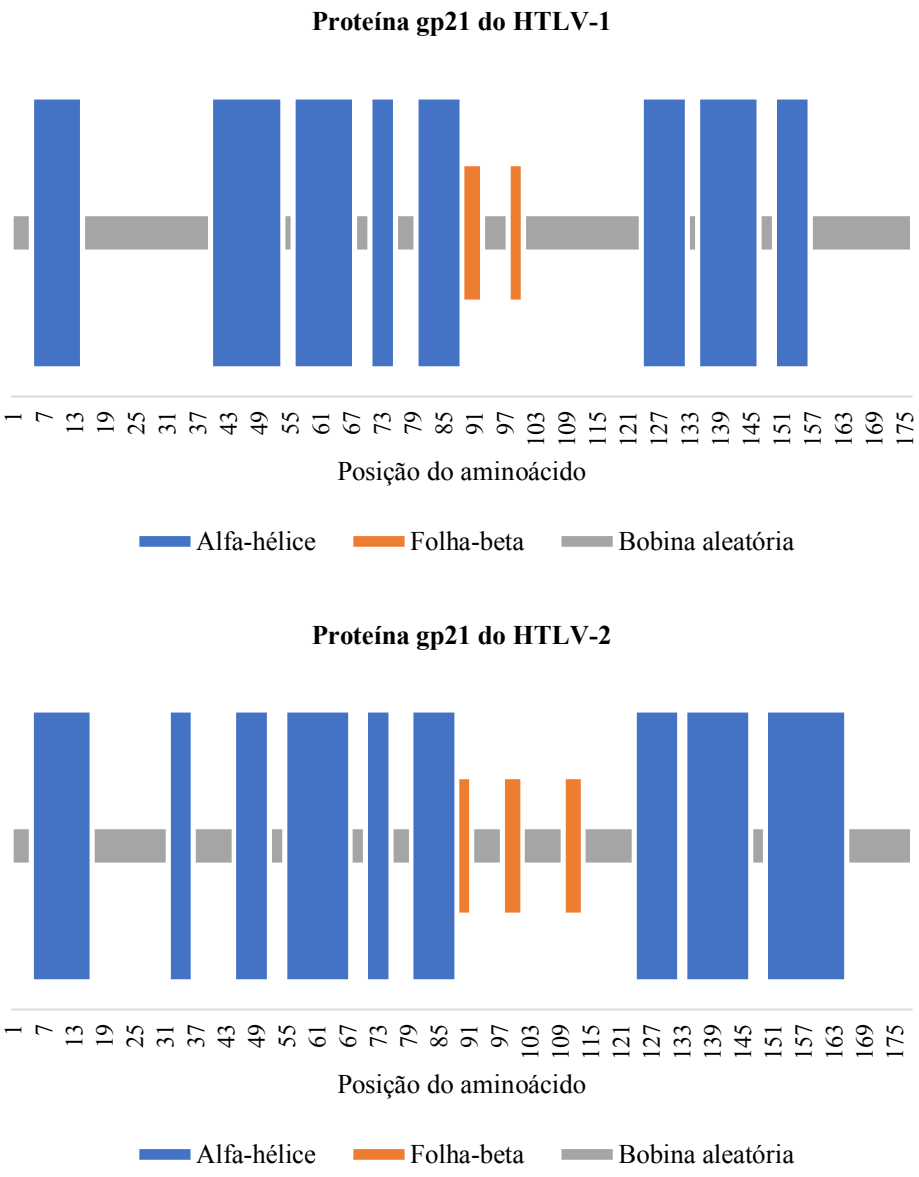


Fonte: Próprio autor.

Legenda: Os quantitativos de resíduos agrupados de acordo com suas polaridades foram representados como valores percentuais expressos na ilustração acima. No gráfico de setor em maior tamanho à esquerda, exibem-se os valores percentuais referentes ao quantitativo de resíduos polares e apolares. Ao lado direito, o gráfico de setor de menor tamanho apresenta os valores percentuais referentes às classificações dos aminoácidos polares identificados na proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2.

No que se refere ao conteúdo predito de estruturas secundárias, a RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 evidenciou mais alfa-hélices (44,32% e 50,00%, respectivamente) do que folhas-beta (3,98% e 6,18%, respectivamente), com grande parte da sua cadeia polipeptídica formada por bobinas aleatórias (51,70% e 43,82%, respectivamente). Ademais, a proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 apresentou folhas-beta apenas no terço central, haja vista que nos terços N-terminal e C-terminal foi predita uma mistura exclusiva de alfa-hélices e bobinas aleatórias (Figura 17).

Figura 17 – Estruturas secundárias preditas da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2.

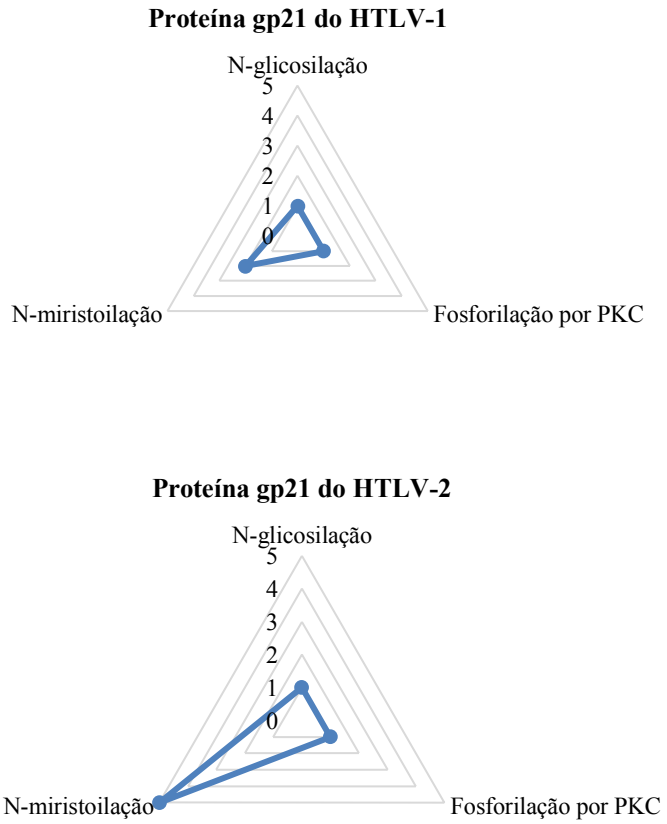


Fonte: Próprio autor.

Legenda: As barras do gráfico, representadas em diferentes alturas (critério ilustrativo), destacam a distribuição de estruturas secundárias em cada aminoácido disposto na RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2.

Em relação às modificações pós-traducionais, verificou-se que a RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 apresentou menor tendência à N-miristoilação do que aquela do HTLV-2 (2 e 5 padrões-consenso, respectivamente), porém ambas apresentaram o mesmo potencial para N-glicosilação e para fosforilação por proteína-cinase C (PKC), com um único padrão-consenso de cada tipo (Figura 18).

Figura 18 – Potencial de modificações pós-traducionais da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2.

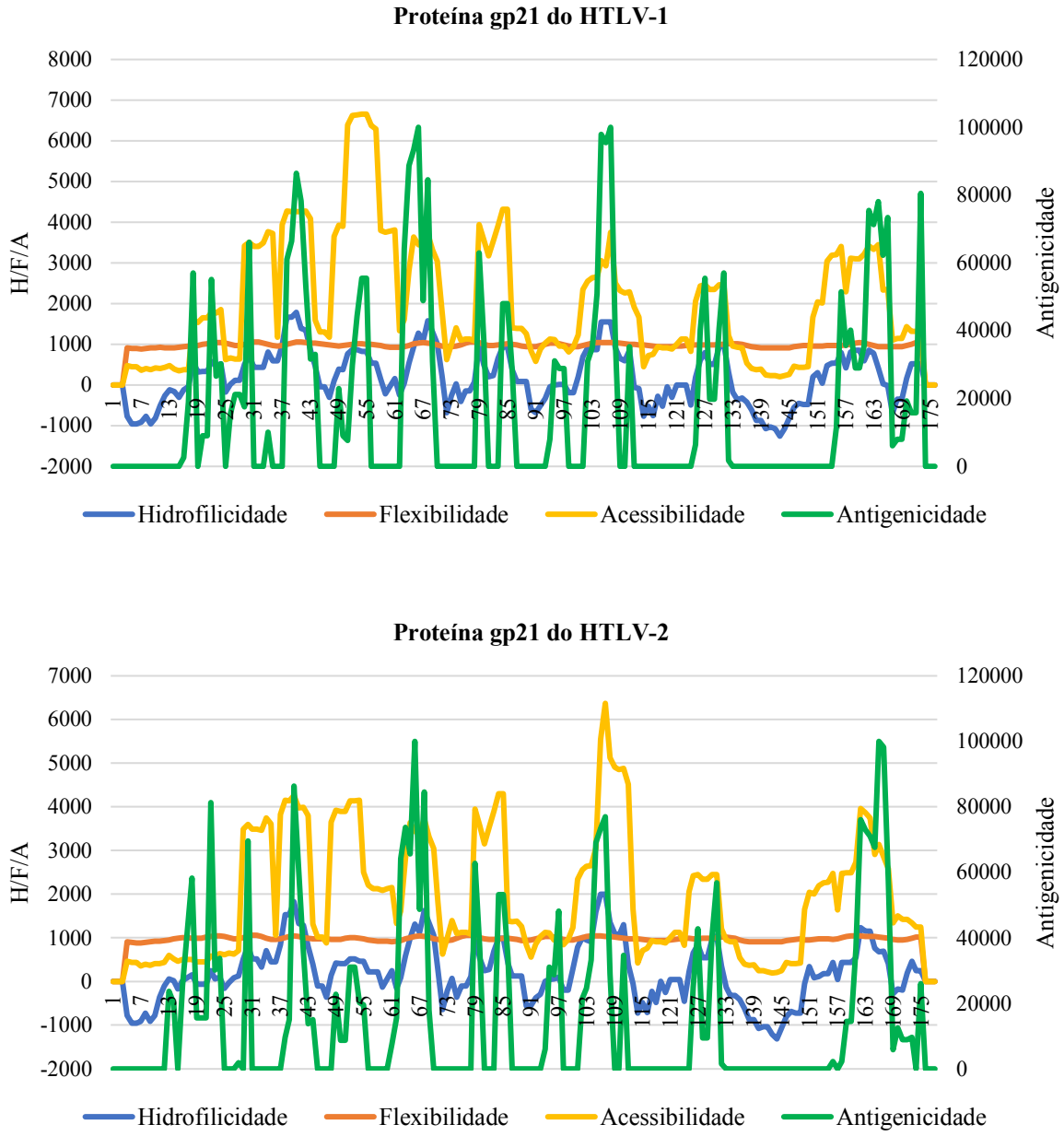


Fonte: Próprio autor.

Legenda: Os potenciais tipos de modificações pós-traducionais da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 estão dispostos em gráficos de radar, sendo indicadas suas quantidades da extremidade (valores maiores) ao centro (valor nulo).

Na proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2, a convergência dos parâmetros de hidrofilicidade, flexibilidade e acessibilidade resultou em maiores propensões antigênicas na metade N-terminal do que na metade C-terminal. No que tange à proteína gp21 do HTLV-1, as propensões antigênicas atingiram seu máximo em torno dos aminoácidos Asn66/Leu107. Considerando a mesma proteína do HTLV-2, as propensões antigênicas atingiram seu máximo em torno dos aminoácidos Asn66/His166 (Figura 19).

Figura 19 - Antigenicidade da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 a partir da convolução das variáveis de hidrofilicidade, flexibilidade e acessibilidade (H/F/A).



Fonte: Próprio autor.

Legenda: No lado esquerdo dos gráficos de linhas, são representados os valores referentes às propriedades de hidrofilicidade, flexibilidade e acessibilidade da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2. No lado direito, são expressos os valores de antigenicidade. Inferiormente nos gráficos, são indicadas as posições dos aminoácidos que compõem a proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2, sendo representadas por números.

Quanto à verificação da afinidade de ligação de peptídeos derivados da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 aos alelos dos HLA-I/II, observou-se que, em relação ao HLA-I, os

alelos HLA-A*02:03 e HLA-B*44:03 apresentaram as melhores afinidades de ligação preditas junto aos peptídeos derivados dos resíduos 90-98 e 107-115 da proteína gp21 do HTLV-1, com classificações de percentil de 0,12 e 0,13, respectivamente (Tabela 1). A respeito do HLA-II, notou-se que os alelos HLA-DRB5*01:01 e HLA-DPA1*03:01/DPB1*04:02 evidenciaram as melhores propensões de afinidade de ligação junto aos peptídeos oriundos dos resíduos 151-165 e 132-146 da proteína gp21 do HTLV-1, com classificações de percentil de 0,13 e 0,20, respectivamente (Tabela 2)..

Tabela 1 – Afinidade de ligação predita de peptídeos derivados da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 aos alelos mais frequentes do HLA-I.

Aminoácido inicial do peptídeo	Aminoácido final do peptídeo	Peptídeo	Percentil	Alelo de HLA-I
90	98	FLNITNSHV	0,12	HLA-A*02:03
107	115	LENRVLTGW	0,13	HLA-B*44:03
107	115	LENRVLTGW	0,15	HLA-B*44:02
85	93	QEQCCFLNI	0,17	HLA-B*44:02
130	138	ALQTGITLV	0,17	HLA-A*02:03
12	20	LAMGAGVAG	0,20	HLA-B*35:01
161	169	RVRYPHYSL	0,20	HLA-B*07:02
85	93	QEQCCFLNI	0,21	HLA-B*44:03
24	32	GSMSLASGK	0,23	HLA-A*11:01
120	128	DLGLSQWAR	0,23	HLA-A*33:01

Fonte: Próprio autor.

Tabela 2 – Afinidade de ligação predita de peptídeos derivados da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 aos alelos mais frequentes do HLA-II.

Aminoácido inicial do peptídeo	Aminoácido final do peptídeo	Peptídeo	Percentil	Alelo de HLA-II
151	165	ILRQLRHLPSRVRYP	0,13	HLA-DRB5*01:01
132	146	QTGITLVALLLLVIL	0,20	HLA-DPA1*03:01/DPB1*04:02
8	22	LVSALAMGAGVAGRI	0,21	HLA-DQA1*05:01/DQB1*03:01
151	165	ILRQLRHLPSRVRYP	0,73	HLA-DRB1*11:01
109	123	NRVLTGWGLNWDLGL	0,77	HLA-DQA1*01:01/DQB1*05:01
132	146	QTGITLVALLLLVIL	1,50	HLA-DPA1*02:01/DPB1*01:01
90	104	FLNITNSHVSILQER	1,60	HLA-DQA1*01:02/DQB1*06:02
132	146	QTGITLVALLLLVIL	1.65	HLA-DPA1*01/DPB1*04:01
19	33	AGRITGSMSLASGKS	1,70	HLA-DQA1*01:02/DQB1*06:02
90	104	FLNITNSHVSILQER	1,90	HLA-DRB1*07:01

Fonte: Próprio autor.

No que tange à propensão da afinidade de ligação de peptídeos derivados da proteína gp21 do HTLV-2 aos alelos do HLA-I, percebeu-se que os alelos HLA-A*02:03 e HLA-B*44:02 apresentaram relevante predição de afinidade de ligação junto aos peptídeos derivados dos resíduos 90-98 e 85-93 da proteína gp21 do HTLV-2, com classificações de percentil de 0,12 e 0,17, respectivamente (Tabela 3). Considerando o HLA-II, observou-se que os alelos HLA-DPA1*03:01/DPB1*04:02 e HLA-DRB1*07:01 obtiveram as melhores propensões de afinidade de ligação junto aos peptídeos oriundos dos resíduos 132-146 e 24-38 da proteína gp21 do HTLV-2, com classificações de percentil de 0,24 e 0,41, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 3 – Afinidade de ligação predita de peptídeos derivados da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-2 aos alelos mais frequentes do HLA-I.

Aminoácido inicial do peptídeo	Aminoácido final do peptídeo	Peptídeo	Percentil	Alelo de HLA-I
90	98	FLNISNTHV	0,12	HLA-A*02:03
85	93	QEQCCFLNI	0,17	HLA-B*44:02
85	93	QEQCCFLNI	0,21	HLA-B*44:03
145	153	ILFGPCILR	0,22	HLA-A*33:01
120	128	DLGLSQWAR	0,23	HLA-A*33:01
107	115	LEKRVITGW	0,27	HLA-B*44:02
145	153	ILFGPCILR	0,34	HLA-A*03:01
161	169	RLQNRHNQY	0,37	HLA-A*30:02
129	137	EALQTGITI	0,40	HLA-B*51:01
136	144	TILALLLLV	0,42	HLA-A*02:06

Fonte: Próprio autor.

Tabela 4 – Afinidade de ligação predita de peptídeos derivados da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-2 aos alelos mais frequentes do HLA-II.

Aminoácido inicial do peptídeo	Aminoácido final do peptídeo	Peptídeo	Percentil	Alelo de HLA-II
132	146	QTGITILALLLLVIL	0,24	HLA-DPA1*03:01/DPB1*04:02
24	38	GSLSLASSKSLLLEV	0,41	HLA-DRB1*07:01
132	146	QTGITILALLLLVIL	0,52	HLA-DQA1*01:02/DQB1*06:02
150	164	CILRQIQALPQRLQN	0,96	HLA-DRB4*01:01
110	124	RVITGWGLNWDLGLS	1,10	HLA-DQA1*01:01/DQB1*05:01
132	146	QTGITILALLLLVIL	1,20	HLA-DPA1*02:01/DPB1*01:01
10	24	SALAAGTGIAGGVTG	1,30	HLA-DQA1*05:01/DQB1*03:01
139	153	ALLLLVILFGPCILR	1,30	HLA-DRB1*15:01
17	31	GIAGGVTGSLSLASS	1,80	HLA-DQA1*05:01/DQB1*03:01
48	62	AIVKNHQNILRVAQY	1,80	HLA-DRB1*13:02

Fonte: Próprio autor.

5. DISCUSSÃO

A infecção pelo HTLV-1/2 apresenta importante distribuição mundial, afetando diversos países latino-americanos, inclusive o Brasil. Na região amazônica brasileira, esses vírus amplamente negligenciados possuem importante presença em distintos grupos populacionais humanos, sobretudo em populações indígenas, que geralmente apresentam hiperendemicidade para infecções causadas pelo HTLV-2 (Ishak; Ishak; Vallinoto, 2020).

Estudos computacionais que elucidem a composição e as propriedades físico-químicas das proteínas de fusão viral, especialmente àquelas de classe I, como a proteína gp21 do HTLV-1/2, são importantes estratégias para a promoção de pesquisas preditivas que visem a supressão da transmissibilidade de infecções virais negligenciadas através do desenvolvimento de vacinas e fármacos antivirais, reduzindo os impactos danosos desses vírus em populações vulneráveis (Gonzalez *et al*., 2024).

Através deste estudo, verificamos que a matriz de identidade percentual da RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 apontou uma elevada similaridade, com significativa inalteração do conteúdo de resíduos dessa macromolécula em ambos os tipos virais. Rosenberg *et al*. (1998) indicaram também que a identidade da sequência aminoacídica da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 é muito alta, com um valor estimado de 79%, após analisarem a conservação estrutural e funcional desse polipeptídeo viral.

Esses pesquisadores sugeriram que a expressiva conservação da estrutura e da função da proteína gp21 pertencente ao HTLV-1/2 ressalta a importância de tal condição na atividade do ectodomínio desse componente proteico nos processos de fusão e pós-fusão cruciais para a infecciosidade viral completa, sendo um domínio evolutivamente adaptado para manter um mecanismo de fusão comum entre esses vírus. Nesse contexto, tais pesquisadores consideraram ainda a hipótese de que a região adjacente ao peptídeo de fusão N-terminal da proteína gp21 do HTLV-1/2 possui envolvimento na extensão do peptídeo de fusão em direção à membrana da célula hospedeira, enquanto a região C-terminal do ectodomínio da proteína gp21 pode ter relação com a ocorrência dos eventos pós-fusão, sendo que a permanência da integridade desse domínio é fundamental para a transmissão efetiva do HTLV-1/2 (Rosenberg *et al*., 1998).

Em relação à composição aminoacídica da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2, observou-se um maior quantitativo de aminoácidos no HTLV-2 e menor no HTLV-1, sendo que isso pode ser explicado pela ocorrência de mutações do tipo inserção/deleção. No que se refere à presença de substituições aminoacídicas nas RefSeqs alinhadas da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2, apesar da substancial conservação das propriedades físico-químicas

após a ocorrência de substituições conservativas, a existência de substituições semiconservativas e não conservativas podem sinalizar, com base em estudos acerca de mutações em proteínas de fusão de outros retrovírus, modificações na fusogenicidade e estabilidade conformacional de estruturas secundárias, impactando a estrutura e função da proteína (He *et al*., 2007). A detecção de inserções/deleções através do alinhamento das RefSeq da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 também sugere potenciais alterações no dinamismo e funcionalidade da proteína (Shortle; Sondek, 1995).

Nesta pesquisa, observamos também pouca diferença entre os valores de peso molecular da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2. Esses dados numéricos são próximos ao valor estimado para a proteína do HTLV-1 que já consta na literatura (Tanaka *et al*., 1985). As sutis diferenças nessa característica estrutural da proteína gp21 de ambos os tipos virais são resultantes das modificações na sequência de aminoácidos decorrentes da presença de substituições aminoacídicas e inserções/deleções identificadas no presente estudo, afetando também outras particularidades físico-químicas dessa proteína viral (Yuan; Li; Goff, 1999). Assim como no peso molecular, as alterações na disposição dos aminoácidos da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 podem ter influenciado nas tênues distinções entre os valores de carga líquida e dos pIs da macromolécula proteica de ambos os tipos virais (Audain *et al*., 2015; Tedeschi *et al*., 2017).

Esta pesquisa apontou que o valor da carga líquida da proteína gp21 do HTLV-1 é maior do que a do HTLV-2. Em ambos os vírus, apesar da pequena diferença entre os valores, a proteína gp21 possui carga líquida positiva, pois, como atestamos neste estudo, o quantitativo de aminoácidos polares básicos (cargas positivas) de tal componente proteico supera o de aminoácidos polares ácidos (cargas negativas) tanto no HTLV-1 quanto no HTLV-2. Identificamos também que o valor de pI da proteína gp21 do HTLV-1 foi levemente superior ao do HTLV-2. Nos dois casos, a proteína gp21 apresentou tendência a ser básica. Porém, a diferença de basicidade pode ser explicada pelo fato de que a proteína gp21 do HTLV-1 tem uma quantidade superior de aminoácidos polares básicos do que a do HTLV-2, o que foi apontado também em nosso estudo.

Apesar da presença significante de resíduos polares, a proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 evidenciou um maior percentual de resíduos apolares neste estudo, o que era esperado para uma proteína de fusão viral evolutivamente selecionada para interagir com a bicamada lipídica da membrana plasmática de uma célula-alvo, sendo adaptada ao ambiente hidrofóbico (White *et al*., 2023). A composição mista de resíduos polares e apolares da proteína gp21 do

HTLV-1 e do HTLV-2, que é uma proteína integral transmembrana, revela sua natureza anfipática, com uma combinação de domínios solúveis polares, os quais interagem com componentes aquosos, e domínios transmembranares apolares, os quais interagem com componentes lipídicos, influenciando sua atividade no meio extra e intracelular (Whitelegge *et al*., 2006).

Como se esperava para uma proteína de fusão viral de classe I, cuja característica típica é a proeminência de alfa-hélices como a estrutura secundária principal além do conteúdo de bobinas aleatórias (White *et al*., 2008), a proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 apresentou neste estudo um maior percentual de alfa-hélices do que folhas-beta, apesar da abundância também de bobinas aleatórias. A presença substancial de alfa-hélices na proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 - as quais passam, durante o processo de fusão, de uma estrutura compacta para uma conformação estendida intermediária - possibilita a aproximação relativa entre as membranas viral e alvo, formando um feixe espiralado de seis hélices estáveis, o que viabiliza a conexão entre tais membranas e a mistura de fosfolipídeos em ambas (Rey; Lok, 2018).

Quanto à identificação de potenciais sítios de modificações pós-traducionais, verificamos neste estudo que a proteína gp21 do HTLV-2 apresentou maior tendência à N-miristoilação do que a do HTLV-1, mas ambas possuíam potencial equivalente para N-glicosilação e para fosforilação por PKC. Um estudo apontou que a proteína gp21 do HTLV-1 apresenta apenas um sítio de N-glicosilação (Ratner, 2022). Além disso, outro estudo, que visava analisar os potenciais sítios de modificação pós-traducional das proteínas de envelope do HTLV-1 a partir de amostras de sangue de indivíduos da Amazônia brasileira, identificou um sítio de N-miristoilação e um sítio de fosforilação por PKC na proteína gp21 do HTLV-1 (Mota-Miranda *et al*., 2008). Consequentemente, ambos os estudos reforçam os nossos achados quando complementados, predizendo a existência desses três tipos de modificação pós-traducional na proteína gp21 de um dos tipos virais do HTLV.

Sabe-se que a N-miristoilação, que é catalisada pela enzima N-miristoiltransferase, proporciona o aumento das interações específicas entre proteínas no meio intracelular, atua na regulação de vias de sinalização celular e facilita a condução de proteínas para endomembranas e membrana plasmática (Mcilhinney, 1998), além de ter papel relevante em cascatas de sinalização de células imunes, interferindo nos seguintes processos biológicos: mielopoiese, linfopoiese de células T, desenvolvimento de resposta imune inata e adaptativa e estabelecimento de sinapse imunológica (Udenwobele *et al*., 2017).

A N-glicosilação fragiliza a resposta imune humoral ao impossibilitar a neutralização mediada por anticorpos, que não se ligam estericamente aos epítopos antigênicos, tornando possível a evasão do sistema imunológico, além de possuir importante papel na potencialização da infecciosidade viral (Wang *et al*., 2013). No que tange à fosforilação por PKC, esta modificação pós-traducional também está associada à modulação da infecciosidade viral, aprimorando a eficiência da interação de proteínas virais com os receptores celulares e da entrada dos vírus nas células hospedeiras (Kudoh *et al*., 2014).

Constatamos neste estudo que a metade N-terminal da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 concentrou mais regiões de altas propensões antigênicas do que a metade C-terminal, o que está de acordo com o que já havia sido relatado em relação à proteína de fusão de outro importante membro da família *Retroviridae*, ou seja, o HIV (Caillat *et al*., 2020). Por ser altamente imunogênica, a proteína gp21 desperta a atividade linfocitária, desencadeando a produção de anticorpos neutralizantes para inibir a formação de sincícios induzidos por vírus (Sundaram; Beebe; Kaumaya, 2004). Com base na lógica atrelada às propriedades imunológicas da proteína de fusão do HIV, outro importante retrovírus, projeta-se que as regiões de alta antigenicidade da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 apresentam papel crucial na ativação das células B e na produção de anticorpos neutralizantes, haja vista que tais regiões possuem epítopos que são reconhecidos pelas células B, induzindo o processo de ativação e de diferenciação dessas células em plasmócitos, os quais produzem anticorpos específicos (Schiffner *et al*., 2024; Williams *et al*., 2024).

Mediante nossas predições, detectamos que os peptídeos derivados dos resíduos 90-98 da proteína gp21 do HTLV-1 possuem melhor afinidade de ligação ao alelo HLA-A*02:03, com percentil de 0,12, sugerindo grande relevância de apresentação antigênica para células T. A expressão de alelos do grupo HLA-A*02 é frequentemente observada em diversas populações, sendo associadas a respostas imunológicas protetoras (Vejbaesya *et al*., 2015). Os resíduos de HLA-A*02:03 formam complexos estáveis entre os peptídeos virais que podem facilitar a ativação imune eficaz com a criação de TCR direcionado para a identificação do antígeno, apresentado forte potencial para formulações vacinais (Ressing *et al*., 1999).

O alelo HLA-B*44:03 também apresentou neste estudo relevante afinidade de ligação aos peptídeos derivados dos resíduos de 107-115 da proteína gp21 do HTLV-1, com percentil de 0,13. Estudos anteriores demonstram que a influência destes alelos possui grande relevância na determinação de alvos moleculares apresentados aos linfócitos T citotóxicos. Esta associação foi observada em contextos de infecções pelo HIV, onde a resposta HLA-B*44:03 apresenta

uma eficiente proteção materna, mas favorece a transmissão do vírus para o bebê, já que ao ocorrer a concordância dos alelos entre a mãe e o bebê, este último não consegue expressar efetivamente a resposta imune (Mekue *et al*., 2019).

Evidenciamos relevante afinidade de ligação do alelo HLA-DRB5*01:01 aos peptídeos oriundos dos resíduos 151-165 da proteína gp21 do HTLV-1, com percentil de 0,13. Um estudo indicou que este alelo apresenta eficiente resposta na ativação de linfócitos T $CD4^+$ (Scholz *et al*., 2017). Além disso, neste presente estudo, percebeu-se melhor afinidade de ligação dos alelos HLA-DPA1*03:01/DPB1*04:02 aos peptídeos derivados dos resíduos 132-146 da proteína gp21 do HTLV-1, com percentil 0,20. O alelo DPB1*04:02 está associado a uma resposta efetiva para ativação robusta de linfócitos T auxiliares, juntamente com alelos do grupo HLA-DPA1, que apresentam importância crucial na apresentação de antígenos (Wu *et al*., 2013; Wasityastuti *et al*., 2016).

Os alelos HLA-A*02:03 e HLA-B*44:02 possuem melhores afinidades de ligação aos peptídeos oriundos dos resíduos 90-98 e 85-93 da proteína gp21 do HTLV-2. A investigação adicional sobre a resposta imune em indivíduos que expressam HLA-A*02:03 e HLA-B*44:03 pode contribuir para uma compreensão mais profunda acerca dos mecanismos de reconhecimento imunológico e sua possível aplicação em estratégias terapêuticas, haja vista que sua resposta imune é significativamente efetiva (Jia *et al*., 2007; Attaf *et al*., 2020). Contudo, a atividade da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 favorece uma disfunção imune que pode inibir o desenvolvimento de linfócitos T de forma semelhante a imunossupressão proporcionada por outros retrovírus (Ruegg; Monell; Strand, 1989).

Ademais, observamos neste estudo que os alelos HLA-DPA1*03:01/DPB1*04:02 e HLA-DRB1*07:01 apresentaram as melhores afinidades de ligação aos peptídeos oriundos dos resíduos 132-146 e 24-38 da proteína gp21 do HTLV-2, com percentis de 0,24 e 0,41, respectivamente. A proteína gp21 é especificamente reativa e pode interagir com linhagens celulares infectadas por meio de um anticorpo monoclonal da subclasse IgG1 kappa, sugerindo um papel importante na resposta imune humoral (Miyagawa *et al*., 1998). Além disso, a associação dos alelos HLA-DPA1*03:01 e DPB1*04:02 representa uma potente capacidade de resposta diante de infecções virais (Ou; Liu; Jiang, 2021). Contudo, o alelo HLA-DRB1*07:01, identificado como fator de risco para coinfecção HIV/TB, pode indicar uma predisposição imunogenética para desfechos menos favoráveis em portadores desse alelo no contexto de infecções por retrovírus (Soha *et al*., 2024).

6. CONCLUSÃO

As sequências de aminoácidos da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2 apresentam alta similaridade estrutural e funcional, conservando, predominantemente, propriedades físico-químicas semelhantes. Apesar disso, foram identificadas algumas substituições aminoacídicas e inserções/deleções pontuais que podem contribuir para diferenças funcionais entre a proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2.

Ademais, as sequências aminoácidas da referida proteína apresentaram pouca diferença no que tange aos valores de particularidades físico-químicas, como peso molecular, carga líquida e pI. Ambas as sequências aminoacídicas da proteína gp21 do HTLV-1/2 apresentaram o mesmo teor de aminoácidos polares e apolares. Porém, ocorreram diferenças sutis tanto entre os quantitativos de resíduos polares neutros das sequências quanto entre os quantitativos de resíduos polares básicos das sequências.

Previu-se diferenças na distribuição de estruturas secundárias nas sequências aminoacídicas da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2, com predomínio de alfa-hélices e bobinas aleatórias em ambas. Observou-se ainda que a proteína gp21 do HTLV-2 apresentou maior potencial de N-miristoilação do que aquela do HTLV-1.

Quanto ao potencial imunogênico, foi apontado que ambas as sequências de aminoácidos da proteína gp21 do HTLV-1/2 possuem regiões com alta propensão antigênica, especialmente na porção N-terminal. Além disso, determinados fragmentos peptídicos da proteína gp21 do HTLV-1/2 mostraram forte afinidade de ligação predita com alelos de HLA-I/II, embora os resíduos específicos e os alelos com maior afinidade tenham variado entre o HTLV-1 e o HTLV-2.

Assim, apesar de serem altamente similares, as sequências aminoacídicas da proteína gp21 do HTLV-1/2 exibem importantes diferenças estruturais e funcionais, sendo alvos promissores de pesquisas voltadas ao desenvolvimento de imunógenos e terapias antirretrovirais. O uso de ferramentas de bioinformática neste estudo permitiu a análise comparativa *in silico* das propriedades bioquímicas e imunológicas da proteína gp21 do HTLV-1 e do HTLV-2, possibilitando a descrição de diversas características e peculiaridades envolvendo a estrutura e a função dessa proteína de fusão, que é essencial para o processo de infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD-FERNÁNDEZ, M. *et al*. HTLV-2 Enhances CD8+ T Cell-Mediated HIV-1 Inhibition and Reduces HIV-1 Integrated Proviral Load in People Living with HIV-1. **Viruses**, v. 14, n. 11, p. 2472, 2022.

ABEN-ATHAR, C. Y. U. P. *et al*. Providing a Nursing Care Plan as a Requirement for Secondary Prevention for People Living With HTLV-1. **Frontiers in Medicine**, v. 9, p. 854970, 2022.

ABREU, I. N. *et al*. HTLV-1 and HTLV-2 infection among Warao indigenous refugees in the Brazilian Amazon: Challenges for public health in times of increasing migration. **Frontiers in Public Health**, v. 10, p. 833169, 2022.

ACCOLLA, R. S. The Road to HTLV-1-Induced Leukemia by Following the Subcellular Localization of HTLV-1-Encoded HBZ Protein. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 940131, 2022.

AHUKA-MUNDEKE, S. *et al*. Identification and molecular characterization of new simian T cell lymphotropic viruses in nonhuman primates bushmeat from the Democratic Republic of Congo. **AIDS research and human retroviruses**, v. 28, n. 6, p. 628-635, 2012.

AHUKA-MUNDEKE, S. *et al*. Genetic diversity of STLV-2 and interspecies transmission of STLV-3 in wild-living bonobos. **Virus evolution**, v. 2, n. 1, p. vew011, 2016.

ALENCAR, S. P. *et al*. Prevalence and molecular epidemiology of human T-Lymphotropic virus (HTLV) infection in people living with HIV/AIDS in the Pará State, Amazon Region of Brazil. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 572381, 2020.

AL-SALEEM, J. *et al*. HTLV-1 Tax-1 interacts with SNX27 to regulate cellular localization of the HTLV-1 receptor molecule, GLUT1. **PLoS One**, v. 14, n. 3, p. e0214059, 2019.

ALVAREZ, C. *et al*. Family aggregation of human T-lymphotropic virus 1-associated diseases: a systematic review. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 1674, 2016.

AMIANTI, C. *et al*. HTLV infection in Brazil's second-largest indigenous reserve. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 16701, 2022.

ANUPAM, R.; DOUEIRI, R.; GREEN, P. L. The need to accessorize: molecular roles of HTLV-1 p30 and HTLV-2 p28 accessory proteins in the viral life cycle. **Frontiers in microbiology**, v. 4, p. 275, 2013.

ARAUJO, A. Q. C. Neurological aspects of HIV-1/HTLV-1 and HIV-1/HTLV-2 coinfection. **Pathogens**, v. 9, n. 4, p. 250, 2020.

ARAUJO, A.; HALL, W. W. Human T-lymphotropic virus type II and neurological disease. **Annals of neurology**, v. 56, n. 1, p. 10-19, 2004.

ATTAF, M. *et al*. Cytomegalovirus-mediated T cell receptor repertoire perturbation is present in early life. **Frontiers in immunology**, v. 11, 2020.

AUDAIN, E. *et al*. Accurate estimation of isoelectric point of protein and peptide based on amino acid sequences. **Bioinformatics**, v. 32, n. 6, p. 821-827, 2016.

AYERDI, O. *et al*. HTLV infection in persons with sexually transmitted diseases in Spain. **Frontiers in Immunology**, v. 14, 2023.

BAI, X. T.; NICOT, C. Overview on HTLV-1 p12, p8, p30, p13: accomplices in persistent infection and viral pathogenesis. **Frontiers in microbiology**, v. 3, p. 400, 2012.

BANDEIRA, L. M. *et al*. Human T-cell leukemia virus type 1 infection among Japanese immigrants and their descendants living in Southeast Brazil: A call for preventive and control responses. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 2, p. e0009066, 2021.

BARBEAU, B.; MESNARD, J. M. Making sense out of antisense transcription in human T-cell lymphotropic viruses (HTLVs). **Viruses**, v. 3, n. 5, p. 456-468, 2011.

BARRETO, N. M. P. V. *et al*. Evaluation of Strongyloides stercoralis infection in patients with HTLV-1. **Biomédica**, v. 42, n. 1, p. 31-40, 2022.

BATISTA, E. S. *et al*. HTLV-1 proviral load in infective dermatitis associated with HTLV-1 does not increase after the development of HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis and does not decrease after IDH remission. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 12, p. e0007705, 2019.

BERTAZZONI, U. *et al*. Intracellular localization and cellular factors interaction of HTLV-1 and HTLV-2 Tax proteins: similarities and functional differences. **Viruses**, v. 3, n. 5, p. 541-560, 2011.

BILOTTA, M.; TRADIGO, G.; VELTRI, P. Bioinformatics data models, representation and storage. **Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology: ABC of Bioinformatics**, p. 110, 2018.

BLAIZOT, R. *et al*. Utility of PCR in Patients with Strongyloides stercoralis and HTLV-1 Coinfection in French Guiana. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 101, n. 4, p. 848, 2019.

BRAÇO, I. L. J. *et al*. High prevalence of human T-lymphotropic virus 2 (HTLV-2) infection in villages of the Xikrin tribe (Kayapo), Brazilian Amazon region. **BMC infectious diseases**, v. 19, p. 1-8, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde – Gabinete do Ministro. **Portaria GM/MS No 3.148, de 6 de fevereiro de 2024**. Brasília-DF, 2024. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2024/prt3148_15_02_2024.html>.

BRASIL. Ministério da Saúde – Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS). **Guia de Manejo Clínico da Infecção pelo HTLV**. 1ª edição. Brasília-DF, 2021. Disponível em:

https://www.gov.br/aids/pt-br/central-de-conteudo/publicacoes/2021/guia-de-manejo-clinico-da-infeccao-pelo-htlv. Acesso em 25 jan. 2024.

BRITES, C. *et al*. Pathogenesis of HTLV-1 infection and progression biomarkers: An overview. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 25, 2021.

BRITO, W. R. S. *et al*. Prevalence and Risk Factors for HTLV-1/2 Infection in Quilombo Remnant Communities Living in the Brazilian Amazon. **Frontiers in Public Health**, v. 10, p. 871865, 2022.

CAILLAT, C. *et al*. Neutralizing antibodies targeting HIV-1 gp41. **Viruses**, v. 12, n. 11, p. 1210, 2020.

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

CAMPBELL, E. M.; HOPE, T. J. HIV-1 capsid: the multifaceted key player in HIV-1 infection. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, n. 8, p. 471-483, 2015.

CARUGO, O.; DJINOVIĆ-CARUGO, K. Structural biology: A golden era. **PLoS Biology**, v. 21, n. 6, p. e3002187, 2023.

CASSEB, Jorge et al. Is the human T-cell lymphotropic virus type 2 in the process of endogenization into the human genome?. **Journal of Virus Eradication**, v. 6, n. 4, p. 100009, 2020.

CASTRO, L. S. *et al*. Human T cell lymphotropic virus type 1 infection among men who have sex with men in Central Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 22, p. 472-476, 2018.

CATALAN-SOARES, B. C.; PROIETTI, F. A.; CARNEIRO-PROIETTI, A. B. F. Human T-cell lymphotropic viruses (HTLV) in the last decade (1990-2000): epidemiological aspects. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 4, p. 81-95, 2001.

CAVALLARI, Ilaria et al. Fine tuning of the temporal expression of HTLV-1 and HTLV-2. **Frontiers in microbiology**, v. 4, p. 235, 2013.

CHEN, C.; HUANG, H.; WU, C. H. Protein bioinformatics databases and resources. **Protein bioinformatics: from protein modifications and networks to proteomics**, p. 3-39, 2017.

CHUNG, S. *et al*. GWAS identifying HLA-DPB1 gene variants associated with responsiveness to hepatitis B virus vaccination in Koreans: Independent association of HLA-DPB1*04:02 possessing rs1042169 G - rs9277355 C - rs9277356 A. **Journal of viral hepatitis**, v. 26, n. 11, p. 1318–1329, 2019.

CIMINALE, V. *et al*. HTLV-1 and HTLV-2: highly similar viruses with distinct oncogenic properties. **Frontiers in microbiology**, v. 5, p. 398, 2014.

COFFIN, J. *et al*. ICTV virus taxonomy profile: Retroviridae 2021. **Journal of General Virology**, v. 102, n. 12, p. 001712, 2021.

COMBET, C. *et al*. NPS@: network protein sequence analysis. **Trends in biochemical sciences**, v. 25, n. 3, p. 147-150, 2000.

CRUZ, B. A.; CATALAN-SOARES, B.; PROIETTI, F. Rheumatic manifestations associated with the human T-cell lymphotropic virus Type I (HTLV-I). **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 45, p. 71-77, 2005.

DIAS, A. R. N et al. Human T lymphotropic virus and pulmonary diseases. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 1879, 2018.

DUONG, Y. T. *et al*. Absence of evidence of HTLV-3 and HTLV-4 in patients with large granular lymphocyte (LGL) leukemia. **AIDS research and human retroviruses**, v. 24, n. 12, p. 1503-1505, 2008.

EIRAKU, N. *et al*. Identification and characterization of a new and distinct molecular subtype of human T-cell lymphotropic virus type 2. **Journal of Virology**, v. 70, n. 3, p. 1481-1492, 1996.

ESAU, D. Viral causes of lymphoma: the history of Epstein-Barr virus and human T-lymphotropic virus 1. **Virology: research and treatment**, v. 8, p. 1178122X17731772, 2017.

EUSEBIO-PONCE, E. *et al*. HTLV-1 infection: An emerging risk. Pathogenesis, epidemiology, diagnosis and associated diseases. **Revista Española de Quimioterapia**, v. 32, n. 6, p. 485, 2019.

FUENTES, J. D. *et al*. Targeting of Non-Classical Human Leukocyte Antigens as Novel Therapeutic Strategies in Cancer. **Cancers**, v. 16, n. 24, p. 4266, 2024.

FUTSCH, N. *et al*. Cytokine networks dysregulation during HTLV-1 infection and associated diseases. **Viruses**, v. 10, n. 12, p. 691, 2018.

GALLO, R. C. The discovery of the first human retrovirus: HTLV-1 and HTLV-2. **Retrovirology**, v. 2, n. 1, p. 1-7, 2005.

GALLO, R. C; SLISKI, A.; WONG-STAAL, F. Origin of human T-cell leukaemia-lymphoma virus. **The Lancet**, v. 322, n. 8356, p. 962-963, 1983.

GARCIA, M. C. S. *et al*. Infectious dermatitis associated with HTLV-I: uncommon case in southern Brazil simulating refractory atopic dermatitis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 97, p. 538-541, 2022.

GESSAIN, A. *et al*. Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. **The Lancet**, v. 326, n. 8452, p. 407-410, 1985.

GESSAIN, A. *et al*. HTLV-3/4 and simian foamy retroviruses in humans: discovery, epidemiology, cross-species transmission and molecular virology. **Virology**, v. 435, n. 1, p. 187-199, 2013.

GESSAIN, A.; CASSAR, O. Epidemiological aspects and world distribution of HTLV-1 infection. **Frontiers in microbiology**, v. 3, p. 388, 2012.

GLÓRIA, L. M. *et al*. Clinical-epidemiological profile of HTLV-1 infected patients in Belém, Pará state, Brazil. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 23, p. 157-162, 2015.

GONÇALVES, M. G. *et al*. Development and validation of multiplex quantitative real-time PCR assays for simultaneous detection and differentiation of HTLV-1 and HTLV-2, using different PCR platforms and reagent brands. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 831594, 2022.

GONZALEZ, K. J. *et al*. A general computational design strategy for stabilizing viral class I fusion proteins. **Nature communications**, v. 15, n. 1, p. 1335, 2024.

GONZALEZ-ALCAIDE, G. *et al*. Human T-lymphotropic virus 1 (HTLV-1) and human T-lymphotropic virus 2 (HTLV-2): geographical research trends and collaboration networks (1989-2012). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 58, p. 11, 2016.

GOULDER, P. J.R; WALKER, B. D. HIV and HLA class I: an evolving relationship. **Immunity**, v. 37, n. 3, p. 426-440, 2012.

GRIFFITHS, D. J. Endogenous retroviruses in the human genome sequence. **Genome biology**, v. 2, n. 6, p. reviews1017. 1, 2001.

GROSS, C.; THOMA-KRESS, A. K. Molecular mechanisms of HTLV-1 cell-to-cell transmission. **Viruses**, v. 8, n. 3, p. 74, 2016.

HALDER, A. K. *et al*. Review of computational methods for virus–host protein interaction prediction: a case study on novel Ebola–human interactions. **Briefings in functional genomics**, v. 17, n. 6, p. 381-391, 2018.

HALL, W. W. *et al*. Multiple isolates and characteristics of human T-cell leukemia virus type II. **Journal of Virology**, v. 66, n. 4, p. 2456-2463, 1992.

HARROD, R. Silencers of HTLV-1 and HTLV-2: the pX-encoded latency-maintenance factors. **Retrovirology**, v. 16, n. 1, p. 25, 2019.

HE, Y. *et al*. Conserved residue Lys574 in the cavity of HIV-1 Gp41 coiled-coil domain is critical for six-helix bundle stability and virus entry. **Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 35, p. 25631-25639, 2007.

HEYM, S. *et al*. Alternative NF-κB Signaling Discriminates Induction of the Tumor Marker Fascin by the Viral Oncoproteins Tax-1 and Tax-2 of Human T-Cell Leukemia Viruses. **Cancers**, v. 14, n. 3, p. 537, 2022.

HINUMA, Y. *et al*. Adult T-cell leukemia: antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 78, n. 10, p. 6476-6480, 1981.

ILINA, T. V. *et al*. Retroviral RNase H: Structure, mechanism, and inhibition. **The enzymes**, v. 50, p. 227-247, 2021.

ISHAK, R. *et al*. Detection of HTLV-IIa in blood donors in an urban area of the Amazon Region of Brazil (Belém, PA). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, p. 193-197, 1998.

ISHAK, R. *et al*. Molecular evidence of mother-to-child transmission of HTLV-IIc in the Kararao Village (Kayapo) in the Amazon region of Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, p. 519-525, 2001.

ISHAK, R. *et al*. HTLV in South America: Origins of a silent ancient human infection. **Virus Evolution**, v. 6, n. 2, p. veaa053, 2020.

ISHAK, R. *et al*. Long-term prevalence follow-up (1967–2022) of HTLV-2 among vulnerable indigenous populations in the Amazon region of Brazil. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1217134, 2023.

ISHAK, R.; ISHAK, M. O. G; VALLINOTO, A. C. R. The challenge of describing the epidemiology of HTLV in the Amazon region of Brazil. **Retrovirology**, v. 17, n. 1, p. 1-10, 2020.

ITABASHI, K.; MIYAZAWA, T.; UCHIMARU, K. How Can We Prevent Mother-to-Child Transmission of HTLV-1? **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 8, p. 6961, 2023.

JÉGADO, B. *et al*. STLV-1 as a model for studying HTLV-1 infection. **Retrovirology**, v. 16, n. 1, p. 1-10, 2019.

JI, H. *et al*. A strategy for screening and confirmation of HTLV-1/2 infections in low-endemic areas. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1151, 2020.

JIA, Q. *et al*. High level expression of HLA-A*0203-BSP fusion protein in Escherichia coli and construction of soluble HLA-A*0203 monomer and tetramer loaded with Epstein-Barr virus peptide. **Cellular & molecular immunology**, v. 4, n. 4, p. 301–308, 2007.

JONES, K. S. *et al*. Molecular aspects of HTLV-1 entry: functional domains of the HTLV-1 surface subunit (SU) and their relationships to the entry receptors. **Viruses**, v. 3, n. 6, p. 794-810, 2011.

KALINICHENKO, S.; KOMKOV, D.; MAZUROV, D. HIV-1 and HTLV-1 transmission modes: Mechanisms and importance for virus spread. **Viruses**, v. 14, n. 1, p. 152, 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**, v. 218, n. 4572, p. 571-573, 1982.

KAMOI, K. HTLV-1 in ophthalmology. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 388, 2020.

KAMOI, K. *et al*. Updates on HTLV-1 uveitis. **Viruses**, v. 14, n. 4, p. 794, 2022.

KAMOI, K.; MOCHIZUKI, M. HTLV-1 uveitis. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, p. 270, 2012.

KANDA, R. K.; TRISTEM, M.; COULSON, T. Exploring the effects of immunity and life history on the dynamics of an endogenous retrovirus. **Philosophical Transactions of The Royal Society B: Biological Sciences**, v. 368, n. 1626, p. 20120505, 2013.

KASSAY, N. *et al*. Biochemical characterization, specificity and inhibition studies of HTLV-1, HTLV-2, and HTLV-3 proteases. **Life**, v. 11, n. 2, p. 127, 2021.

KESIC, M. *et al*. Phosphorylation regulates human T-cell leukemia virus type 1 Rex function. **Retrovirology**, v. 6, p. 1-11, 2009.

KITAGAWA, T. *et al*. Antibodies to HTLV-I in Japanese immigrants in Brazil. **Jama**, v. 256, n. 17, p. 2342-2342, 1986.

KUDOH, A. *et al*. The phosphorylation of HIV-1 Gag by atypical protein kinase C facilitates viral infectivity by promoting Vpr incorporation into virions. **Retrovirology**, v. 11, p. 1-16, 2014.

LAHER, A. E.; EBRAHIM, O. HTLV-1, ATLL, severe hypercalcaemia and HIV-1 co-infection: an overview. **Pan African Medical Journal**, v. 30, n. 1, 2018.

LEBRETON, M. *et al*. A gorilla reservoir for human T-lymphotropic virus type 4. **Emerging microbes & infections**, v. 3, n. 1, p. 1-12, 2014.

LEGRAND, N. *et al*. Clinical and public health implications of human T-lymphotropic virus type 1 infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 35, n. 2, p. e00078-21, 2022.

LIMA, A. C. R. *et al*. Prevalence and Risk Factors for HTLV-1/2 Infection inRiverside and Rural Populations of the State of Pará. **Viruses**, v. 14, n. 10, p. 2262, 2022.

LIU, Z.; CHU, A. Sjögren's syndrome and viral infections. **Rheumatology and therapy**, v. 8, p. 1051-1059, 2021.

LONDHE, R.; KULKARNI, S. HTLV-2 encoded antisense protein APH-2 suppresses HIV-1 replication. **Viruses**, v. 13, n. 8, p. 1432, 2021.

LOPES, F. T. *et al*. The Relevance of a Diagnostic and Counseling Service for People Living With HTLV-1/2 in a Metropolis of the Brazilian Amazon. **Frontiers in Public Health**, v. 10, p. 864861, 2022.

LOZADA, C. *et al*. Identification and characteristics of fusion peptides derived from enveloped viruses. **Frontiers in Chemistry**, v. 9, p. 689006, 2021.

LYNGDOH, D. L. *et al*. Portrait of the intrinsically disordered side of the HTLV-1 proteome. **ACS omega**, v. 4, n. 6, p. 10003-10018, 2019.

MACHADO, C. B. *et al*. Role of miRNAs in human T cell leukemia virus type 1 induced T cell leukemia: a literature review and bioinformatics approach. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 10, p. 5486, 2022.

MAERZ, A. L. *et al*. Functional implications of the human T-lymphotropic virus type 1 transmembrane glycoprotein helical hairpin structure. **Journal of virology**, v. 74, n. 14, p. 6614-6621, 2000.

MALPICA, L. *et al*. Regulatory T cells and IgE expression in duodenal mucosa of Strongyloides stercoralis and human T lymphotropic virus type 1 co-infected patients. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 13, n. 6, p. e0007415, 2019.

MARTEL, M.; GOTUZZO, E. HTLV-1 is also a sexually transmitted infection. **Frontiers in Public Health**, v. 10, p. 840295, 2022.

MARTIN, J. L. *et al*. Molecular studies of HTLV-1 replication: an update. **Viruses**, v. 8, n. 2, p. 31, 2016.

MARTINEZ, M. P.; AL-SALEEM, J.; GREEN, P. L. Comparative virology of HTLV-1 and HTLV-2. **Retrovirology**, v. 16, n. 1, p. 1-12, 2019.

MARTINI, F. *et al*. The ESCRT-0 protein HRS interacts with the human T cell leukemia virus type 2 antisense protein APH-2 and suppresses viral replication. **Journal of Virology**, v. 94, n. 1, p. e01311-19, 2019.

MCILHINNEY, R. J. Membrane targeting via protein N-myristoylation. **Protein targeting protocols**, p. 211-225, 1998.

MEDHASI, S.; CHANTRATITA, N.. Human leukocyte antigen (HLA) system: genetics and association with bacterial and viral infections. **Journal of Immunology Research**, v. 2022, n. 1, p. 9710376, 2022.

MEI, S.; ZHU, H. Computational reconstruction of proteome-wide protein interaction networks between HTLV retroviruses and Homo sapiens. **BMC bioinformatics**, v. 15, n. 1, p. 1-10, 2014.

MEKUE, L. M. *et al*. HLA A*32 is associated to HIV acquisition while B*44 and B*53 are associated with protection against HIV acquisition in perinatally exposed infants. **BMC pediatrics**, v. 19, n. 1, p. 249, 2019.

MELBYE, M. The natural history of human T lymphotropic virus-III infection: the cause of AIDS. British **Medical Journal (Clinical research ed.)**, v. 292, n. 6512, p. 5, 1986.

MILLEN, S.; THOMA-KRESS, A. K. Milk Transmission of HTLV-1 and the need for innovative prevention strategies. **Frontiers in Medicine**, v. 9, p. 867147, 2022.

MIYAGAWA, E. *et al*. Establishment of monoclonal antibody, gp21-34, against HTLV-II envelope protein (p20E). **Hybridoma**, v. 17, n. 4, p. 347–354, 1998.

MOIN, A. T. *et al*. Correction: An immunoinformatics and extended molecular dynamics approach for designing a polyvalent vaccine against multiple strains of Human T-lymphotropic virus (HTLV). **Plos one**, v. 18, n. 12, p. e0295830, 2023.

MOLES, R. *et al*. p30 protein: A critical regulator of HTLV-1 viral latency and host immunity. **Retrovirology**, v. 16, n. 1, p. 1-15, 2019.

MOTA-MIRANDA, A. C. *et al*. HTLV-1 infection in blood donors from the Western Brazilian Amazon region: Seroprevalence and molecular study of viral isolates. **Journal of medical virology**, v. 80, n. 11, p. 1966-1971, 2008.

MOTA-MIRANDA, A. C. A. et al. Molecular study of HBZ and gp21 human T cell leukemia virus Type 1 proteins Isolated from different clinical profile infected individuals. **AIDS research and human retroviruses**, v. 29, n. 10, p. 1370-1372, 2013.

MURPHY, E. L. Infection with human T-lymphotropic virus types-1 and-2 (HTLV-1 and-2): Implications for blood transfusion safety. **Transfusion Clinique et Biologique**, v. 23, n. 1, p. 13-19, 2016.

MURPHY, E. L.; CASSAR, O.; GESSAIN, A. Estimating the number of HTLV-2 infected persons in the world. **Retrovirology**, v. 12, n. 1, p. 1-1, 2015.

NAGLER, A. *et al*. Identification of presented SARS-CoV-2 HLA class I and HLA class II peptides using HLA peptidomics. **Cell Reports**, v. 35, n. 13, 2021.

NAKAHATA, S. *et al*. Understanding the Immunopathology of HTLV-1-Associated Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma: A Comprehensive Review. **Biomolecules**, v. 13, n. 10, p. 1543, 2023.

NEEFJES, J. *et al*. Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation. **Nature reviews immunology**, v. 11, n. 12, p. 823-836, 2011.

NEJMEDDINE, M.; BANGHAM, C. R. M. The HTLV-1 virological synapse. **Viruses**, v. 2, n. 7, p. 1427-1447, 2010.

NOZUMA, S. *et al*. Effects of host restriction factors and the HTLV-1 subtype on susceptibility to HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **Retrovirology**, v. 14, n. 1, p. 1-11, 2017.

OLIVEIRA-FILHO, A. B. *et al*. Human T-lymphotropic virus 1 and 2 among people who used illicit drugs in the state of Pará, northern Brazil. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 14750, 2019.

OLIVEIRA-FILHO, A. B. *et al*. Spread of human T-lymphotropic virus 1 and 2 among relatives of people who use illicit drugs in Northern Brazil. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 889948, 2022.

OMSLAND, M. *et al*. Functional properties and sequence variation of HTLV-1 p13. **Retrovirology**, v. 17, p. 1-12, 2020.

ORLETTI, M. P. S. *et al*. Prevalence of infection by human T Cell lymphotropic viruses (HTLV-1/2) in adult population in Vitoria-ES. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 25, 2021.

OSAME, M. *et al*. HTLV-I associated myelopathy, a new clinical entity. **The Lancet**, v. 327, n. 8488, p. 1031-1032, 1986.

OU, G.; LIU, X.; JIANG, Y. HLA-DPB1 alleles in hepatitis B vaccine response: A meta-analysis. **Medicine**, v. 100, n. 14, p. e24904, 2021.

PAIVA, A.; CASSEB, J. Sexual transmission of human T-cell lymphotropic virus type 1. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, p. 265-274, 2014.

PAIVA, A.; CASSEB, J. Origin and prevalence of human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and type 2 (HTLV-2) among indigenous populations in the Americas. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, p. 01-14, 2015.

PAUL, S. *et al*. TepiTool: a pipeline for computational prediction of T cell epitope candidates. **Current protocols in immunology**, v. 114, n. 1, p. 18.19. 1-18.19. 24, 2016.

PISE-MASISON, C. A.; FRANCHINI, G. Hijacking Host Immunity by the Human T-Cell Leukemia Virus Type-1: Implications for Therapeutic and Preventive Vaccines. **Viruses**, v. 14, n. 10, p. 2084, 2022.

POETKER, S. K. W. *et al*. Clinical manifestations in individuals with recent diagnosis of HTLV type I infection. **Journal of Clinical Virology**, v. 51, n. 1, p. 54-58, 2011.

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**, v. 77, n. 12, p. 7415-7419, 1980.

POLAKOWSKI, N. *et al*. HBZ upregulates myoferlin expression to facilitate HTLV-1 infection. **PLoS Pathogens**, v. 19, n. 2, p. e1011202, 2023.

PONTES, G. S. *et al*. HTLV-2 infection in Manaus, Brazil: first description of HTLV-2c subtype in an urban area of the Western Amazon region. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 54, 2020.

POPOVIC, M. *et al*. The virus of Japanese adult T-cell leukaemia is a member of the human T-cell leukaemia virus group. **Nature**, v. 300, n. 5887, p. 63-66, 1982.

QUARESMA, J. A. S. *et al*. HTLV-1, immune response and autoimmunity. **Viruses**, v. 8, n. 1, p. 5, 2015.

RATNER, L. A role for an HTLV-1 vaccine?. **Frontiers in immunology**, v. 13, p. 953650, 2022.

RESSING, M. E. *et al*. Differential binding of viral peptides to HLA-A2 alleles. Implications for human papillomavirus type 16 E7 peptide-based vaccination against cervical carcinoma. **European journal of immunology**, v. 29, n. 4, p. 1292–1303, 1999.

REY, F. A.; LOK, S. M. Common features of enveloped viruses and implications for immunogen design for next-generation vaccines. **Cell**, v. 172, n. 6, p. 1319-1334, 2018.

RICE, P.; LONGDEN, I.; BLEASBY, A. EMBOSS: the European molecular biology open software suite. **Trends in genetics**, v. 16, n. 6, p. 276-277, 2000.

ROSADAS, C.; BRITES, C.; ARAKAKI-SANCHEZ, D.; CASSEB, J.; ISHAK, R. Brazilian protocol for sexually transmitted infections 2020: human T-cell lymphotropic virus (HTLV) infection. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 54, p. e2020605, 2021.

ROSADAS, C. *et al*. Estimation of HTLV-1 vertical transmission cases in Brazil per annum. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 12, n. 11, p. e0006913, 2018.

ROSADAS, C.; MENEZES, M. L. B.; GALVÃO-CASTRO, B.; ASSONE, T.; MIRANDA, A. E.; ARAGÓN, M. G.; CATERINO-DE-ARAÚJO, A.; TAYLOR, G. P.; ISHAK, I. Blocking HTLV-1/2 silent transmission in Brazil: Current public health policies and proposal for additional strategies. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 9, p. e0009717, 2021.

ROSADAS, C.; TAYLOR, G. P. Mother-to-child HTLV-1 transmission: unmet research needs. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 999, 2019.

ROSENBERG, A. R. *et al*. Analysis of functional conservation in the surface and transmembrane glycoprotein subunits of human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2. **Journal of virology**, v. 72, n. 9, p. 7609-7614, 1998.

ROTEM, E. *et al*. The HTLV-1 gp21 fusion peptide inhibits antigen specific T-cell activation in-vitro and in mice. **PLoS Pathogens**, v. 14, n. 5, p. e1007044, 2018.

RUEGG, C. L.; MONELL, C. R.; STRAND, M. Identification, using synthetic peptides, of the minimum amino acid sequence from the retroviral transmembrane protein p15E required for inhibition of lymphoproliferation and its similarity to gp21 of human T-lymphotropic virus types I and II. **Journal of virology**, v. 63, n. 8, p. 3250–3256, 1989.

SAITO, M. Association between HTLV-1 genotypes and risk of HAM/TSP. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 1101, 2019.

SANTOS, E. L. *et al*. Molecular characterization of HTLV-1/2 among blood donors in Belém, State of Pará: first description of HTLV-2b subtype in the Amazon region. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 3, 2009.

SCHIFFNER, T. *et al*. Vaccination induces broadly neutralizing antibody precursors to HIV gp41. **Nature immunology**, v. 25, n. 6, p. 1073-1082, 2024.

SCHOLZ, E. M. *et al*. Human leukocyte antigen (HLA)-DRB1*15:01 and HLA-DRB5*01:01 present complementary peptide repertoires. **Frontiers in immunology**, v. 8, p. 984, 2017.

SEQUEIRA, C. G. *et al*. Descriptive study of HTLV infection in a population of pregnant women from the state of Pará, Northern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, p. 453-456, 2012.

SHARMA, D.; PRIYADARSHINI, P.; VRATI, S. Unraveling the web of viroinformatics: computational tools and databases in virus research. **Journal of virology**, v. 89, n. 3, p. 1489-1501, 2015.

SHIRINIAN, M. *et al*. Tax-1 and Tax-2 similarities and differences: focus on post-translational modifications and NF-κB activation. **Frontiers in microbiology**, v. 4, p. 231, 2013.

SHORTLE, D.; SONDEK, J. The emerging role of insertions and deletions in protein engineering. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 6, n. 4, p. 387-393, 1995.

SIEVERS, F. *et al*. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. **Molecular systems biology**, v. 7, n. 1, p. 539, 2011.

SILIC-BENUSSI, M. *et al*. HTLV-1 p13, a small protein with a busy agenda. **Molecular aspects of medicine**, v. 31, n. 5, p. 350-358, 2010.

SOHA, A. *et al*. HLA class II DRB1, DQA1, DQB1 loci in patients with HIV infection and tuberculosis in a Latvian cohort group. **Central-European journal of immunology**, v. 49, n. 1, p. 37–44, 2024.

SOURI, Z.; AHMADIEH, H. Exploring the Connection Between HLA Class I and Class II Genotypes and Diabetic Retinopathy: A Comprehensive Review of Experimental Evidence. **Experimental Eye Research**, p. 110112, 2024.

SOUZA, R. L. *et al*. Molecular epidemiology of HIV-1 and HTLV-1/2 among female sex workers in four cities in the state of Para, Northern Brazil. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 602664, 2020.

SUNDARAM, R.; BEEBE, M.; KAUMAYA, P. T. P. Structural and immunogenicity analysis of chimeric B-cell epitope constructs derived from the gp46 and gp21 subunits of the envelope glycoproteins of HTLV-1. **The Journal of peptide research**, v. 63, n. 2, p. 132-140, 2004.

SWITZER, W. M. *et al*. Ancient, independent evolution and distinct molecular features of the novel human T-lymphotropic virus type 4. **Retrovirology**, v. 6, p. 1-20, 2009.

TAKATSUKI, Kiyoshi. Discovery of adult T-cell leukemia. **Retrovirology**, v. 2, n. 1, p. 1-3, 2005.

TAN, B. J. Y *et al*. HTLV-1 infection promotes excessive T cell activation and transformation into adult T cell leukemia/lymphoma. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 131, n. 24, 2021.

TANAKA, Y. *et al*. A glycoprotein antigen detected with new monoclonal antibodies on the surface of human lymphocytes infected with human T-cell leukemia virus type-I (HTLV-I). **International Journal of Cancer**, v. 36, n. 5, p. 549-555, 1985.

TEDESCHI, G. *et al*. Aggregation properties of a disordered protein are tunable by pH and depend on its net charge per residue. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1861, n. 11, p. 2543-2550, 2017.

TRENTIN, B.; REBEYROTTE, N.; MAMOUN, R. Z. Human T-cell leukemia virus type 1 reverse transcriptase (RT) originates from the pro and pol open reading frames and requires the presence of RT-RNase H (RH) and RT-RH-integrase proteins for its activity. **Journal of virology**, v. 72, n. 8, p. 6504-6510, 1998.

TUERKOVA, A.; KASSON, P. M. Computational methods to study enveloped viral entry. **Biochemical Society Transactions**, v. 49, n. 6, p. 2527-2537, 2021.

UCHIYAMA, T. *et al*. Adult T-cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases. **Blood**, v. 50, n. 3, p. 481-492, 1977.

UDENWOBELE, D. I. *et al*. Myristoylation: an important protein modification in the immune response. **Frontiers in immunology**, v. 8, p. 751, 2017.

UMEKITA, K.; OKAYAMA, A.. HTLV-1 infection and rheumatic diseases. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 152, 2020.

VALLINOTO, A. 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**, p. 633-644, 2002.

VALLINOTO, A. C. R. *et al*. Serological and molecular evidence of HTLV-I infection among Japanese immigrants living in the Amazon region of Brazil. **Japanese journal of infectious diseases**, v. 57, n. 4, p. 156-159, 2004.

VALLINOTO, A. C. R. *et al*. Identification of human T-cell lymphotropic virus infection in a semi-isolated Afro-Brazilian quilombo located in the Marajó Island (Pará, Brazil). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, p. 103-105, 2006.

VALLINOTO, A. C. R. *et al*. Isolation of the Arawete and Asurini Indians keeps the tribes free from HTLV infection during 36 years of follow-up. **Retrovirology**, v. 16, p. 1-4, 2019.

VALLINOTO, A. C. R.; ISHAK, R. HTLV-2: an ancient infection among Indian people of Brazilian Amazon Region. **Rev Pan-Amaz Saude**, v. 8, p. 7-9, 2017.

VANDAMME, A. M. *et al*. African origin of human T-lymphotropic virus type 2 (HTLV-2) supported by a potential new HTLV-2d subtype in Congolese Bambuti Efe Pygmies. **Journal of Virology**, v. 72, n. 5, p. 4327-4340, 1998.

VAN PROOYEN, N. *et al*. Hijacking the T-cell communication network by the human T-cell leukemia/lymphoma virus type 1 (HTLV-1) p12 and p8 proteins. **Molecular aspects of medicine**, v. 31, n. 5, p. 333-343, 2010.

VEJBAESYA, S. *et al*. HLA class I supertype associations with clinical outcome of secondary dengue virus infections in ethnic Thais. **The journal of infectious diseases**, v. 212, n. 6, p. 939–947, 2015.

VENNEMA, H.; DE BRUIN, E.; KOOPMANS, M. Rational optimization of generic primers used for Norwalk-like virus detection by reverse transcriptase polymerase chain reaction. **Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology**, v. 25, n. 2, p. 233–235, 2002.

VERDONCK, K. *et al*. Human T-lymphotropic virus 1: recent knowledge about an ancient infection. **The Lancet infectious diseases**, v. 7, n. 4, p. 266-281, 2007.

VIEIRA, B. A. *et al*. Prevalence of human T-lymphotropic virus type 1 and 2 (HTLV-1/-2) infection in pregnant women in Brazil: a systematic review and meta-analysis. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 15367, 2021.

WANG, W. *et al*. A systematic study of the N-glycosylation sites of HIV-1 envelope protein on infectivity and antibody-mediated neutralization. **Retrovirology**, v. 10, p. 1-14, 2013.
WANG, M.; CLAESSON, M. H. Classification of human leukocyte antigen (HLA) supertypes. In: **Immunoinformatics**. New York, NY: Springer New York, 2014. p. 309-317.

WASITYASTUTI, W. *et al*. Protective effects of HLA-DPA1/DPB1 variants against Hepatitis B virus infection in an Indonesian population. I**nfection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases**, v. 41, p. 177–184, 2016.

WEISS, R. A. On the concept and elucidation of endogenous retroviruses. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 368, n. 1626, p. 20120494, 2013.

WEISS, R. A.; VOGT, P. K. 100 years of Rous sarcoma virus. **Journal of Experimental Medicine**, v. 208, n. 12, p. 2351-2355, 2011.

WHITE, J. M. *et al*. Structures and mechanisms of viral membrane fusion proteins: multiple variations on a common theme. **Critical reviews in biochemistry and molecular biology**, v. 43, n. 3, p. 189-219, 2008.

WHITE, J. M. *et al*. Viral membrane fusion: a dance between proteins and lipids. **Annual review of virology**, v. 10, n. 1, p. 139-161, 2023.

WHITELEGGE, J. *et al*. Top-down mass spectrometry of integral membrane proteins. **Expert review of proteomics**, v. 3, n. 6, p. 585-596, 2006.

WILLIAMS, W. B. *et al*. Vaccine induction of heterologous HIV-1-neutralizing antibody B cell lineages in humans. **Cell**, v. 187, n. 12, p. 2919-2934. e20, 2024.

WILSON, K. A. *et al*. The conserved glycine-rich segment linking the N-terminal fusion peptide to the coiled coil of human T-cell leukemia virus type 1 transmembrane glycoprotein gp21 is a determinant of membrane fusion function. **Journal of virology**, v. 79, n. 7, p. 4533-4539, 2005.

WOLFE, N. D. *et al*. Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 22, p. 7994-7999, 2005.

ZHENG, J.; WEI, Y.; HAN, G. Z. The diversity and evolution of retroviruses: perspectives from viral “fossils”. **Virologica Sinica**, v. 37, n. 1, p. 11-18, 2022.

ZONG, Y. *et al*. Mechanism of secondary glaucoma development in HTLV-1 uveitis. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 738742, 2022.

FONTES DE FINANCIAMENTO

Projeto de pesquisa financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), sob a forma de uma bolsa de estudos fornecida ao mestrando.

ANEXO 1

Comprovante de cadastro de acesso no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen).

Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso
Cadastro nº A8AC796

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro:	**A8AC796**
Usuário:	**Carlos Alberto Marques de Carvalho**
CPF/CNPJ:	**115.522.647-00**
Objeto do Acesso:	**Patrimônio Genético**
Finalidade do Acesso:	**Pesquisa**

Espécie

Human T-cell lymphotropic virus 1
Human T-cell lymphotropic virus 2

Título da Atividade:	**Análise Comparativa das Propriedades Bioquímicas e Imunológicas da Proteína de Fusão dos Vírus Linfotrópicos de Células T Humanas**

Equipe

Carlos Alberto Marques de Carvalho	**UEPA**
Mateus Almeida Castro	**UEPA**

Data do Cadastro:	**09/03/2025 20:16:15**
Situação do Cadastro:	**Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **20:16** de **09/03/2025**.

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO - SISGEN

ANEXO 2

Abreviação, simbologia e polaridade referentes aos aminoácidos.

Nome do aminoácido	Abreviação	Símbolo	Polaridade
Alanina	Ala	A	Apolar
Arginina	Arg	R	Polar básico
Asparagina	Asn	N	Polar neutro
Aspartato ou Ácido aspártico	Asp	D	Polar ácido
Cisteína	Cys/Cis	C	Apolar
Fenilalanina	Phe/Fen	F	Apolar
Glicina ou Glicocola	Gly/Gli	G	Apolar
Glutamato ou Ácido glutâmico	Glu	E	Polar ácido
Glutamina	Gln	Q	Polar neutro
Histidina	His	H	Polar básico
Isoleucina	Ile	I	Apolar
Leucina	Leu	L	Apolar
Lisina	Lys/Lis	K	Polar básico
Metionina	Met	M	Apolar
Prolina	Pro	P	Apolar
Serina	Ser	S	Polar neutro
Tirosina	Tyr/Tir	Y	Polar neutro
Treonina	Thr/Tre	T	Polar neutro
Triptofano	Trp/Tri	W	Apolar
Valina	Val	V	Apolar

ANEXO 3

Trabalho científico baseado na dissertação publicado nos Anais do I Congresso Amazônico de Medicina e Inovação em Saúde.



ESTRUTURA E FUNÇÃO DA PROTEÍNA GP21 DO HTLV: ANÁLISE COMPARATIVA DAS DIFERENÇAS ENTRE OS TIPOS 1 E 2

Mateus Almeida Castro
Antonio Carlos Rosário Vallinoto
Carlos Alberto Marques de Carvalho

INTRODUÇÃO

A infecção causada pelos vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos 1 e 2 (HTLVs-1/2), membros do gênero *Deltaretrovirus* da família *Retroviridae*, apresenta relevante presença em populações humanas na região amazônica do Brasil, sobretudo em comunidades indígenas (ISHAK; ISHAK; VALLINOTO, 2020).

O HTLV-1 é dito mais patogênico por ter associação com doenças graves, como, por exemplo, leucemias e mielopatias, enquanto o HTLV-2 está relacionado a quadros neurodegenerativos, mas sem associação evidente com distúrbios linfoproliferativos (ABAD-FERNÁNDEZ *et al*., 2022; ERNZEN; PANFIL, 2022).

Análises computacionais das propriedades estruturais e funcionais da proteína gp21 – importante proteína de fusão de classe I que permite a instalação dos HTLVs-1/2 na célula hospedeira – podem possibilitar a detecção de particularidades que auxiliem na compreensão da virulência diferenciada do HTLV-1 em relação ao HTLV-2 (RATNER, 2022; REN *et al*., 2022).

OBJETIVOS

Caracterizar comparativamente *in silico* as propriedades estruturais e funcionais da proteína gp21 dos HTLVs-1/2.

MÉTODOS

As sequências aminoacídicas de referência da proteína gp21 dos HTLVs-1/2 foram obtidas a partir do banco de dados NCBI Virus em formato FASTA e inseridas

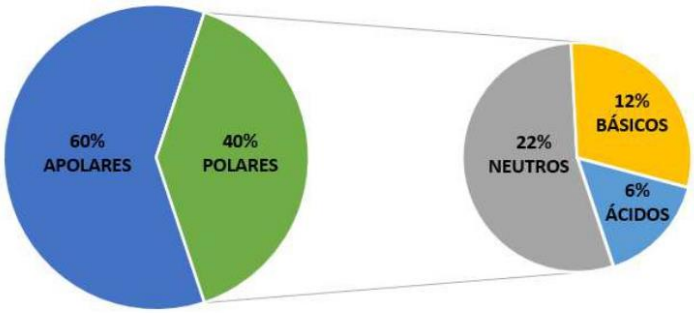
nas plataformas CLUSTAL OMEGA, PEPSTATS, PREDATOR, PROSCAN e PCPROF para as seguintes finalidades, respectivamente: detecção de substituições aminoacídicas, determinação de propriedades residuais, predição de estruturas secundárias, reconhecimento de potenciais modificações pós-traducionais e avaliação de propensão à hidrofilicidade, acessibilidade, flexibilidade e antigenicidade.

RESULTADOS

Através do alinhamento de sequências, evidenciou-se um nível de identidade aminoacídica de ~80%, com a ocorrência de múltiplas substituições de caráter conservativo e semiconservativo, além de raras regiões com substituições não conservativas e *gaps*, que podem resultar em alterações relevantes na estrutura e na função da proteína gp21 do HTLV-1 em comparação à do HTLV-2.

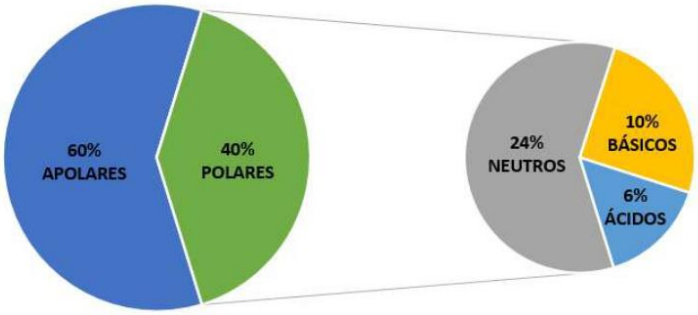
No que se refere às propriedades residuais, a proteína gp21 apresentou um predomínio do perfil apolar (~60% dos aminoácidos) tanto no HTLV-1 quanto no HTLV-2, mas, dentre os aminoácidos polares, notou-se um menor teor de aminoácidos neutros e um maior teor de aminoácidos básicos no HTLV-1 (~22% e ~12%, respectivamente) em comparação ao HTLV-2 (~24% e ~10%, respectivamente), segundo os Gráficos 1 e 2.

Gráfico 1 – Propriedades residuais da proteína gp21 do HTLV-1.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

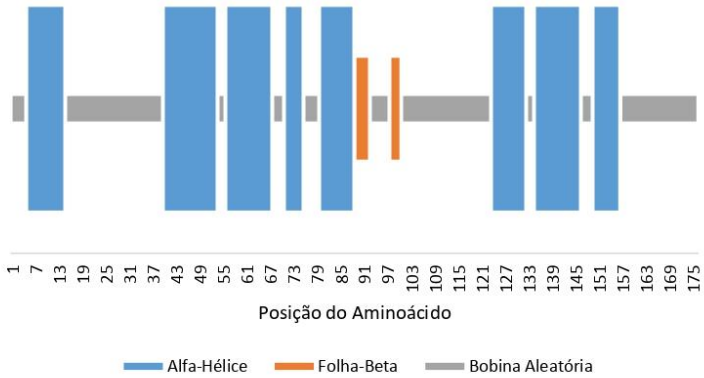
Gráfico 2 – Propriedades residuais da proteína gp21 do HTLV-2.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

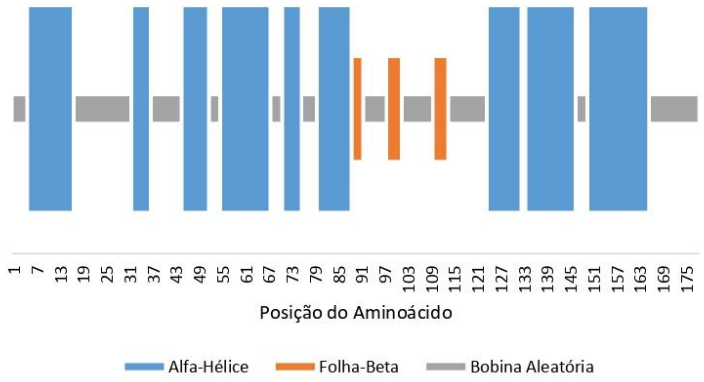
Quanto ao conteúdo de estruturas secundárias, a proteína gp21 dos HTLVs-1/2 evidenciou mais alfa-hélices (~44% e ~50%, respectivamente) do que folhas-beta (~4% e ~6%, respectivamente), com a maior parte da sua cadeia polipeptídica formada por regiões aleatoriamente enoveladas (~52% e ~44%, respectivamente), conforme expressa os Gráficos 3 e 4.

Gráfico 3 – Predição do conteúdo de estruturas secundárias da proteína gp21 do HTLV-1 de acordo com a posição de cada aminoácido.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

Gráfico 4 – Predição do conteúdo de estruturas secundárias da proteína gp21 do HTLV-2 de acordo com a posição de cada aminoácido.

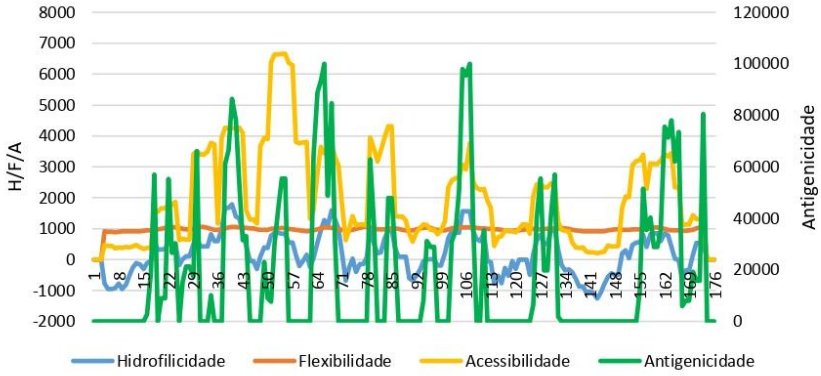


Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

Em relação às modificações pós-traducionais, verificou-se que a proteína gp21 do HTLV-1 apresentou menor tendência à N-miristoilação do que aquela do HTLV-2 (2 e 5 sequências-consenso, respectivamente), mas ambas apresentaram o mesmo potencial para N-glicosilação e fosforilação por PKC, com uma única sequência-consenso de cada tipo.

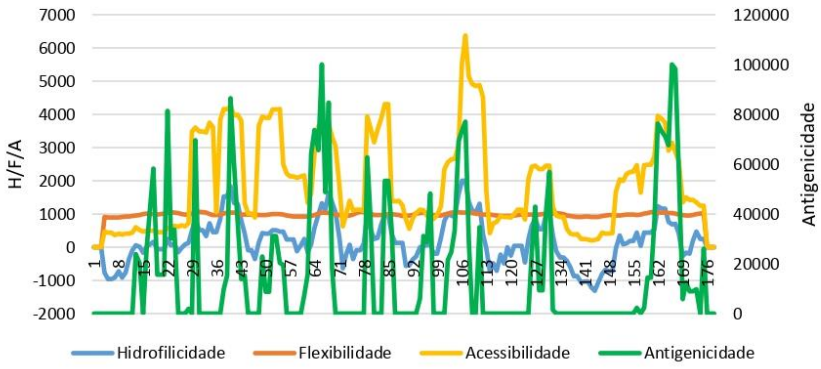
Por fim, na proteína gp21 do HTLV-1, a convergência dos parâmetros de hidrofilicidade, acessibilidade e flexibilidade resultou em uma maior propensão antigênica entre os aminoácidos 63-69 e 102-108, enquanto, na mesma proteína do HTLV-2, ocorreu uma maior propensão antigênica entre os aminoácidos 62-69 e 159-168, como pode ser evidenciado nos Gráficos 5 e 6.

Gráfico 5 – Propensão antigênica da proteína gp21 do HTLV-1.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

Gráfico 6 – Propensão antigênica da proteína gp21 do HTLV-2.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

CONCLUSÃO

Embora sejam altamente similares, as sequências aminoacídicas da proteína gp21 dos HTLVs-1/2 apresentam relevantes disparidades estruturais e funcionais, potencialmente resultantes de diferentes pressões seletivas ao longo do processo evolutivo, que podem influenciar a interação do vírus com a célula hospedeira e a natureza da resposta imune deflagrada pela infecção.

REFERÊNCIAS

ABAD-FERNÁNDEZ, M. *et al*. HTLV-2 Enhances CD8+ T Cell-Mediated HIV-1 Inhibition and Reduces HIV-1 Integrated Proviral Load in People Living with HIV-1. **Viruses**, v. 14, n. 11, p. 2472, 2022.

ERNZEN, K. J.; PANFIL, A. R. Regulation of HTLV-1 transformation. **Bioscience Reports**, v. 42, n. 3, p. BSR20211921, 2022.

ISHAK, R.; ISHAK, M. O. G.; VALLINOTO, A. C. R. The challenge of describing the epidemiology of HTLV in the Amazon region of Brazil. **Retrovirology**, v. 17, n. 1, p. 1-10, 2020.

RATNER, L. A role for an HTLV-1 vaccine? **Frontiers in Immunology**, v.13, p. 953650, 2022.

REN, J. *et al*. Interleukin-2 superkines by computational design. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 119, n. 12, p. e2117401119, 2022.

ANEXO 4

Artigo científico baseado na dissertação submetido no periódico *Computacional Biology and Chemistry*.

Computational Biology and Chemistry

Comparative analysis of the biochemical and immunological properties of the gp21 protein of human T-lymphotropic viruses 1 and 2

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Article Type:	Research Paper
Keywords:	Computational Biology; Viral Fusion Proteins; Deltaretrovirus
Corresponding Author:	Carlos Alberto M. Carvalho, Ph.D. University of Pará State Belém, Pará BRAZIL
First Author:	Mateus A. Castro
Order of Authors:	Mateus A. Castro
	Antonio Carlos R. Vallinoto
	Carlos Alberto M. Carvalho, Ph.D.
Abstract:	Computational biology analyses of the structural and functional properties of the gp21 protein of human T-lymphotropic viruses 1 and 2 (HTLV-1/2) – which enables the entry of HTLV-1/2 into host cells – allow the characterization of particularities of this viral macromolecule that may help elucidate the differential virulence between HTLV-1 and HTLV-2. The present study aimed to analyze, in a comparative manner, the biochemical and immunological properties of the gp21 protein of HTLV-1/2. The HTLV-1/2 gp21 protein reference sequences (RefSeq) were extracted from the NCBI Virus database in FASTA format and submitted to the computational tools Clustal Omega, Pepstats, Predator, Proscan, PCprof, and TepiTool to perform the following steps, respectively: estimation of the percentage identity level and detection of amino acid substitutions/insertions/deletions; determination of residual properties; prediction of secondary structures; identification of potential post-translational modifications; assessment of antigenic propensity; and verification of the binding affinity of peptides to human leukocyte antigens classes I and II (HLA-I/II). Through sequence alignment, an amino acid identity level of 80.68% was observed, with the occurrence of several conservative substitutions, in addition to rare regions with semiconservative and nonconservative substitutions, and gaps (insertions/deletions). Furthermore, the gp21 protein showed a predominance of nonpolar amino acids (60%) in both HTLV types. Regarding the content of predicted secondary structures, the gp21 protein of HTLV-1/2 presented more alpha-helices than beta-sheets. Regarding post-translational modifications, it was observed that the gp21 protein of HTLV-1 presented fewer N-myristoylations than that of HTLV-2. In the gp21 protein of HTLV-1, there was a greater antigenic propensity between amino acids 63-69 and 102-108, while, in HTLV-2, a greater antigenic propensity was observed between amino acids 62-69 and 159-168. Finally, the peptide 90-98 of the gp21 protein in both HTLV types showed better binding affinity to the HLA-A*02:03 allele, with a percentile of 0.12. Although they presented substantial similarity, the amino acid sequences of HTLV-1/2 gp21 proteins exhibit relevant structural and functional differences, probably resulting from distinct selective pressures throughout evolution, which may impact both the interaction of these viruses with their host cells and the immune response against infection.
Opposed Reviewers:	

Powered by Editorial Manager® and ProduXion Manager® from Aries Systems Corporation

Cover Letter

March 13rd, 2025

Dear Editor,

Please find enclosed our manuscript entitled **"Comparative analysis of the biochemical and immunological properties of the gp21 protein of human T-lymphotropic viruses 1 and 2"**, which we would like to submit for publication as a research paper in the journal *Computational Biology and Chemistry*.

This study provides a detailed computational analysis of the structural and functional properties of the gp21 protein of human T-lymphotropic viruses 1 and 2 (HTLV-1/2), which are critical for viral entry into host cells. By leveraging bioinformatics tools, we have identified key differences in amino acid composition, secondary structure, post-translational modifications, and immunogenic properties, which may contribute to the differential virulence observed between these HTLV types. The findings of this research offer insights into the molecular mechanisms underlying HTLV infection and provide valuable information for the development of targeted therapeutic and immunological strategies.

We believe that our manuscript aligns seamlessly with the scope and readership of the journal, offering novel insights that warrant dissemination to a broader scientific audience. Neither the manuscript nor any parts of its content are currently under consideration or published in another journal, and all authors have approved the final version and agree with its submission to *Computational Biology and Chemistry*. Lastly, we appreciate your time and effort in considering our work for publication and shall look forward to hearing from you at your earliest convenience.

Sincerely,

Prof. Dr. Carlos Alberto M. Carvalho
Department of Pathology
Center for Biological and Health Sciences
University of Pará State
Belém/PA, Brazil

Manuscript File

Click here to view linked References

Comparative analysis of the biochemical and immunological properties of the gp21 protein of human T-lymphotropic viruses 1 and 2

Mateus Almeida Castro[1], Antonio Carlos Rosário Vallinoto[2], Carlos Alberto Marques de Carvalho[1]

[1]Postgraduate Program in Parasite Biology in the Amazon, Center for Biological and Health Sciences, University of Pará State, Belém 66095-662, Pará, Brazil.

[2]Laboratory of Virology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Pará, Belém 66075-110, Pará, Brazil.

ABSTRACT

Computational biology analyses of the structural and functional properties of the gp21 protein of human T-lymphotropic viruses 1 and 2 (HTLV-1/2) – which enables the entry of HTLV-1/2 into host cells – allow the characterization of particularities of this viral macromolecule that may help elucidate the differential virulence between HTLV-1 and HTLV-2. The present study aimed to analyze, in a comparative manner, the biochemical and immunological properties of the gp21 protein of HTLV-1/2. The HTLV-1/2 gp21 protein reference sequences (RefSeq) were extracted from the NCBI Virus database in FASTA format and submitted to the computational tools Clustal Omega, Pepstats, Predator, Proscan, PCprof, and TepiTool to perform the following steps, respectively: estimation of the percentage identity level and detection of amino acid substitutions/insertions/deletions; determination of residual properties; prediction of secondary structures; identification of potential post-translational modifications; assessment of antigenic propensity; and verification of the binding affinity of peptides to human leukocyte antigens classes I and II (HLA-I/II). Through sequence alignment, an amino acid identity level of 80.68% was observed, with the occurrence of several conservative substitutions, in addition to rare regions with semiconservative and nonconservative substitutions, and gaps (insertions/deletions). Furthermore, the gp21 protein showed a predominance of nonpolar amino acids (60%) in both HTLV types. Regarding the content of predicted secondary structures, the gp21 protein of HTLV-1/2 presented more alpha-helices than beta-sheets. Regarding post-translational modifications, it was observed that the gp21 protein of HTLV-1 presented fewer N-myristoylations than that of HTLV-2. In the gp21 protein of HTLV-1, there was a greater antigenic propensity between amino acids 63-69 and 102-108, while, in HTLV-2, a greater antigenic propensity was observed between amino acids 62-69 and 159-168. Finally, the peptide 90-98 of the gp21 protein in both HTLV types showed better binding affinity to the HLA-A*02:03 allele, with a percentile of 0.12. Although they presented substantial similarity, the amino acid sequences of HTLV-1/2 gp21 proteins exhibit relevant structural and functional differences, probably resulting from distinct selective pressures throughout evolution, which may impact both the interaction of these viruses with their host cells and the immune response against infection.

Keywords: Computational Biology. Viral Fusion Proteins. Deltaretrovirus.

1. Introduction

Human T-lymphotropic viruses 1 and 2 (HTLV-1/2), belonging to the *Retroviridae* family, are responsible for causing long-lasting infections, with T lymphocytes as their main host cells (Araujo et al., 2002; Martinez et al., 2019). HTLV-1 is associated with serious diseases with high morbidity and mortality, such as adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL) (Gallo et al., 1983) and HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) (Gessain et al., 1985; Osame et al., 1986). While HTLV-2 has been associated with rare lymphoproliferative and neurological disorders, being considered low pathogenic (Hall et al., 1996).

Despite being considered more pathogenic, it is estimated that approximately 95% of individuals infected with HTLV-1 do not develop clinical symptoms related to this retrovirus. Unlike HIV, which replicates continuously even in asymptomatic individuals, HTLV-1 remains in a latent state, which indicates that its mere presence in the body is not enough to compromise the host. However, it has been observed that HTLV-1 has the ability to escape the surveillance of the immune system, promoting modifications in defense mechanisms, such as the induction of T cell anergy and the conversion of these cells to a regulatory phenotype (Nakahata et al., 2023).

HTLV-1/2 are transmitted through contact with infected cells retained in biological fluids, such as blood, semen, vaginal secretion, and breast milk, in addition to transmission of this retrovirus via the transplacental route or during childbirth (Rosadas et al., 2021). Globally, HTLV-1 is estimated to infect between 10 and 20 million individuals, with its distribution influenced by factors such as ethnic origin, risk behaviors, and geographic location (Gessain and Cassar, 2012). It is estimated that approximately 800,000 individuals worldwide are infected with HTLV-2, with half of this total being in the United States (Murphy et al., 2015).

The entry of these retroviruses into host cells occurs through the fusion of the viral envelope with the plasma membrane or with endosomal membranes, after its internalization by the endocytic pathway. Regardless of the mechanism involved, this process occurs in two successive steps: first, the surface protein (SU) or gp46 facilitates the binding of the virus to the target receptor, and then the transmembrane protein (TM) or gp21 promotes the fusion necessary for the entry of the virus into the cell (Jones et al., 2011).

Although the HTLV-1/2 gp21 protein is categorized as a class I fusion protein (Weissenhorn et al., 2007), several features of its structural and functional properties are still

not fully understood. However, analyses developed using computational biology tools represent an important strategy to elucidate the particularities regarding the structure and functioning of retrovirus fusion proteins (Tuerkova and Kasson, 2021), considering common and distinctive aspects between these viruses, which can help elucidate the differentiated virulence between HTLV-1 and HTLV-2.

Thus, the present research aimed to comparatively analyze in silico the biochemical and immunological properties of the HTLV-1/2 gp21 proteins to estimate the level of percentage identity and the presence of amino acid substitutions/insertions/deletions between their primary structures, determine their residual properties, predict their secondary structures, identify their potential post-translational modifications, evaluate their antigenic propensities, and verify the binding affinity of their peptides to classes I and II of human leukocyte antigens (HLA-I/II).

2. Methodology

2.1. Retrieval of gp21 protein amino acid sequences

The amino acid reference sequences (RefSeq) of the gp21 protein of HTLV-1 (NP_955621.1) and HTLV-2 (NP_954569.1) were accessed through the NCBI Virus platform (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/virus/vssi/#) and saved in FASTA format as complete amino acid sequences derived by conceptual translation of coding regions annotated in their respective reference nucleotide sequences. In accordance with what was recommended by Law 13.123/2015 and regulated by Decrees 8.772/2016 and 10.844/2021 of the Presidency of the Federative Republic of Brazil, this research was registered in the National System for Management of Genetic Heritage and Associated Traditional Knowledge (SisGen) under the number A8AC796.

2.2. Multiple alignment of gp21 protein amino acid sequences

Using the Clustal Omega server (Sievers et al., 2011), a multiple alignment of the amino acid sequences of the HTLV-1/2 gp21 protein was performed, considering the use of seeded guide trees and hidden Markov models to provide percentage identity levels between the sequences of interest, besides verifying positions in which the aligned amino acids were conserved and positions where amino acid substitutions (conservative, semiconservative, and nonconservative) and gaps (amino acid deletions or insertions) occurred.

2.3. Determination of residual properties of gp21 proteins

The primary sequences of HTLV-1/2 gp21 proteins were entered as input files into the Pepstats web server (Rice et al., 2000). This tool allowed the analysis of different physicochemical properties of the gp21 protein, such as molecular weight, net charge, isoelectric point (pI), and residual polarities. For the evaluation of the amino acid sequences, the terminal charges of the residues were considered, without the inclusion of monoisotopic weights.

2.4. Prediction of secondary structures of gp21 proteins

By submitting the amino acid sequences of the HTLV-1/2 gp21 protein to the Predator server (Combet et al., 2000), the content of secondary structures located in the polypeptide chain of the target protein, such as alpha-helices, beta-sheets, and intrinsically unstructured regions (random coils), was predicted, considering the output width of 70 amino acids and the marking of secondary structure data as DSSP format.

2.5. Identification of potential sites of post-translational modifications in gp21 proteins

The search for potential sites of post-translational modifications in the amino acid sequences of HTLV-1/2 gp21 proteins was performed by the Proscan server (Combet et al., 2000), establishing a similarity level of 100% (i.e., no mismatches).

2.6. Evaluation of antigenic propensities of gp21 proteins

The PCprof server (Combet et al., 2000) was used to evaluate the antigenic propensity of HTLV-1/2 gp21 proteins. For this purpose, their amino acid sequences were inserted into the tool, allowing the calculation of antigenicity based on parameters such as hydrophilicity, accessibility, and flexibility of its constituent amino acids, considering an analysis window size of 7 residues.

2.7. Verification of binding affinity of peptides derived from gp21 proteins to HLA-I/II

In order to evaluate the binding affinity of peptides derived from HTLV-1/2 gp21 proteins to HLA alleles, the TepiTool server (Paul et al., 2016) was used. The analysis was carried out using the consensus method, in the default setting for low number of peptides, taking into account the most frequent HLA-I A/B and HLA-II DRB1 alleles.

3. Results and discussion

3.1. Estimation of the percentage identity level between HTLV-1/2 gp21 protein sequences and the occurrence of amino acid substitutions and gaps

A multiple alignment revealed that the percentage identity between the amino acid sequences of HTLV-1/2 gp21 proteins was 80.68%, demonstrating high similarity between them. As previously predicted in previous studies, the high structural and functional conservation of this protein in both HTLV typs highlights the relevance of this characteristic for the action of the ectodomain during the fusion and post-fusion processes, which are essential for full viral infectivity and transmissibility. This domain presents an evolutionary adaptation that preserves a fusion mechanism shared between these viruses (Rosenberg et al., 1998).

Analysis of the amino acid composition of HTLV-1/2 gp21 proteins revealed that HTLV-2 has a greater number of amino acids (178 residues) compared to HTLV-1 (176 residues). Furthermore, the alignment allowed the identification of amino acid substitutions and gaps in certain positions of the compared sequences. Conservative substitutions were observed in 24 positions, indicating considerable conservation between groups of amino acids with similar physicochemical properties. Semiconservative substitutions were also identified in 2 positions, nonconservative substitutions in 8 positions and the presence of gaps (insertions or deletions) in 2 positions (Figure 1).

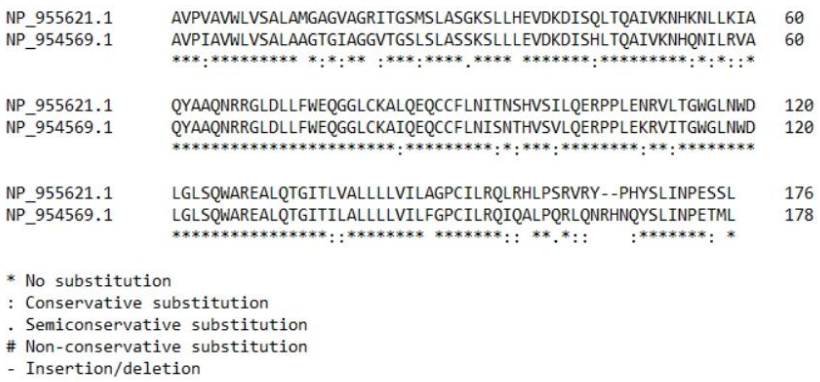


Fig. 1. Multiple alignment of HTLV-1/2 gp21 proteins. The alignment of the primary structure of the HTLV-1 gp21 protein in relation to that of HTLV-2 can be observed, with the conventional one-letter symbology of the amino acids (represented in capital letters). On the right side of the figure, the numbering indicates the quantity of amino acids arranged in 60-unit increments until the end of the aligned sequences. Below the aligned amino acid sequences, the symbology adopted for the recognition of amino acid substitutions can be seen.

Although conservative substitutions significantly preserve the physicochemical properties of the protein, the presence of semiconservative and nonconservative substitutions in the amino acid sequences of HTLV-1/2 gp21 proteins may indicate possible changes in fusogenicity and conformational stability of secondary structures. Studies on mutations in fusion proteins of other retroviruses suggest that these changes may impact both the structure and function of the protein (He et al., 2007). Furthermore, the identification of insertions and deletions in the RefSeq alignment of HTLV-1/2 gp21 proteins points to possible modifications in the functional dynamics of the protein (Shortle and Sondek, 1995).

3.2. Residual properties of HTLV-1/2 gp21 proteins

The molecular weights of HTLV-1/2 gp21s protein were 19.35 and 19.58 kDa, respectively, while their net charges were 7.5 and 5.0, respectively, and their approximate pIs were 9.29 and 8.52, respectively. Regarding the residual polarities, a predominance of nonpolar residues (60%) was observed in the gp21 protein of both HTLV types. Among the polar amino acids, in HTLV-1, a lower percentage of neutral residues (22%) and a higher proportion of basic residues (12%) were observed in comparison to HTLV-2, which presented 24% of neutral residues and 10% of basic residues (Figure 2).

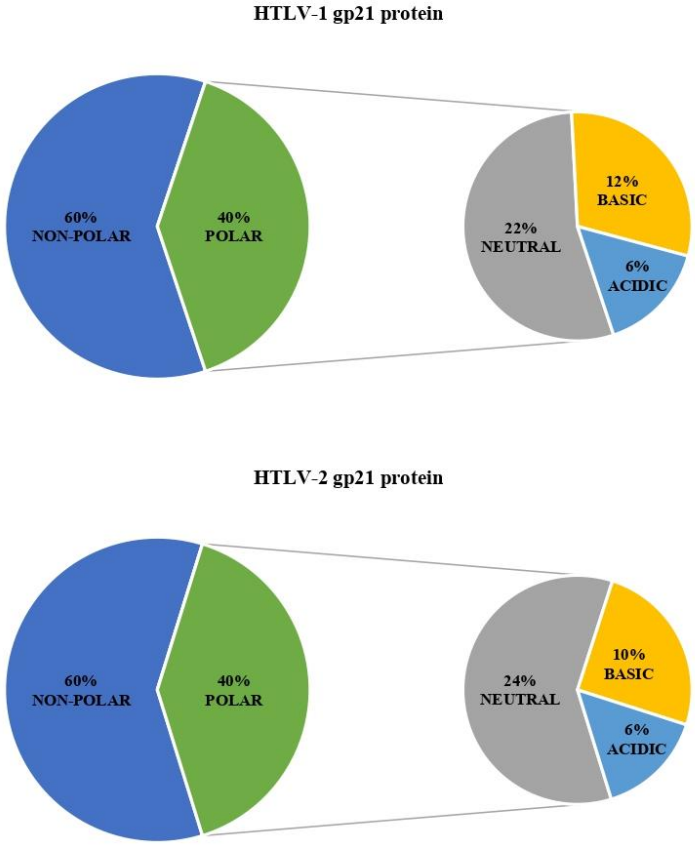


Fig. 2. Residual polarities of HTLV-1/2 gp21 proteins. The amounts of residues grouped according to their polarities were represented as percentage values expressed in the illustration above. The larger sector graph on the left shows the percentage values corresponding to the amount of polar and nonpolar residues. On the right, the smaller sector graph shows the percentage values corresponding to the classifications of the polar amino acids identified in HTLV-1/2 gp21 proteins.

Despite containing polar residues, the abundance of nonpolar residues in the HTLV-1/2 gp21 protein was expected for a viral fusion protein. This characteristic reflects its evolutionary adaptation to interact with the lipid bilayer of the target cell plasma membrane, allowing its insertion into a hydrophobic environment (White et al., 2023). As a transmembrane protein, gp21 exhibits a mixed composition of polar and nonpolar residues, evidencing its amphipathic nature. This structural organization includes soluble polar domains, which interact with aqueous components, and nonpolar transmembrane domains, which interact with the lipid portion of the

membrane, influencing its function in both the extracellular and intracellular environments (Whitelegge et al., 2006).

3.3. Predicted secondary structures of HTLV-1/2 gp21 proteins

As expected for a class I viral fusion protein, whose notable feature is the prominence of alpha-helices as the main secondary structure in addition to the random coil content (White et al., 2008), predictive analysis of the secondary structures of HTLV-1/2 gp21 proteins indicated a predominance of alpha-helices (44.32% and 50.00%, respectively) compared to beta-sheets (3.98% and 6.18%, respectively). Much of the polypeptide chain was composed of random coils, totaling 51.70% in HTLV-1 and 43.82% in HTLV-2. It was also observed that beta-sheets were restricted to the central third of the HTLV-1/2 gp21 protein, while the N-terminal and C-terminal thirds presented exclusively a combination of alpha-helices and random coils (Figure 3).

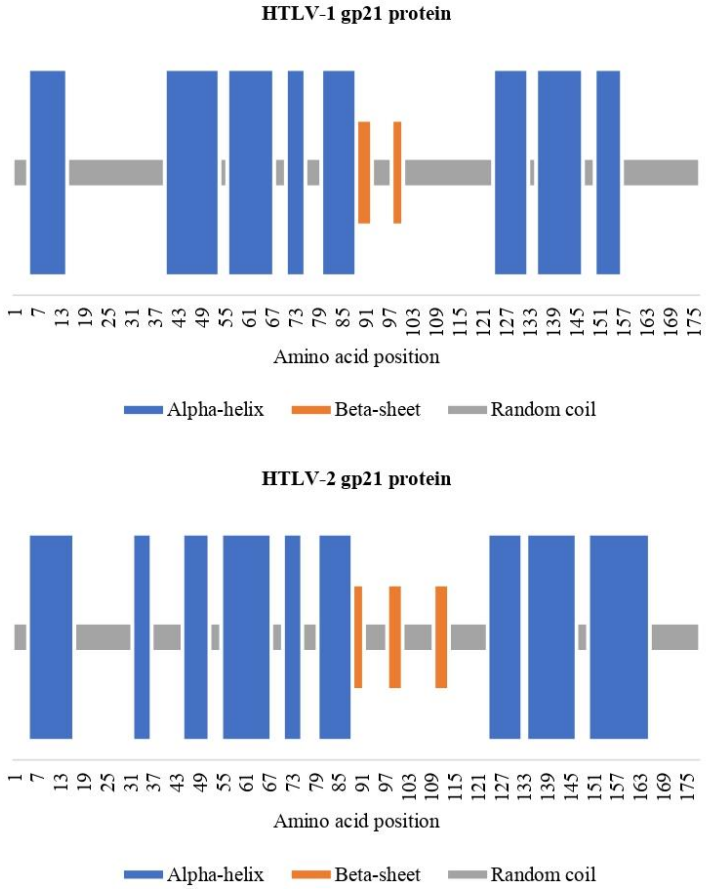


Fig. 3. Predicted secondary structures of HTLV-1/2 gp21 proteins. The bars in the graphs, represented at different heights (merely illustrative criterion), highlight the distribution of secondary structures in each amino acid shown in HTLV-1/2 gp21 proteins.

The significant presence of alpha-helices in HTLV-1/2 gp21 proteins plays an essential role in the fusion process, during which these structures pass from a compact conformation to an extended intermediate state. This rearrangement facilitates the approximation between the viral and target cell membranes, resulting in the formation of a stable bundle of six helices. This mechanism allows the connection between the membranes and the consequent fusion of their phospholipids (Rey and Lok, 2018).

3.4. Potential post-translational modifications of HTLV-1/2 gp21 proteins

The HTLV-1 gp21 protein demonstrated a lower propensity for N-myristoylation relative to that of HTLV-2 (2 and 5 consensus patterns, respectively). However, both viruses exhibited the same potential for N-glycosylation and protein kinase C (PKC) phosphorylation, each with a single consensus pattern for these types of modifications (Figure 4).

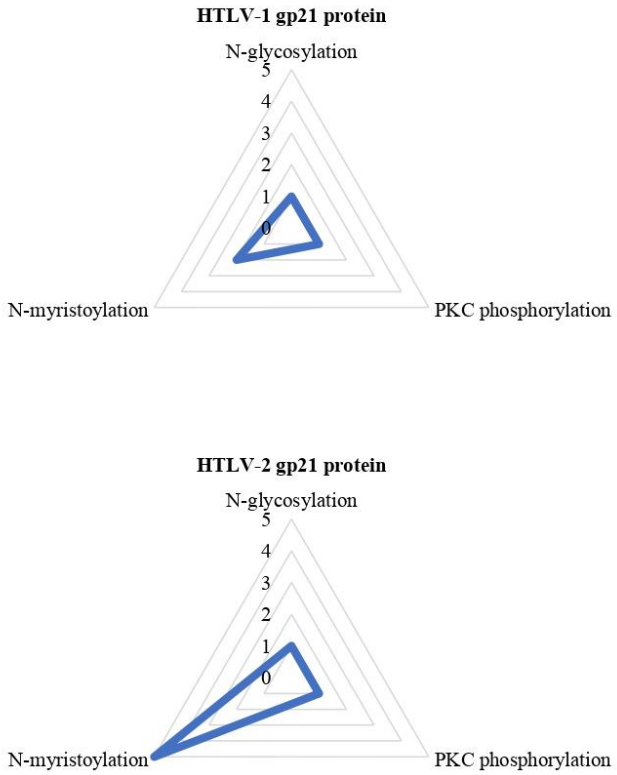


Fig. 4. Potential post-translational modifications of HTLV-1/2 gp21 proteins. The potential types of post-translational modifications of HTLV-1/2 gp21 proteins are arranged in radar graphs, with their quantities indicated from the tip (highest values) to the center (null value).

A previous study indicated that the HTLV-1 gp21 protein has only one N-glycosylation site (Ratner, 2022). Another study, which analyzed the potential sites of post-translational modification of HTLV-1 envelope proteins based on blood samples from individuals from the Brazilian Amazon, identified an N-myristoylation site and a PKC phosphorylation site in the

gp21 protein (Mota-Miranda et al., 2008). Thus, the combination of these studies reinforces the findings of the present study by predicting the occurrence of these three post-translational modifications in the HTLV-1/2 gp21 proteins.

N-myristoylation plays an essential role in increasing specific interactions between proteins within the intracellular environment, contributing to the regulation of cellular signaling pathways and assisting in the targeting of proteins to endomembranes and the plasma membrane (Mcilhinney, 1998). This post-translational modification influences signaling cascades in immune cells, impacting biological processes such as myelopoiesis, T-cell lymphopoiesis, the development of innate and adaptive immune responses, and the formation of the immunological synapse (Udenwobele et al., 2017).

N-glycosylation, on the other hand, compromises the humoral immune response by preventing antibody-mediated neutralization, since these cannot efficiently bind to antigenic epitopes due to steric barriers. This mechanism favors evasion of the immune system and contributes to increased viral infectivity (Wang et al., 2013). In turn, PKC-mediated phosphorylation is also associated with the modulation of viral infectivity, as it improves the efficiency of the interaction between viral proteins and their cellular receptors, facilitating the entry of the virus into host cells (Kudoh et al., 2014).

3.5. Antigenic propensities of HTLV-1/2 gp21 proteins

In HTLV-1/2 gp21 proteins, the combination of hydrophilicity, accessibility, and flexibility parameters resulted in greater antigenic propensities in the N-terminal region than in the C-terminal region, in agreement with what had already been discovered regarding the fusion protein of another member of the *Retroviridae* family (Caillat et al., 2020). Specifically, in the HTLV-1 gp21 protein, antigenic propensities reached their maximum around the residues Asn66 and Leu107. In the same HTLV-2 protein, the maximum antigenic propensity was observed around the residues Asn66 and His166 (Figure 5).

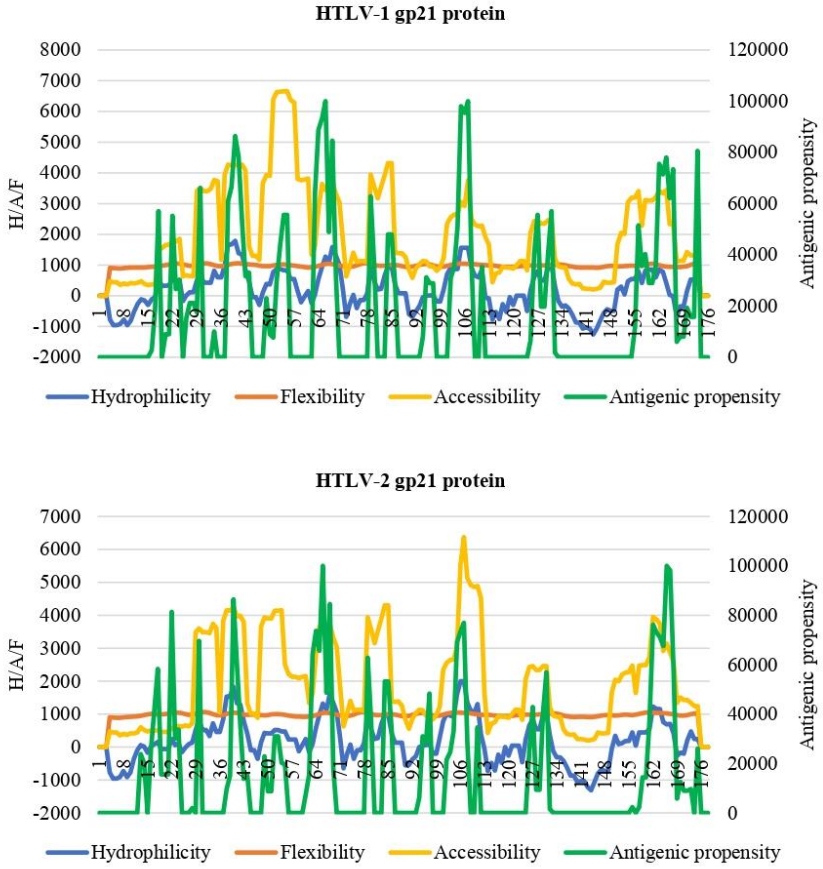


Fig. 5. Antigenic propensities of HTLV-1/2 gp21 proteins from the convolution of hydrophilicity, accessibility, and flexibility (H/A/F) variables. On the left side of the line graphs, the values referring to the hydrophilicity, flexibility, and accessibility properties of HTLV-1/2 gp21 proteins are represented. On the right side, the antigenicity values are expressed. At the bottom of the graphs, the positions of the amino acids that make up HTLV-1/2 gp21 proteins are indicated by numbers.

Due to its high immunogenicity, the gp21 protein stimulates the lymphocyte response, leading to the production of neutralizing antibodies that block the formation of virus-induced syncytia (Sundaram et al., 2004). Based on the immunological characteristics of the HIV fusion protein – another highly relevant retrovirus – it is predicted that the highly antigenic regions of HTLV-1/2 gp21 proteins play a key role in the activation of B cells and the generation of neutralizing antibodies. This is because these regions contain epitopes recognized by B cells,

triggering their activation and differentiation into plasma cells, which are responsible for the production of specific antibodies (Schiffner et al., 2024; Williams et al., 2024).

3.6. Binding affinities of peptides derived from HTLV-1/2 gp21 proteins to HLA-I/II

In the analysis of the binding affinity between peptides derived from HTLV-1/2 gp21 proteins and HLA-I/II alleles, it was found that, in the case of HLA-I, the HLA-A*02:03 and HLA-B*44:03 alleles demonstrated the highest predicted binding affinities, with percentiles of 0.12 and 0.13 for the peptides corresponding to residues 90-98 and 107-115 of the HTLV-1 gp21 protein, respectively (Table 1). Regarding HLA-II, the HLA-DRB5*01:01 and HLA-DPA1*03:01/DPB1*04:02 alleles showed the best binding affinities with peptides derived from residues 151-165 and 132-146 of the HTLV-1 gp21 protein, recording percentiles of 0.13 and 0.20, respectively (Table 2).

Initial amino acid of the peptide	**Final amino acid of the peptide**	**Peptide**	**Percentile**	**HLA-I allele**
90	98	FLNITNSHV	0.12	HLA-A*02:03
107	115	LENRVLTGW	0.13	HLA-B*44:03
107	115	LENRVLTGW	0.15	HLA-B*44:02
85	93	QEQCCFLNI	0.17	HLA-B*44:02
130	138	ALQTGITLV	0.17	HLA-A*02:03
12	20	LAMGAGVAG	0.20	HLA-B*35:01
161	169	RVRYPHYSL	0.20	HLA-B*07:02
85	93	QEQCCFLNI	0.21	HLA-B*44:03
24	32	GSMSLASGK	0.23	HLA-A*11:01
120	128	DLGLSQWAR	0.23	HLA-A*33:01

Table 1. Predicted binding affinities of peptides derived from the HTLV-1 gp21 protein to the most frequent HLA-I alleles.

Initial amino acid of the peptide	Final amino acid of the peptide	Peptide	Percentile	HLA-II allele
151	165	ILRQLRHLPSRVRYP	0.13	HLA-DRB5*01:01
132	146	QTGITLVALLLLVIL	0.20	HLA-DPA1*03:01/DPB1*04:02
8	22	LVSALAMGAGVAGRI	0.21	HLA-DQA1*05:01/DQB1*03:01
151	165	ILRQLRHLPSRVRYP	0.73	HLA-DRB1*11:01
109	123	NRVLTGWGLNWDLGL	0.77	HLA-DQA1*01:01/DQB1*05:01
132	146	QTGITLVALLLLVIL	1.50	HLA-DPA1*02:01/DPB1*01:01
90	104	FLNITNSHVSILQER	1.60	HLA-DQA1*01:02/DQB1*06:02
132	146	QTGITLVALLLLVIL	1.65	HLA-DPA1*01/DPB1*04:01
19	33	AGRITGSMSLASGKS	1.70	HLA-DQA1*01:02/DQB1*06:02
90	104	FLNITNSHVSILQER	1.90	HLA-DRB1*07:01

Table 2. Predicted binding affinities of peptides derived from the HTLV-1 gp21 protein to the most frequent HLA-II alleles.

The presence of alleles belonging to the HLA-A*02 group is commonly detected in different populations and is associated with protective immune responses (Vejbaesya et al., 2015). HLA-A*02:03 residues establish stable complexes with viral peptides, favoring efficient immune activation through the generation of T cell receptors (TCR) focused on antigen recognition, which demonstrates great potential for vaccine development (Ressing et al., 1999). A previous study indicated that the HLA-B*44:03 allele plays a significant role in defining molecular targets presented to cytotoxic T lymphocytes. This relationship was identified in HIV infections, where the immune response mediated by HLA-B*44:03 was shown to be effective in maternal protection. However, this same response may favor the transmission of the virus to the baby, since, when there is compatibility of alleles between mother and child, the child's immune response may be less effective (Mekue et al., 2019). Research has shown that the HLA-DRB5*01:01 allele plays an important role in the effective activation of CD4+ T lymphocytes (Scholz et al., 2017). In addition, the DPB1*04:02 allele is related to a robust response in the activation of helper T lymphocytes, especially when combined with alleles from the HLA-DPA1 group, which are essential in the antigen presentation process (Chung et al., 2013; Wasityastuti et al., 2016).

Regarding the binding affinity of peptides derived from the HTLV-2 gp21 protein with the HLA-I alleles, it was found that the HLA-A*02:03 and HLA-B*44:02 alleles presented higher binding affinities with the peptides corresponding to residues 90-98 and 85-93 of the

HTLV-2 gp21 protein, recording percentiles of 0.12 and 0.17, respectively (Table 3). Regarding HLA-II, the HLA-DPA1*03:01/DPB1*04:02 and HLA-DRB1*07:01 alleles demonstrated the highest binding affinities with the peptides derived from residues 132-146 and 24-38 of the HTLV-2 gp21 protein, reaching percentiles of 0.24 and 0.41, respectively (Table 4).

Initial amino acid of the peptide	Final amino acid of the peptide	Peptide	Percentile	HLA-I allele
90	98	FLNISNTHV	0.12	HLA-A*02:03
85	93	QEQCCFLNI	0.17	HLA-B*44:02
85	93	QEQCCFLNI	0.21	HLA-B*44:03
145	153	ILFGPCILR	0.22	HLA-A*33:01
120	128	DLGLSQWAR	0.23	HLA-A*33:01
107	115	LEKRVITGW	0.27	HLA-B*44:02
145	153	ILFGPCILR	0.34	HLA-A*03:01
161	169	RLQNRHNQY	0.37	HLA-A*30:02
129	137	EALQTGITI	0.40	HLA-B*51:01
136	144	TILALLLLV	0.42	HLA-A*02:06

Table 3. Predicted binding affinities of peptides derived from the HTLV-2 gp21 protein to the most frequent HLA-I alleles.

Initial amino acid of the peptide	Final amino acid of the peptide	Peptide	Percentile	HLA-II allele
132	146	QTGITILALLLLVIL	0.24	HLA-DPA1*03:01/DPB1*04:02
24	38	GSLSLASSKSLLLEV	0.41	HLA-DRB1*07:01
132	146	QTGITILALLLLVIL	0.52	HLA-DQA1*01:02/DQB1*06:02
150	164	CILRQIQALPQRLQN	0.96	HLA-DRB4*01:01
110	124	RVITGWGLNWDLGLS	1.10	HLA-DQA1*01:01/DQB1*05:01
132	146	QTGITILALLLLVIL	1.20	HLA-DPA1*02:01/DPB1*01:01
10	24	SALAAGTGIAGGVTG	1.30	HLA-DQA1*05:01/DQB1*03:01
139	153	ALLLLVILFGPCILR	1.30	HLA-DRB1*15:01
17	31	GIAGGVTGSLSLASS	1.80	HLA-DQA1*05:01/DQB1*03:01
48	62	AIVKNHQNILRVAQY	1.80	HLA-DRB1*13:02

Table 4. Predicted binding affinities of peptides derived from the HTLV-2 gp21 protein to the most frequent HLA-II alleles.

Further analysis of the immune response in individuals carrying the HLA-A*02:03 and HLA-B*44:02 alleles may provide valuable insights into the mechanisms of immune recognition, contributing to the development of therapeutic strategies, given that their immune response is highly effective (Jia et al., 2007; Attaf et al., 2020). However, the activity of HTLV-1/2 gp21 proteins may induce immune dysfunction, hindering the maturation of T lymphocytes in a manner similar to the immunosuppression caused by other retroviruses (Ruegg et al., 1989).

The gp21 protein demonstrates specific reactivity and can interact with infected cells through a monoclonal antibody of the IgG1 kappa subclass, which suggests its relevance in the humoral immune response (Miyagawa et al., 1998). The combination of HLA-DPA1*03:01 and DPB1*04:02 alleles is associated with an effective immune response against viral infections (Ou et al., 2021). On the other hand, the HLA-DRB1*07:01 allele, identified as a risk factor for HIV/TB coinfection, may indicate an immunogenetic predisposition to less favorable outcomes in individuals carrying this allele in the context of retrovirus infections (Soha et al., 2024).

4. Conclusion

Although they are highly similar, the amino acid sequences of HTLV-1/2 gp21 proteins have significant structural and functional differences, possibly resulting from different selective pressures during evolution. These variations may affect both the interaction of the virus with the host cell and the immune response to infection.

Conflict of interest

The authors declare that they are not aware of any conflicts of financial interest or personal relationships that could have influenced the work reported in this article.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for the funding provided to carry out this study.

References

Araujo, A., Sheehy, N., Takahashi, H., & Hall, W. W. (2002). Concomitant Infections with Human Immunodeficiency Virus Type 1 and Human T-Lymphotropic Virus Types 1 and 2. *Polymicrobial Diseases*, 75-97. https://doi.org/10.1128/9781555817947.ch5

Attaf, M., Roider, J., Malik, A., Rius Rafael, C., Dolton, G., Predergast, A. J., Leslie, A., Ndung'u, T., Kløverpris, H. N., Sewell, A. K., & Goulder, P. J. (2020). Cytomegalovirus-Mediated T Cell Receptor Repertoire Perturbation Is Present in Early Life. *Frontiers in immunology*, 11, 1587. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01587

Caillat, C., Guilligay, D., Sulbaran, G., & Weissenhorn, W. (2020). Neutralizing Antibodies Targeting HIV-1 gp41. *Viruses*, 12(11), 1210. https://doi.org/10.3390/v12111210

Chung, S., Roh, E. Y., Park, B., Lee, Y., Shin, S., Yoon, J. H., & Song, E. Y. (2019). GWAS identifying HLA-DPB1 gene variants associated with responsiveness to hepatitis B virus vaccination in Koreans: Independent association of HLA-DPB1*04:02 possessing rs1042169 G - rs9277355 C - rs9277356 A. *Journal of viral hepatitis*, 26(11), 1318–1329. https://doi.org/10.1111/jvh.13168

Combet, C., Blanchet, C., Geourjon, C., & Deléage, G. (2000). NPS@: network protein sequence analysis. *Trends in biochemical sciences*, 25(3), 147–150. https://doi.org/10.1016/s0968-0004(99)01540-6

Gallo, R. C., Sliski, A., & Wong-Staal, F. (1983). Origin of human T-cell leukaemia-lymphoma virus. *Lancet (London, England)*, 2(8356), 962–963. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(83)90471-3

Gessain, A., Barin, F., Vernant, J. C., Gout, O., Maurs, L., Calender, A., & de Thé, G. (1985). Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. *Lancet (London, England)*, 2(8452), 407–410. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(85)92734-5

Gessain, A., & Cassar, O. (2012). Epidemiological Aspects and World Distribution of HTLV-1 Infection. *Frontiers in microbiology*, *3*, 388. https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00388

Hall, W. W., Ishak, R., Zhu, S. W., Novoa, P., Eiraku, N., Takahashi, H., Ferreira, M.daC., Azevedo, V., Ishak, M. O., Ferreira, O.daC., Monken, C., & Kurata, T. (1996). Human T lymphotropic virus type II (HTLV-II): epidemiology, molecular properties, and clinical features of infection. *Journal of acquired immune deficiency syndromes and human retrovirology : official publication of the International Retrovirology Association*, *13 Suppl 1*, S204–S214. https://doi.org/10.1097/00042560-199600001-00031

He, Y., Liu, S., Jing, W., Lu, H., Cai, D., Chin, D. J., Debnath, A. K., Kirchhoff, F., & Jiang, S. (2007). Conserved residue Lys574 in the cavity of HIV-1 Gp41 coiled-coil domain is critical for six-helix bundle stability and virus entry. *The Journal of biological chemistry*, 282(35), 25631–25639. https://doi.org/10.1074/jbc.M703781200

Jia, Q., Xu, L., Zha, Q., Chi, X., Li, F., & He, X. (2007). High level expression of HLA-A*0203-BSP fusion protein in Escherichia coli and construction of soluble HLA-A*0203 monomer and tetramer loaded with Epstein-Barr virus peptide. *Cellular & molecular immunology*, 4(4), 301–308.

Jones, K. S., Lambert, S., Bouttier, M., Bénit, L., Ruscetti, F. W., Hermine, O., & Pique, C. (2011). Molecular aspects of HTLV-1 entry: functional domains of the HTLV-1 surface subunit

(SU) and their relationships to the entry receptors. *Viruses*, 3(6), 794–810. https://doi.org/10.3390/v3060794

Kudoh, A., Takahama, S., Sawasaki, T., Ode, H., Yokoyama, M., Okayama, A., Ishikawa, A., Miyakawa, K., Matsunaga, S., Kimura, H., Sugiura, W., Sato, H., Hirano, H., Ohno, S., Yamamoto, N., & Ryo, A. (2014). The phosphorylation of HIV-1 Gag by atypical protein kinase C facilitates viral infectivity by promoting Vpr incorporation into virions. *Retrovirology*, 11, 9. https://doi.org/10.1186/1742-4690-11-9

Martinez, M. P., Al-Saleem, J., & Green, P. L. (2019). Comparative virology of HTLV-1 and HTLV-2. *Retrovirology*, 16(1), 21. https://doi.org/10.1186/s12977-019-0483-0

McIlhinney R. A. (1998). Membrane targeting via protein N-myristoylation. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 88, 211–225. https://doi.org/10.1385/0-89603-487-9:211

Mekue, L. M., Nkenfou, C. N., Ndukong, E., Yatchou, L., Dambaya, B., Ngoufack, M. N., Kameni, J. K., Kuiaté, J. R., & Ndjolo, A. (2019). HLA A*32 is associated to HIV acquisition while B*44 and B*53 are associated with protection against HIV acquisition in perinatally exposed infants. *BMC pediatrics*, 19(1), 249. https://doi.org/10.1186/s12887-019-1620-6

Miyagawa, E., Yoshiki, A., Fujii, N., Honda, H., Ueno, E., Kurano, Y., & Ito, S. (1998). Establishment of monoclonal antibody, gp21-34, against HTLV-II envelope protein (p20E). *Hybridoma*, 17(4), 347–354. https://doi.org/10.1089/hyb.1998.17.347

Mota-Miranda, A. C., Araújo, S. P., Dias, J. P., Colin, D. D., Kashima, S., Covas, D. T., Tavares-Neto, J., Galvão-Castro, B., & Alcantara, L. C. (2008). HTLV-1 infection in blood donors from the Western Brazilian Amazon region: seroprevalence and molecular study of viral isolates. *Journal of medical virology*, 80(11), 1966–1971. https://doi.org/10.1002/jmv.21300

Murphy, E. L., Cassar, O., & Gessain, A. (2015). Estimating the number of HTLV-2 infected persons in the world. *Retrovirology*, 12(Suppl 1), O5. https://doi.org/10.1186/1742-4690-12-S1-O5

Nakahata, S., Enriquez-Vera, D., Jahan, M. I., Sugata, K., & Satou, Y. (2023). Understanding the Immunopathology of HTLV-1-Associated Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma: A Comprehensive Review. *Biomolecules*, 13(10), 1543. https://doi.org/10.3390/biom13101543

Osame, M., Usuku, K., Izumo, S., Ijichi, N., Amitani, H., Igata, A., Matsumoto, M., & Tara, M. (1986). HTLV-I associated myelopathy, a new clinical entity. *Lancet (London, England)*, 1(8488), 1031–1032. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(86)91298-5

Ou, G., Liu, X., & Jiang, Y. (2021). HLA-DPB1 alleles in hepatitis B vaccine response: A meta-analysis. *Medicine*, 100(14), e24904. https://doi.org/10.1097/MD.0000000000024904

Paul, S., Sidney, J., Sette, A., & Peters, B. (2016). TepiTool: A Pipeline for Computational Prediction of T Cell Epitope Candidates. *Current protocols in immunology*, 114, 18.19.1–18.19.24. https://doi.org/10.1002/cpim.12

Ratner L. (2022). A role for an HTLV-1 vaccine?. *Frontiers in immunology*, 13, 953650. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.953650

Ressing, M. E., de Jong, J. H., Brandt, R. M., Drijfhout, J. W., Benckhuijsen, W. E., Schreuder, G. M., Offringa, R., Kast, W. M., & Melief, C. J. (1999). Differential binding of viral peptides to HLA-A2 alleles. Implications for human papillomavirus type 16 E7 peptide-based vaccination against cervical carcinoma. *European journal of immunology*, 29(4), 1292–1303. https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4141(199904)29:04<1292::AID-IMMU1292>3.0.CO;2-6

Rey, F. A., & Lok, S. M. (2018). Common Features of Enveloped Viruses and Implications for Immunogen Design for Next-Generation Vaccines. *Cell*, 172(6), 1319–1334. https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.054

Rice, P., Longden, I., & Bleasby, A. (2000). EMBOSS: the European Molecular Biology Open Software Suite. *Trends in genetics : TIG*, 16(6), 276–277. https://doi.org/10.1016/s0168-9525(00)02024-2

Rosadas, C., Menezes, M. L. B., Galvão-Castro, B., Assone, T., Miranda, A. E., Aragón, M. G., Caterino-de-Araujo, A., Taylor, G. P., & Ishak, R. (2021). Blocking HTLV-1/2 silent transmission in Brazil: Current public health policies and proposal for additional strategies. *PLoS neglected tropical diseases*, 15(9), e0009717. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009717

Rosenberg, A. R., Delamarre, L., Preira, A., & Dokhélar, M. C. (1998). Analysis of functional conservation in the surface and transmembrane glycoprotein subunits of human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2. *Journal of virology*, 72(9), 7609–7614. https://doi.org/10.1128/JVI.72.9.7609-7614.1998

Ruegg, C. L., Monell, C. R., & Strand, M. (1989). Identification, using synthetic peptides, of the minimum amino acid sequence from the retroviral transmembrane protein p15E required for inhibition of lymphoproliferation and its similarity to gp21 of human T-lymphotropic virus types I and II. *Journal of virology*, 63(8), 3250–3256. https://doi.org/10.1128/JVI.63.8.3250-3256.1989

Schiffner, T., Phung, I., Ray, R., Irimia, A., Tian, M., Swanson, O., Lee, J. H., Lee, C. D., Marina-Zárate, E., Cho, S. Y., Huang, J., Ozorowski, G., Skog, P. D., Serra, A. M., Rantalainen, K., Allen, J. D., Baboo, S., Rodriguez, O. L., Himansu, S., Zhou, J., … Schief, W. R. (2024). Vaccination induces broadly neutralizing antibody precursors to HIV gp41. *Nature immunology*, 25(6), 1073–1082. https://doi.org/10.1038/s41590-024-01833-w

Scholz, E. M., Marcilla, M., Daura, X., Arribas-Layton, D., James, E. A., & Alvarez, I. (2017). Human Leukocyte Antigen (HLA)-DRB1*15:01 and HLA-DRB5*01:01 Present Complementary Peptide Repertoires. *Frontiers in immunology*, 8, 984. https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00984

Sievers, F., Wilm, A., Dineen, D., Gibson, T. J., Karplus, K., Li, W., Lopez, R., McWilliam, H., Remmert, M., Söding, J., Thompson, J. D., & Higgins, D. G. (2011). Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Molecular systems biology*, 7, 539. https://doi.org/10.1038/msb.2011.75

Shortle, D., & Sondek, J. (1995). The emerging role of insertions and deletions in protein engineering. *Current opinion in biotechnology*, 6(4), 387–393. https://doi.org/10.1016/0958-1669(95)80067-0

Soha, A., Azina, I., Rozentale, B., Kramicha, K., Sture, G., Savicka, O., & Titovica, G. (2024). HLA class II DRB1, DQA1, DQB1 loci in patients with HIV infection and tuberculosis in a Latvian cohort group. *Central-European journal of immunology*, 49(1), 37–44. https://doi.org/10.5114/ceji.2024.138738

Sundaram, R., Beebe, M., & Kaumaya, P. T. (2004). Structural and immunogenicity analysis of chimeric B-cell epitope constructs derived from the gp46 and gp21 subunits of the envelope glycoproteins of HTLV-1. *The journal of peptide research : official journal of the American Peptide Society*, 63(2), 132–140. https://doi.org/10.1111/j.1399-3011.2003.00113.x

Tuerkova, A., & Kasson, P. M. (2021). Computational methods to study enveloped viral entry. *Biochemical Society transactions*, 49(6), 2527–2537. https://doi.org/10.1042/BST20210190

Udenwobele, D. I., Su, R. C., Good, S. V., Ball, T. B., Varma Shrivastav, S., & Shrivastav, A. (2017). Myristoylation: An Important Protein Modification in the Immune Response. *Frontiers in immunology*, 8, 751. https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00751

Vejbaesya, S., Thongpradit, R., Kalayanarooj, S., Luangtrakool, K., Luangtrakool, P., Gibbons, R. V., Srinak, D., Ngammthaworn, S., Apisawes, K., Yoon, I. K., Thomas, S. J., Jarman, R. G., Srikiakthachorn, A., Green, S., Chandanayingyong, D., Park, S., Friedman, J., Rothman, A. L., & Stephens, H. A. (2015). HLA Class I Supertype Associations With Clinical Outcome of Secondary Dengue Virus Infections in Ethnic Thais. *The Journal of infectious diseases*, 212(6), 939–947. https://doi.org/10.1093/infdis/jiv127

Wang, W., Nie, J., Prochnow, C., Truong, C., Jia, Z., Wang, S., Chen, X. S., & Wang, Y. (2013). A systematic study of the N-glycosylation sites of HIV-1 envelope protein on infectivity and antibody-mediated neutralization. *Retrovirology*, 10, 14. https://doi.org/10.1186/1742-4690-10-14

Wasityastuti, W., Yano, Y., Ratnasari, N., Triyono, T., Triwikatmani, C., Indrarti, F., Heriyanto, D. S., Yamani, L. N., Liang, Y., Utsumi, T., & Hayashi, Y. (2016). Protective effects of HLA-DPA1/DPB1 variants against Hepatitis B virus infection in an Indonesian population. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 41, 177–184. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.03.034

Weissenhorn, W., Hinz, A., & Gaudin, Y. (2007). Virus membrane fusion. *FEBS letters*, 581(11), 2150-2155. https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.01.093

White, J. M., Delos, S. E., Brecher, M., & Schornberg, K. (2008). Structures and mechanisms of viral membrane fusion proteins: multiple variations on a common theme. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 43(3), 189–219. https://doi.org/10.1080/10409230802058320

White, J. M., Ward, A. E., Odongo, L., & Tamm, L. K. (2023). Viral Membrane Fusion: A Dance Between Proteins and Lipids. *Annual review of virology*, 10(1), 139–161. https://doi.org/10.1146/annurev-virology-111821-093413

Whitelegge, J., Halgand, F., Souda, P., & Zabrouskov, V. (2006). Top-down mass spectrometry of integral membrane proteins. *Expert review of proteomics*, 3(6), 585–596. https://doi.org/10.1586/14789450.3.6.585

Williams, W. B., Alam, S. M., Ofek, G., Erdmann, N., Montefiori, D. C., Seaman, M. S., Wagh, K., Korber, B., Edwards, R. J., Mansouri, K., Eaton, A., Cain, D. W., Martin, M., Hwang, J., Arus-Altuz, A., Lu, X., Cai, F., Jamieson, N., Parks, R., Barr, M., … Haynes, B. F. (2024). Vaccine induction of heterologous HIV-1-neutralizing antibody B cell lineages in humans. *Cell*, 187(12), 2919–2934.e20. https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.04.033

Declaration of Interest Statement

Declaration of interests

☒The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

☐The authors declare the following financial interests/personal relationships which may be considered as potential competing interests: