

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



**Frequência do polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) rs12979860 no gene *IFN-λ3*
entre gestantes com complicações obstétricas infectadas pelos vírus Zika e chikungunya
e repercussões neonatais**

RALDNEY RICARDO COSTA DA SILVA

RECIFE

2021

RALDNEY RICARDO COSTA DA SILVA

**Frequência do polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) rs12979860 no gene *IFN-λ3*
entre gestantes com complicações obstétricas infectadas pelos vírus Zika e chikungunya
e repercussões neonatais**

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas/UFRPE como requisito parcial para obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Dra. Maria Almerice Lopes da Silva.

Coorientadora: Dra. Maria Cynthia Braga.

RECIFE

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S586f

Silva, Raldney Ricardo Costa da

Frequência do polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) rs12979860 no gene IFN- γ 3 entre gestantes com complicações obstétricas infectadas pelos vírus Zika e chikungunya e repercussões neonatais / Raldney Ricardo Costa da Silva. - 2021.

33 f.

Orientadora: Dra. Maria Almerice Lopes da Silva.

Coorientadora: Dra. Maria Cynthia Braga.

Inclui referências.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Licenciatura em Ciências Biológicas, Recife, 2022.

1. Polimorfismos de nucleotídeo único. 2. Gestação. 3. Complicações obstétricas. 4. Complicações neonatais. 5. Arboviroses. I. Silva, Dra. Maria Almerice Lopes da, orient. II. Braga, Dra. Maria Cynthia, coorient. III. Título

RALDNEY RICARDO COSTA DA SILVA

**Frequência do polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) rs12979860 no gene *IFN-λ3*
entre gestantes com complicações obstétricas infectadas pelos vírus Zika e chikungunya
e repercussões neonatais**

Comissão Avaliadora:

Dra. Maria Almerice Lopes da Silva – IAM/FIOCRUZ
Orientadora

Dra. Paula Alexandra dos Santos Oliveira – IAM/FIOCRUZ
Titular 1

Ma. Marília de Albuquerque Sena – IAM/FIOCRUZ
Titular 2

Prof. Dr. Paulo Roberto Eleutério de Souza – UFRPE
Suplente

RECIFE

2021

“As maiores conquistas desse mundo começaram com lápis, papel e a vontade de mudar.”

Tempo Feio

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha mãe, que muito sofredamente enfrentou dias exaustivos como empregada doméstica e que por incontáveis vezes abdicou de sua saúde e lazer para me prover um lar, alimentação, saúde, felicidades e a oportunidade de ter realizado esse curso de graduação. Te amo, mãe.

Ao meu pai, meu muito obrigado por toda dedicação, seus dias exaustivos como vendedor a mim também chegaram como provisão para ter dignidade durante essa fase de minha vida. Te amo, pai.

A meu irmão, minha referência de resiliência mais vívida na construção de uma carreira profissional e formação humana e a minha irmã, muito obrigado por todo suporte, carinho e incentivo, não poderia escolher pessoas melhores para compartilhar esse laço afetivo.

Ao meu sobrinho Ícaro Gabriel, que sempre tem me encantado e despertado sentimentos de amor que me renovam constantemente. Sou muito feliz em tê-lo em minha vida.

A minha avó, você tem meu eterno amor por acreditar que ao fim tudo daria certo. Obrigado aos meus tios Ozéas e Wellington por toda ajuda no início desse processo, ainda durante a época do vestibular.

Meu muito obrigado a Carlos, a Julio, a Nazareth, a Bárbara e a Giovanna por terem tornado os meus dias mais leves como companheiros de turma e verdadeiros amigos. Agradeço por todos os momentos de refeições, pipocas, cafés e cervejas que juntos compartilhamos, pois foram essenciais para suportar o caminho até aqui. Vocês são um grande presente.

A Carlos (novamente), você foi essencial durante esses anos e por isso sou eternamente grato por sua amizade. Muito obrigado por todo incentivo, viagens e momentos compartilhados com muito afeto. Te amo, amigo.

A Steffane, muito obrigado por sua amizade e carinho entre dias tão exaustivos.

A Cihelio, te agradeço por ser uma inspiração pessoal e profissional. Sou muito grato por termos cruzado nossos caminhos.

A Gabriel e Eduarda, obrigado pela amizade, boas conversas e cervejas.

A Profa. Jeine, meu eterno obrigado por ter me recebido no Laboratório de Biofísica Teórica, Computacional e Experimental (LABTEC) da UFRPE onde me iniciei na ciência.

Agradeço por todas as conversas e risadas, foram essenciais para minha formação humana e profissional.

A Profa. Irenilda, minha eterna gratidão, pois realizar meus estágios na UFRJ e USP sem você, com certeza seriam mais difíceis. Obrigado por todo incentivo profissional e por ter compartilhado comigo suas experiências.

A Raíza Mello, minha primeira inspiração docente e incentivadora na biologia, obrigado por ter acreditado e apostado em mim. Por ter aberto as portas da sala de aula e oportunizado umas das experiências mais incríveis que alguém pode ter, a de formação humana. Nunca irei esquecer de suas aulas, da pessoa maravilhosa que és e de sua contribuição em minha vida. Sou eternamente grato.

Agradeço a Daivyane por ter aberto sua vida para mim e compartilhado comigo risos, choros e sonhos. Minha vida não é a mesma depois de você, por isso, jamais esquecerei sua presença. Você tem minha eterna admiração e carinho.

Agradeço a Amanda, Adriane e a Andreza pelos bons momentos que tivemos juntos enquanto monitores de bioquímica. Eternas saudades.

Obrigado a Gabriel Lessa pela amizade recheada de incentivo, desabafamos e trocas de conhecimento. Obrigado pelos momentos compartilhados no Rio de Janeiro e São Paulo, sempre terei você comigo. PCM forever.

A Milena, minha Maranhense arretada, obrigado pela reciprocidade na amizade desde o dia que nos conhecemos. Viver o PCM na UFRJ sem você seria muito diferente. Adoro sua amizade e a pessoa que você representa. PCM forever.

A Alana, meu eterno carinho pelos momentos compartilhados. Nunca esquecerei da loucura que foi pedalar um dia inteiro contigo no Rio de Janeiro e quase perder meu voo por termos esperado o pôr do sol no Pão de Açúcar. PCM forever.

A Luíza, gratidão, pois você foi essencial no início desse processo, me apoiando e torcendo por mim.

A Karine, obrigado pela amizade, você esteve presente em minha vida em um dos momentos pessoais mais complicados e me deu forças para continuar.

A Rodolfo, obrigado pela amizade que perdura por anos mesmo com os contratemplos da vida.

A Jadson, sou muito grato por sua amizade que só cresce em afeto. Um irmão de outra mãe.

A Iasmin, meu eterno carinho por sua amizade. Nunca irei esquecer da sua torcida por mim no processo do vestibular e como ficou feliz por essa minha conquista.

Agradeço a todos que pude conhecer na USP e que de alguma forma me ajudaram a crescer pessoalmente e profissionalmente. Em especial a Bruno, pelo carinho e dedicação em sua amizade.

Muito obrigado a todos do curso de proteômica na FIOCRUZ do Rio de Janeiro. Sempre terei aqueles dias comigo.

A Mellina, muito obrigado por toda cumplicidade e amizade no laboratório, te adoro, amiga.

A Almerice, muito obrigado por toda parceria profissional, com você aprendi muito além de biologia molecular, aprendi sobre a vida. A Cynthia Braga, agradeço por todos os ensinamentos científicos e amadurecimento pessoal que pude ter com você.

Muito obrigado a todos vocês e a tantos outros, que nesse momento não recordo, mas que cruzaram minha vida e de alguma forma contribuíram para que eu chegasse até aqui sendo quem eu sou.

DEDICATÓRIA

Caminhar até aqui seria muito difícil sozinho, mas felizmente eu tive a sorte de tê-los.
Por isso, dedico este trabalho a vocês, mainha e painho.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição da frequência de infecção por ZIKV ou CHIKV recente/aguda (RT-qPCR ou IgM) entre gestantes com complicações obstétricas.	23
Tabela 2 - Comparação das frequências genótípicas e alélicas do SNP rs12979860 em gestantes com complicações obstétricas infectadas e não infectadas por ZIKV e CHIKV.....	24
Tabela 3 – Análise multivariada binária para predição de risco de complicação neonatal em 334 mães de neonatos.	24

RESUMO

Infecções pelos vírus Zika (ZIKV) e chikungunya (CHIKV) durante a gravidez têm sido relacionadas a resultados clínicos adversos na mãe ou no feto. Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs), com lócus em genes de resposta imunológica, podem estar envolvidos na ocorrência dessas complicações. Dessa forma, esse estudo visou descrever a frequência do SNP rs12979860 (C/T) no gene *IFN-λ3* entre gestantes/parturientes com complicações obstétricas atribuídas ou não a Zika e chikungunya e avaliar as repercussões neonatais. Para isso, comparamos as frequências genótípicas e alélicas de rs12979860 entre dois grupos de mulheres com complicações obstétricas: infectadas por ZIKV ou CHIKV (n=122) e não-infectadas (n=212). Em seguida, relacionamos a presença (n=167) e ausência (n=166) de complicação neonatal com a presença de infecção e o SNP materno. Para identificação do SNP realizamos análises de genotipagem, a partir de DNAs extraídos de amostras de sangue, pelo kit Wizard® Genomic DNA Purification (PROMEGA, USA). Os ensaios foram realizados por qPCR usando um sistema TaqMan de sondas fluorescentes. As diferenças entre os grupos foram analisadas por meio do teste qui-quadrado de Pearson (χ^2) com nível de significância $p < 0,05$. Empregamos modelos genotípicos, recessivo e dominante para testar associações dos genótipos. Todos os SNPs se encontraram em equilíbrio de Hardy-Weinberg. No grupo das gestantes/parturientes infectadas, as frequências dos genótipos TT, CT e CC foram 18,9%, 40,1%, 41,0%, respectivamente. No grupo das não-infectadas, esses valores foram 19,8%, 47,6%, 32,5%, respectivamente. Não foi observada diferença significativa para a associação entre as frequências genótípicas e alélicas e a aquisição de infecção por ZIKV e CHIKV entre as gestantes com complicações obstétricas. Nossos resultados apontam uma associação entre os genótipos CT/TT maternos e o risco de complicações neonatais ($p = 0.010$), embora a presença de infecção arboviral materna não tenha se associado com esse desfecho ($p = 0.076$). Concluímos que, apesar da presença do SNP rs12979860 em gestantes com complicações obstétricas não ter se relacionado com a aquisição das infecções por ZIKV e CHIKV e que a presença de infecção na mãe não ter sido relacionada ao desenvolvimento de complicações neonatais, o perfil CT/TT materno é um preditor de risco para complicações nos neonatos.

Palavras-chave: polimorfismos de nucleotídeo único, gestação, complicações obstétricas, complicações neonatais, arbovirose.

ABSTRACT

Zika (ZIKV) and chikungunya virus (CHIKV) infections during pregnancy have been related to adverse clinical outcomes in the mother or her fetus. Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs), with locus in immune response genes, may be involved in the occurrence of these complications. Thus, this study aimed to describe the frequency of SNP rs12979860 (C/T) in *IFN- λ 3* gene among pregnant/parturient women with obstetric complications attributed or not to Zika and chikungunya fever and to evaluate neonatal repercussions. For this purpose, we compared the genotypic and allelic frequencies of rs12979860 between two women groups with obstetric complications: infected with ZIKV or CHIKV (n=122) and non-infected (n=212). Then, we related the presence of neonatal complication (n=167) and absence of neonatal complication (n=166) with the presence of maternal infection and the SNP. To identify the SNP, we performed genotyping analysis using DNA extracted from blood samples with Wizard® Genomic DNA Purification kit (PROMEGA, USA). Assays were accomplished by qPCR using a TaqMan fluorescent probe system. Differences between groups were analyzed using Pearson's chi-square test (X^2) at a significance level $p < 0.05$. We employed genotypic, recessive and dominant models to test associations of genotypes. All SNPs were in Hardy-Weinberg equilibrium. In the infected pregnant women/parturients group, the frequencies of TT, CT, and CC genotypes were 18.9%, 40.1%, 41.0%, respectively. In the non-infected group, these values were 19.8%, 47.6%, 32.5%, respectively. No significant difference was observed for the association between genotypic and allelic frequencies and the acquisition of infection by ZIKV and CHIKV in pregnant women with obstetric complications. Our results point to an association between maternal CT/TT genotypes and the risk of neonatal complications ($p = 0.010$), although the presence of maternal arboviral infection was not associated with this outcome ($p = 0.076$). It is concluded, although the presence of SNP rs12979860 in pregnant women with obstetric complications was not related to the acquisition of infections by ZIKV and CHIKV and presence of infection in the mother was not related to the development of neonatal complications, the CT/TT profile maternal is a risk predictor for complications in neonates.

Keywords: single nucleotide polymorphisms, pregnancy, obstetric complications, neonatal complications, arboviruses.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	Zika vírus	12
1.1.1	Aspectos biológicos e clínicos	13
1.2	Chikungunya	14
1.2.1	Aspectos biológicos e clínicos	14
2	Exposição materna a infecções arbovirais e riscos neonatais associados	15
3	Fatores genéticos do hospedeiro	16
3.1	Interferon <i>IFN-λ3</i> e o <i>SNP</i> rs12979860	17
2	OBJETIVO	19
3	METODOLOGIA	19
4	RESULTADOS	23
5	DISCUSSÃO	24
6	CONCLUSÃO	26
	REFERÊNCIAS	27

1 INTRODUÇÃO

O termo arbovírus é um acrônimo da expressão de origem inglesa *arthropod-borne virus* que significa vírus transmitidos por artrópodes. Esses patógenos compartilham essa característica por serem transmitidos por meio de vetores artrópodes hematófagos como carrapatos, mosquitos e flebotomíneos em seus ciclos de vida (GOULD et al., 2017; KUNO; CHANG, 2005). O emprego dessa classificação não possui valor taxonômico, sendo, portanto, utilizada de maneira ilustrativa, referindo-se à necessidade do vetor característico no ciclo de vida do patógeno (KING et al., 2011).

Esses arbovírus possuem os mosquitos do gênero *Aedes* como principais vetores de transmissão para o homem, destacando-se a espécie *Ae. aegypti* que se distribui em todos os continentes, sobretudo em países situados nas regiões tropicais e subtropicais como o Brasil, Argentina, Venezuela, Colômbia, México, Senegal, Índia, Tailândia e Indonésia (KRAEMER et al., 2019). Diversos são os fatores que se relacionam à emergência de arbovírus no mundo, como mudanças climáticas, desmatamento, mobilidade humana, aumento populacional, crescimento desordenados das cidades e precariedade de condições sanitárias que em conjunto resultam no aumento da exposição humana a vetores (GOULD et al., 2017; LOPES; NOZAMA; LINHARES et al., 2014).

Embora diversos, os arbovírus de relevância para a saúde pública se restringem às famílias *Flaviviridae*, *Bunyaviridae*, *Togaviridae* e *Reoviridae* (SUKHRALIA et al., 2019). No Brasil, os arbovírus Zika, da família *Flaviviridae* e chikungunya, da *Togaviridae*, foram recentemente introduzidos no país, sendo responsáveis por grandes epidemias na última década (SIMIÃO et al., 2019; LOWE et al., 2018).

1.1 Zika vírus

O vírus Zika (ZIKV) foi primeiramente isolado em 1947, em macaco rhesus sentinela, febril, na floresta de Zika, em Uganda e, em seguida, em mosquitos *Aedes africanus* nessa mesma floresta, em 1948 (DICK et al., 1952).

O primeiro caso de infecção humana por este arbovírus foi descrito na Nigéria, em 1954 (MACNAMARA, 1954). Na década subsequente, o ZIKV foi identificado na Malásia, continente asiático, em 1969, em mosquitos da espécie *Ae. Aegypti* (MARCHETTE et al.,

1969), e em 1977 os primeiros casos humanos foram registrados na Indonésia (OLSON et al., 1981).

Posteriormente, os casos de infecções por Zika permaneceram limitadas a pequenos surtos até 2007, quando ocorreu o primeiro grande surto na Ilha Yap, nos Estados Federados da Micronésia (DUFFY et al., 2009). Esse surto foi seguido por epidemias em 2013 e 2014, na Polinésia Francesa e ilhas do Pacífico (CAO-LORMEAU, 2014; MUSSO et al., 2014). Acredita-se que a introdução o Zika no Brasil, tenha ocorrido já em 2013, no entanto, apenas em 2015, as primeiras transmissões autóctones foram notificadas (CAMPOS et al., 2015; ZANLUCA et al., 2015).

Em 2018, mais de dois anos após da efetiva circulação do Zika no Brasil, foram registrados no país 8.680 casos prováveis de Zika (4,2 casos/100 mil habitantes). Desses, 3.984 (45,9%) casos foram confirmados. A região Nordeste apresentou o segundo maior número de casos prováveis (2.425 casos; 27,9%) (BRASIL, 2019). Em 2019, mais 10.768 casos prováveis de Zika foram registrados (5,1/100 mil habitantes) e a região Nordeste apresentou a maior taxa de incidência (9,5 casos/100 mil habitantes) no país (BRASIL, 2020).

1.1.1 Aspectos biológicos e clínicos

O Zika vírus (ZIKV) , assim como outros *Flavivirus*, possui um genoma de fita simples de RNA de senso positivo com 10,794 kb (KUNO; CHANG, 2007) e o tem estruturado como um único quadro aberto de leitura (ORF), flanqueado por duas regiões não codificantes (5' NCR e 3' NCR), que codifica uma poliproteína a qual é processada por proteases celulares e virais em três proteínas estruturais: a proteína do capsídeo (C), a precursora da membrana (prM) e do envelope (E), além de sete proteínas não estruturais: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5 (BARONTI et al., 2014; FAYE et al., 2014).

O vírus Zika quando infecta o homem, apresenta um período de incubação que varia de 4 a 10 dias. Apenas 20-25% dos indivíduos apresentam infecções sintomáticas, que se caracterizam por um quadro leve e autolimitado. A apresentação clínica, em geral, é inespecífica, assemelhando-se a uma síndrome gripal, incluindo febre baixa transitória, erupção cutânea maculopapular, artrite ou artralgia e conjuntivite não purulenta (BRASIL et al., 2016, CAO-LORMEAU et al., 2014, DUFFY et al., 2009, MUSSO et al., 2014).

1.2 Chikungunya

O vírus Chikungunya (CHIKV), provavelmente, é oriundo da África Oriental e Central, onde é endêmico. Em 1952, o CHIKV foi isolado do soro de um paciente durante um surto ocorrido no sul da atual Tanzânia (MASON et al., 1957). Em 2004, uma epidemia de CHIKV varreu a costa do Quênia, na África, e as ilhas do Oceano Índico, Índia, Sudeste Asiático, além da China (NJENGA et al., 2008). Em 2007, casos autóctones foram registrados na Itália (REZZA et al., 2007) e em 2009 na França (GRANDADAM et al., 2011). Nas Américas, o vírus foi introduzido pelas Ilhas do Caribe, em 2013 (FISCHER; STAPLES; ERIN, 2014), e rapidamente se espalhou pela América Latina. Em 2014, os primeiros casos de transmissão autóctone foram relatados no Brasil, que seguiram por explosivas epidemias, principalmente em estados da região Nordeste (TEIXEIRA et al., 2015).

Em 2018, foram registrados 87.687 casos prováveis de chikungunya no país (42,1 casos/100 mil habitantes). Destes, 68.962 (78,6%) foram confirmados. Neste ano, a região Nordeste apresentou o terceiro maior número de casos prováveis (11.287 casos) (BRASIL, 2019). Em 2019, foram notificados 132.205 casos prováveis (62,9 casos/100 mil habitantes) no país e a região Nordeste apresentou a segunda maior taxa de incidência, com 59,4 casos/100 mil habitantes (BRASIL, 2020).

1.2.1 Aspectos biológicos e clínicos

Chikungunya, família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus*, é um vírus envelopado, com simetria icosaédrica que possui um genoma de fita simples de RNA de senso positivo com 11,800 kb estruturado em dois quadros de leitura abertos (ORFs), separados por uma junção não codificante, com um cap 5' 7-metilguanossina e uma cauda poli-A 3' não traduzidas em suas extremidades. Quando traduzido, este genoma codifica uma poliproteína não estrutural e uma poliproteína estrutural, que ao serem clivadas originam, respectivamente, 4 proteínas não estruturais: nsP1, nsP2, nsP3 e nsP4 e cinco proteínas estruturais: C, E3, E2, 6K e E1 (KHAN et al., 2002; METZ; PIJMAN, 2016).

A transmissão de CHIKV ocorre principalmente por meio da picada de mosquitos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* (CHOMPOOSRI et al., 2016; TSETSARKIN et al., 2016), com ampla distribuição no Brasil (HEINISCH et al., 2019), e ao feto, por via transplacentária (LYRA et al., 2016).

Cerca de 70% das infecções por CHIKV são sintomáticas e se caracterizam por causar uma doença febril, associada, a poliartrite e poliartralgia que afetam principalmente tornozelos, punhos, falanges, joelhos e cotovelos (HUIITS et al., 2018; SIMIÃO et al., 2019) e que podem evoluir para formas crônicas, com persistência das dores articulares (PAIXÃO et al., 2018).

2 Exposição materna a infecções arbovirais e riscos neonatais associados

Estima-se que cerca de 90% das gestações no mundo ocorrem em áreas endêmicas ou epidêmicas de arbovírus (incluindo ZIKV e CHIKV) e que os 10% restantes das mulheres grávidas eventualmente podem ser expostas a esses vírus devido à alta mobilidade entre regiões onde há circulação desses patógenos (CHARLIER et al., 2017). Um estudo conduzido em Pernambuco, região Nordeste do Brasil, por Araújo et al. (2018) demonstrou que 60% das mulheres que participaram de um estudo de caso controle, que investigou a associação do Zika com microcefalia, possuía marcadores laboratoriais de infecção prévia para o vírus. Um estudo conduzido por Duarte et al. (2020), na cidade de Salvador, Nordeste do Brasil, observou uma prevalência de 70% de infecção prévia por ZIKV e cerca de 40% de infecção prévia por CHIKV entre as parturientes. JACQUES et al. (2021), evidenciaram uma prevalência de 16,6% de marcadores laboratoriais de infecção recente ou ativa por ZIKV, CHIKV ou DENV em 780 mulheres grávidas em um estudo prospectivo em Pernambuco. Esses dados chamam a atenção para os elevados níveis de exposição de mulheres gestantes a infecções por arbovirose.

As manifestações clínicas devido a infecções por arbovírus na população de gestantes são usualmente similares às observadas na população em geral. Porém, tem-se observado, maior risco de desenvolverem formas clínicas severas, bem como maior risco de complicações obstétricas, como parto prematuro, descolamento prematuro da placenta, pré-eclâmpsia, sangramento vaginal e óbitos associados às doenças (POULIOT et al., 2010; NITHIYANANTHAM; BADAWI, 2019; CONTOPOULOS-IOANNIDIS et al., 2018).

Quando as infecções ocorrem durante a gravidez, há a possibilidade de transmissão vertical com comprometendo da saúde fetal e neonatal. Nesse contexto, a microcefalia neonatal é uma das alterações do sistema nervoso central mais severas que estão associadas a infecção congênita por Zika (TEIXEIRA et al., 2016). Também, perdas gestacionais precoces (abortos espontâneos) e morte fetal intrauterina foram descritas em algumas coortes de

grávidas com infecção por Zika (SARNO et al., 2016; BUATHONG et al., 2015; BRASIL et al., 2016). A transmissão materno-fetal de CHIKV pode resultar em mortes fetais (GÉRARDIN et al., 2014), mas também, entre nascidos vivos, relata-se manifestações graves, como meningoencefalite e coagulação intravascular, exigindo hospitalização neonatal prolongada e cuidados intensivos (LENGLET et al., 2006; GÉRARDIN et al., 2016; TOURET et al., 2006). Relata-se ainda, parto prematuro, sofrimento fetal e sequelas neurológicas (disfunção cognitiva, motora e / ou oftalmológicas (FERREIRA et al., 2021).

3 Fatores genéticos do hospedeiro

Classicamente, concebe-se os genes como segmentos de DNA que codificam um produto funcional, polipeptídeo ou RNA, e que são constituídos por uma região promotora, uma sequência codificante de RNA e um finalizador. Essas unidades funcionais se situam em locais específicos dentro dos cromossomos, os quais são chamados de *locus*. Quando um *locus* possui uma variação que origina dois ou mais alelos que ocorrem com frequência superior a 1% na população em geral, diz-se que ele apresenta um polimorfismo genético (MCINNES et al, 2016).

O tipo mais comum de polimorfismo é resultado da substituição de um nucleotídeo por outro, geralmente em decorrência de mutações pontuais como as transições e transversões, sendo denominado de polimorfismo de único nucleotídeo (SNP) (KAHL et al., 2005). Os SNPs são amplamente distribuídos no genoma e estão presentes em regiões codificadoras e não codificadoras. Nesse sentido, a localização do polimorfismo e o tipo de substituição que o origina se relacionam diretamente com seus efeitos na genética individual. Isso pois, quando ocorrem em segmentos codificantes, algumas trocas não alteram a sequência de aminoácidos da proteína codificada (sinônimas), enquanto outras alteram a sequência (não sinônimas), podendo resultar em impactos na expressão e função do produto gênico (KAHL et al., 2005).

A diversidade genética é o que individualiza cada pessoa e está na base dos fatores que se envolvem na patogênese e gravidade de doenças infecciosas humanas e, nesse contexto, os polimorfismos de nucleotídeo único têm sido relacionados aos resultados de infecções arbovirais (KETKAR et al., 2019).

3.1 Interferon *IFN-λ3* e o *SNP rs12979860*

Os interferons (IFNs) são uma família de citocinas induzíveis secretadas pelas células do hospedeiro em resposta a patógenos, especialmente vírus. Eles estão estabelecidos como componentes da imunidade inata e atuam regulando a resposta imunológica (SADLER; WILLIAMS, 2008).

A família dos interferons (IFNs) estava dividida em IFNs do tipo I e tipo II até 2003, quando novos membros foram detectados, e passaram a compor o grupo dos IFNs do tipo III ou lambda (IFN- λ). Codificados por genes agrupados no cromossomo 19 humano, os IFN- λ s foram nomeados como: IFN- λ 1 (IL-29), IFN- λ 2 (IL-28A) e IFN- λ 3 (IL-28B) (KOTENKO et al., 2003; SHEPPARD et al., 2003). Contudo, em 2013, o resultado de estudos da região em torno do gene IFN- λ 3 revelaram a existência de um novo IFN- λ , denominado IFN- λ 4. Ele abriga uma variante de dinucleotídeo (ss469415590, TT ou Δ G), em que o alelo TT leva a uma mudança de quadro inativando o gene e o alelo Δ G resulta em um gene funcional. (PROKUNINA-OLSSON et al., 2013). Assim, após uma década de relatos, a família de interferons lambda passou a ser composta por 4 genes (IFN- λ 1, IFN- λ 2, IFN- λ 3 e IFN- λ 4).

Os IFN- λ são expressos a partir do reconhecimento de padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs) por receptores de reconhecimento padrão (PPRs). O principal dos receptores são os semelhantes a RIG-I que detectam RNA viral e interagem com as proteínas de sinalização antiviral mitocondrial (MAVS), resultando na ativação de fatores de transcrição NF- κ B e fatores reguladores de interferons (IRFs), que induzem a expressão de IFN do tipo III e do tipo I (HEMANN; GAL; SAVAN et al., 2017).

Após liberados, os IFN- λ sinalizam através do receptor heterodimérico de superfície celular (IFNLR) composto pelas subunidades IFN- λ R1 e IL-10R2 (KOTENKO et al., 2003; SHEPPARD et al., 2003). Seu envolvimento com os receptores resulta na ativação da cascata de sinalização JAK-STAT que ao fim promovem a transcrição de uma ampla variedade de genes estimulados por interferons (ISGs) que podem amplificar o sinal de IFNs e induzir um estado antiviral nas células de forma autócrina e parácrina (HEMANN; GAL; SAVAN et al., 2017).

Dentre as vias efetoras antivirais, destacam-se a via da ribonuclease L mediada por 2', 5'-oligoadenilato-sintetase (OAS), que degrada RNAs mensageiros virais e a via da proteína quinase R (PKR), que fosforila e inativa o fator de iniciação peptídico eIF2 envolvido na tradução do RNA mensageiro viral (SADLER; WILLIAMS, 2008). Interferons lambda são

importantes em diversas infecções virais que incluem vírus da hepatite C (HCV), hepatite B (HBV), vírus influenza, norovírus, rinovírus, vírus sincicial respiratório (RSV), vírus da coriomeningite linfocítica (LCMV), rotavírus e vírus do Nilo Ocidental (WNV) (SYEDBASHA; EGLI, 2017).

Dois aspectos se mostram relevantes para a compreensão do papel de IFN- λ s diante de doenças infecciosas. O primeiro se refere a distribuição de receptores em células e tecidos infectados e o segundo está relacionado a polimorfismos de nucleotídeo único dentro e perto dos genes que codificam IFN- λ s e seus receptores.

Nesse sentido, IL-10R2 é uma subunidade do receptor altamente expressa nos tecidos e compartilhada para a sinalização por membros da família de IL-10 (MOSSER et al., 2008). Contrariamente, a expressão de IFN λ R1 é mais restrita a células epiteliais, subconjuntos de células mieloides e neurais. Esta expressão limitada provavelmente explica a importância dos interferons lambda em mucosas e barreira hematoencefálica (LAZEAR; NICE; DIAMOND et al., 2015; LEE; BALDRIDGE et al., 2017).

A função dos genes IFN- λ e sua capacidade de regular a imunidade natural é também impactada por polimorfismos de nucleotídeo único. Dentre os SNPs dessa região gênica, o rs12979860 (C/T) próximo ao gene *IFN- λ 3*, tem sido foco de muitos estudos, após recentes trabalhos de associação de genoma (GWAS) o identificarem como um importante marcador associado à depuração espontânea do HCV (THOMAS et al., 2009; RAUCH et al., 2010). Isso pois rs12979860 tem se relacionado a baixa produção da IFN- λ 3 e progressão de infecções virais (TANAKA et al., 2009; HONDA et al., 2014; RALLÓN et al., 2012).

Nesse sentido, a IL-28 tem se mostrado um importante mediador de respostas antivirais uma vez que possui um importante polimorfismo que afeta sua expressão, comprometendo o estabelecimento da resposta imunológica *IFN- λ 3*. Considerando que gestantes se constituem como um grupo vulnerável às infecções arbovirais, admite-se que a ocorrência de complicações na gestação e neonatais podem estar associados à presença do polimorfismo.

2 OBJETIVO

2.1 Geral

Descrever a frequência do polimorfismo de nucleotídeo único rs12979860 (C/T) no gene *IFN-λ3* entre gestantes/parturientes com complicações obstétricas infectadas ou não pelo vírus Zika e chikungunya e repercussões neonatais.

2.2 Específicos

- Determinar os genótipos as amostras de DNA extraídas para o SNP rs12979860 (C/T) no gene *IFN-λ3*;
- Comparar as frequências do SNP rs12979860 (C/T) no gene *IFN-λ3* entre gestantes/parturientes com complicações obstétricas atribuídas ou não a infecções por Zika e chikungunya;
- Comparar os desfechos neonatais diante da presença do SNP rs12979860 (C/T) no gene *IFN-λ3* de gestantes/parturientes com complicações obstétricas atribuídas ou não a Zika e chikungunya.

3 METODOLOGIA

3.1 Delineamento do estudo

Estudo descritivo e analítico, por meio da realização de ensaios laboratoriais in vitro em banco de DNA bem caracterizado de mulheres com complicações obstétricas infectadas e não infectadas pelo ZIKV e CHIKV, para a descrição e comparação da frequência da variante polimórfica rs12979860 (C/T) no *IFN-λ3*.

A pesquisa teve todos os procedimentos experimentais aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fiocruz Pernambuco (CAAE: 19404519.3.0000.5190) e integrou o projeto âncora “Complicações maternas e neonatais associadas às arboviroses (Zika, chikungunya e dengue) em uma maternidade de referência no Nordeste do Brasil: um estudo de coorte seccional”, aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da FIOCRUZ e IMIP (CAEE: 73121517.0.0000.5190), a partir do qual se originaram as amostras biológicas.

Todo financiamento necessário ao desenvolvimento da proposta foi aprovado no edital do CNPq (400775/2019-0).

3.2 Grupos de estudo

A fim de avaliar a relação entre os perfis genéticos das gestantes com complicações obstétricas e a aquisição de infecção por ZIKV e CHIKV, foram formados os grupos:

Grupo 1. Gestantes/parturientes com complicações obstétricas e presença de marcador de infecção recente/aguda por ZIKV e CHIKV (n = 122).

Grupo 2. Gestantes/parturientes com complicações obstétricas e ausência de marcador de infecção recente/aguda por arbovírus (ZIKV e CHIKV) durante a gestação (n = 212).

A fim de avaliar o risco entre o perfil genético das mães com complicações obstétricas, infectadas e não infectadas, e o desenvolvimento de complicações neonatais, as condições dos neonatos foram rastreadas, de modo a compor os seguintes grupos:

Grupo 1. Neonatos saudáveis (n= 166)

Grupo 2. Neonatos com complicações neonatais (n= 167).

3.3 Definição de caso

Os procedimentos laboratoriais para diagnóstico da infecção aguda/recente por arboviroses (dengue, Zika e Chikungunya) nas gestantes foram descritos previamente (JACQUES et al., 2021). A infecção ativa por arbovírus foi definida pela detecção do RNA viral pela técnica qRT-PCR para DENV, ZIKA ou CHIKV usando ensaio Trioplex e confirmadas posteriormente por qRT-PCR específico para vírus interno. A soroconversão de IgM ou IgG (negativa na primeira amostra e positiva na segunda amostra) ou um aumento de quatro vezes nos títulos de anticorpos neutralizantes específicos de vírus entre amostras pareadas foi igualmente definida com infecção ativa por arbovírus.

A infecção recente por ZIKV, DENV ou CHIKV foi definida pela detecção de imunoglobulina M (IgM) específica na primeira amostra ou nas amostras pareadas. As infecções por ZIKV foram confirmadas pelo método da soroneutralização por redução de placas (PRNT). Infecções duplas foram definidas como evidência de infecção (concomitante ou sequencial) com mais de um vírus por PCR ou teste de IgM.

Os neonatos foram considerados saudáveis quando apresentaram peso ao nascer superior a 2500g e gestação de 37 semanas ou mais; peso ao nascer entre 10^o a 90^o percentis de acordo com gráficos de crescimento intrauterino; pontuações normais de Apgar sem necessidade de reanimação ao nascimento; medidas antropométricas sem alteração (de acordo com o sexo e idade gestacional ao nascimento); nenhuma doença pós-natal durante a internação hospitalar, como sepse, icterícia, hipoglicemia, policitemia, dentre outras e nenhuma alteração neurológica, no sistema respiratório, gastrointestinal, cardiovascular, geniturinário, muscular e esquelético ou malformação congênita. Aqueles considerados complicados, apresentaram ao menos uma alteração dos componentes mencionados (CLOHERTY et al., 2005).

3.4 Procedimentos laboratoriais

3.4.1 Extração de DNA e montagem do banco de DNA genômico

Para extração do DNA genômico foram utilizados 300 µL de sangue total periférico de cada participante. Utilizamos o kit Wizard® Genomic DNA Purification (PROMEGA, USA), conforme orientações do fabricante, e as amostras foram armazenadas a -80 °C até o processamento.

3.4.2 Avaliação da qualidade e quantidade de DNA extraído

A quantidade e a pureza do DNA genômico foram determinadas por densidade óptica em espectrofotômetro (NanoDrop® ND-1000 UV-Vis). Buscou-se extrações com uma razão de absorbância 260/280 de aproximadamente 1,8, valor usualmente aceito para amostras de DNA, indicando integridade dos ácidos nucleicos extraídos e pureza da amostra em relação contaminação por reagentes e proteínas (SCIENTIFIC, 2010)

3.4.3 Genotipagem

Para detecção da variante polimórfica rs12979860 utilizamos a tecnologia de reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-qPCR), usando um sistema TaqMan®, que consiste no uso de sondas marcadas com fluorocromos desenhadas especificamente para

serem complementares à cadeia de oligonucleotídeos do gene alvo. A reação de PCR em tempo real foi realizada no QuantStudio 5 (Thermo Fisher Scientific, Foster City, CA, EUA).

3.5 Análises estatísticas

Para avaliar a associação entre os perfis alélicos e genotípicos foram realizadas comparações entre os grupos caso (infectadas) e controle (não infectadas) utilizando os programas Stata, versão 15 (StataCorp., CollegeStation, Estados Unidos) e GraphPadPrism, versão 7.0a. As frequências das variantes genéticas foram comparadas pelo teste Qui-quadrado de Person (X^2). As frequências alélicas foram estimadas pelo método da contagem gênica. O teste Qui-quadrado foi utilizado para verificar se a distribuição genotípica está de acordo com a hipótese do equilíbrio de Hardy-Weinberg. As diferenças foram consideradas significativas para valores de $p < 0,05$. Os achados significativos na análise univariada foram confirmados em análise multivariada ajustando-se o OR (Odds Ratio) por possíveis fatores de confusão.

Para testar associações entre as frequências genotípicas e o risco de infecção viral empregamos três modelos de análise genética: o genótipo (TT vs. CT vs. CC), recessivo (TT vs. CT/CC) e dominante (TT/CT vs. CC) e a frequência alélica foi testada pelo modelo alélico T vs. C.

4 RESULTADOS

Foram selecionadas para esse estudo 334 gestantes com complicações obstétricas. Dessas, 212 mulheres não estavam infectadas por arbovírus (RT-qPCR ou IgM negativos) e 122 apresentaram marcadores laboratoriais de infecção recente/aguda pelo ZIKV ou CHIKV (RT-qPCR ou IgM positivos), conforme descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Distribuição da frequência de infecção por ZIKV ou CHIKV recente/aguda (RT-qPCR ou IgM) entre gestantes com complicações obstétricas.

Total de amostras	Infecção arboviral			Não n (%)
	Sim n (%)			
	ZIKV	CHIKV	ZIKV + CHIKV	
334	51 (15.2)	67 (20.1)	4 (1.2%)	212 (63,5)
Total		122		212

As frequências genéticas do polimorfismo de nucleotídeo único rs12979860 (C/T) no gene *IFN-λ3* materno estão descritas na Tabela 2. As frequências genotípicas estudadas se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg. No grupo das gestantes infectadas, as frequências dos genótipos TT, CT e CC foram 18.9%, 40.1%, 41.0%, respectivamente. No grupo das não-infectadas, esses valores foram 19.8%, 47.6%, 32.5%, respectivamente.

Nas análises comparativas, independente do modelo genético empregado, não constatamos diferenças estatísticas significativas entre as proporções alélicas e genotípicas de *IFN-λ3* maternos com complicações obstétricas infectadas e não infectadas por ZIKV e CHIKV.

Verificamos o risco associado entre o desenvolvimento de complicações neonatais com a presença de infecção materna e o perfil genético das mulheres, independente de infecção, mediante uma análise multivariada binária, conforme consta na tabela 3. Identificados que a presença de infecção arboviral não esteve relacionada com o desenvolvimento de complicações neonatais ($p=0.076$). No entanto, o fato de as mulheres possuírem uma variante (CT/TT) no gene *IFN-λ3* prediz o risco de complicações nos neonatos ($p=0.010$).

Tabela 2 - Comparação das frequências genótípicas e alélicas do SNP rs12979860 em gestantes com complicações obstétricas infectadas e não infectadas por ZIKV e CHIKV

	SNP	Infectadas	Não infectadas	Modelos genéticos	p-valor*
	<i>IFN-λ3</i> rs12979860	n = 122 (%)	n = 212 (%)		
Genótipos	TT	23 (18,9)	42 (19,8)	TT vs. CT vs. CC	0.286
	CT	49 (40,1)	101 (47,6)	TT vs. CT/CC	0.125
	CC	50 (41,0)	69 (32,5)	TT/CT vs. CC	0.886
Alelos	T	95 (38,9)	185 (43,6)	T vs C	0.254
	C	149 (61,1)	239 (56,4)		

*Qui-quadrado de Person (X^2).

Tabela 3 – Análise multivariada binária para predição de risco de complicação neonatal em 334 mães de neonatos.

	p-valor	OR (IC 95%)
Gestantes com Arboviroses	0.076	1.510 (0.957-2.381)
<i>IFN-λ3</i> (CT/TT)	0.010	1.828 (1.155-2.892)

5 DISCUSSÃO

Esse trabalho trata do primeiro estudo que descreveu as frequências genótípicas da variante polimórfica rs12979860 em *IFN-λ3* entre gestantes com complicações obstétricas infectadas por ZIKV e CHIKV, residentes em Pernambuco, região endêmica do Nordeste brasileiro, e relacionou a presença do SNP materno com o risco de desenvolvimento de complicações neonatais.

Demonstramos que a proporção do genótipo heterozigoto CT (44.9%) entre mulheres com complicações obstétricas, independente do status de infecção arboviral, foi maior em

relação aos genótipos CC (35.6%) e TT (19.5%). Os estudos envolvendo grávidas e o marcador rs12979860 são escassos e limitados em relação ao tamanho das amostras analisadas. No Cairo, Egito, 52 gestantes tiveram seus genótipos determinados para rs12979860 e a prevalência observada foi de 53.8% mulheres com CC, 37.7% com CT e 13.5% com o TT (HASHEM et al., 2017). Um outro estudo conduzido com 34 grávidas em Columbus, EUA, mostrou proporções de 41.0% para CC, 47,0% para CT e 12% para TT (HONEGGER et al., 2016). Esses resultados assemelham-se aos do nosso estudo. O genótipo CT em nossa amostra e na estudada em Columbus por Honegger et al. (2016) tendem a ser mais frequentes em comparação aos indivíduos do Cairo descritos por Hashem et al. (2017) e o TT é o menos prevalente entre as populações, independente da região.

A baixa presença do genótipo TT nas gestantes com complicações obstétricas do nosso estudo é uma característica que se relaciona com demais indivíduos brasileiros, devido a descendência africana que a população nacional apresenta (THOMAS et al., 2009), como se observa em um estudo conduzido com 949 homens e mulheres do Sudeste e Nordeste do Brasil, que descreveu uma proporção de 36.9% para CC, 49.1% para CT e 14.0% para TT (RIZZO et al., 2016). Em outro estudo, 66 indivíduos do Rio de Janeiro, região Sudeste brasileira, tiveram seus genótipos determinados e o mais prevalente foi o CT com 44.0%, seguido por CC com 32.0% e TT 24.0% (RAMOS et al., 2012).

Não foi observada diferença significativa para a associação entre as frequências genotípicas e alélicas e a aquisição de infecção por ZIKV e CHIKV entre as gestantes. Reconhecemos que o tamanho da amostra com que trabalhamos é relativamente pequeno e isso pode resultar em um menor poder para detectar diferenças menores nas frequências genotípicas do marcador e o desfecho analisado. Ademais, compreendemos que a ausência de um grupo de comparação composto por mulheres sem complicações obstétricas infectadas por ZIKV e CHIKV limitou as análises, impossibilitando elucidar a relação entre o SNP materno e o desenvolvimento de complicações obstétricas.

Nossos resultados também apontam uma possível associação entre os genótipos CT/TT maternos e o risco de complicações neonatais ($p= 0.010$). Isso pode acontecer pela efetividade da resposta imune desenvolvida pelas gestantes em decorrência da presença do perfil CT/TT, que pode estar relacionada ao menor controle da infecção e ser a causa de efeitos adversos na saúde neonatal. Pois, outros estudos evidenciam que esses alelos menores (CT/TT) estão associados à baixa expressão de *IFN- λ 3* (TANAKA et al., 2009; HONDA et al., 2014; RALLÓN et al., 2012) e com a progressão de diversas infecções virais

(SYEDBASHA; EGLI et al., 2017). Pacientes com HCV, por exemplo, tem tido o genótipo CC associado ao controle da infecção (TANAKA et al., 2009; THOMAS et al., 2009; RAUCH et al., 2010). Ou seja, o alelo C tem se mostrado relacionado a melhores respostas imunes, possivelmente devido a alterações nos níveis de expressão de ISGs resultando em impacto na sinalização imune inata pelo comprometimento de mecanismos efetores virais, com possíveis reflexos na saúde do recém-nascido.

Isso pois, a suscetibilidade reduzida à infecção por ZIKV, por exemplo, pode resultar de perfis imunes inatos distintos, incluindo a produção de *IFN-λ* (BAYER et al., 2016). Uma vez que *IFN-λ1* e 3, exerce efeitos antivirais contra o ZIKV em tecidos maternos não placentários e placentários (JAGGER et al., 2017). Dessa forma, são necessários estudos que melhor avaliem a relação entre a presença do SNP rs12979860 em mulheres infectadas por Zika e chikungunya e o desenvolvimento de complicações neonatais, bem como os mecanismos efetores imunes que possam estar se relacionando dinâmica dos eventos.

6 CONCLUSÃO

Concluimos que a frequências genótípicas do polimorfismo de nucleotídeo único rs12979860 entre gestantes com complicações obstétricas não se correlacionam com a aquisição de infecções por Zika e chikungunya.

Também, que a presença de infecção arboviral não esteve relacionada ao desenvolvimento de complicações no neonato. Contudo, o perfil CT/TT materno se mostrou como um preditor do risco para tais complicações.

Reconhecemos que a ausência de um grupo de comparação composto por mulheres sem complicações obstétricas infectadas por Zika e chikungunya é uma importante limitação de nosso estudo, tornando-se necessário a realização de novos trabalhos com esses grupos de comparação a fim de analisar a associação entre o perfil genético, infecção arboviral e complicações obstétricas.

REFERÊNCIAS

- BARONTI, C. et al. Complete coding sequence of zika virus from a French polynesia outbreak in 2013. **Genome announcements**, v. 2, n. 3, p. e00500-14, 2014.
- BAYER, Avraham et al. Type III interferons produced by human placental trophoblasts confer protection against Zika virus infection. **Cell host & microbe**, v. 19, n. 5, p. 705-712, 2016.
- BRASIL, P. et al. Zika virus infection in pregnant women in Rio de Janeiro. **New England Journal of Medicine**, v. 375, n. 24, p. 2321-2334, 2016.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e doença aguda pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52 de 2018. **Boletim Epidemiológico [internet]**. 2019 [citado 2021 nov 09]; 50(04):1-14. Disponível em: <https://antigo.saude.gov.br/images/pdf/2019/janeiro/28/2019-002.pdf>
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes (dengue, chikungunya e Zika), Semanas Epidemiológicas 01 a 52. **Boletim Epidemiológico [internet]**. 2020 [citado 2021 nov 09]; 51(02):1-16. Disponível em: <https://antigo.saude.gov.br/images/pdf/2020/janeiro/20/Boletim-epidemiologico-SVS-02-1-.pdf>
- BUATHONG, R. et al. Detection of Zika virus infection in Thailand, 2012–2014. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 93, n. 2, p. 380, 2015.
- CAMPOS, G. S.; BANDEIRA, A. C.; SARDI, S. I. Zika virus outbreak, bahia, brazil. **Emerging infectious diseases**, v. 21, n. 10, p. 1885, 2015.
- CAO-LORMEAU, V. et al. Zika virus, French polynesia, South pacific, 2013. **Emerging infectious diseases**, v. 20, n. 6, p. 1085, 2014.
- CHARLIER, C. et al. Arboviruses and pregnancy: maternal, fetal, and neonatal effects. **The Lancet Child & Adolescent Health**, v. 1, n. 2, p. 134-146, 2017.
- CLOHERTY, J. P.; EICHENWALD, E. C.; STARK, A. R. Manual de neonatologia. In: **Manual de neonatologia**. 2005. p. 715-715.
- CONTOPOULOS-IOANNIDIS, D. et al. Mother-to-child transmission of Chikungunya virus: A systematic review and meta-analysis. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 12, n. 6, p. e0006510, 2018.
- CHOMPOOSRI, Jakkrawarn et al. Vertical transmission of Indian Ocean Lineage of chikungunya virus in Aedes aegypti and Aedes albopictus mosquitoes. **Parasites & vectors**, v. 9, n. 1, p. 1-13, 2016.

- ARAÚJO, T. V. B. et al. Association between microcephaly, Zika virus infection, and other risk factors in Brazil: final report of a case-control study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 3, p. 328-336, 2018.
- DICK, G. W.; KITCHEN, S. F.; HADDOW, A. J. Zika virus (I). Isolations and serological specificity. **Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene**, v. 46, n. 5, p. 509-520, 1952.
- DUARTE, A. O. et al. Maternal and congenital infections arising from Zika, dengue and Chikungunya arboviruses in Salvador, Brazil. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 114, n. 3, p. 222-225, 2020.
- DUFFY, M. R. et al. Zika virus outbreak on Yap Island, federated states of Micronesia. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 24, p. 2536-2543, 2009.
- EGLI, A. et al. The impact of the interferon-lambda family on the innate and adaptive immune response to viral infections. **Emerging microbes & infections**, v. 3, n. 1, p. 1-12, 2014.
- FAYE, O. et al. Molecular evolution of Zika virus during its emergence in the 20th century. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 1, p. e2636, 2014.
- FERREIRA, Fátima Cristiane Pinho de Almeida Di Maio et al. Vertical transmission of chikungunya virus: A systematic review. **PLoS one**, v. 16, n. 4, p. e0249166, 2021.
- FISCHER, M.; STAPLES, J. E. Chikungunya virus spreads in the Americas—Caribbean and South America, 2013–2014. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**, v. 63, n. 22, p. 500, 2014.
- GÉRARDIN, P. et al. Chikungunya virus–associated encephalitis: a cohort study on La Réunion Island, 2005–2009. **Neurology**, v. 86, n. 1, p. 94-102, 2016.
- GÉRARDIN, P. et al. Neurocognitive outcome of children exposed to perinatal mother-to-child Chikungunya virus infection: the CHIMERE cohort study on Reunion Island. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 7, p. e2996, 2014.
- GOULD, E. et al. Emerging arboviruses: why today?. **One health**, v. 4, p. 1-13, 2017.
- GRANDADAM, M. et al. Chikungunya virus, southeastern France. **Emerging infectious diseases**, v. 17, n. 5, p. 910, 2011.
- HASHEM, M. et al. Spontaneous viral load decline and subsequent clearance of chronic hepatitis C virus in postpartum women correlates with favorable interleukin-28B gene allele. **Clinical Infectious Diseases**, v. 65, n. 6, p. 999-1005, 2017.
- HEINISCH, M. R. S. et al. Seasonal and spatial distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in a municipal urban park in São Paulo, SP, Brazil. **Acta tropica**, v. 189, p. 104-113, 2019.
- HEMANN, E. A.; GALE JR, M; SAVAN, R6. Interferon lambda genetics and biology in

regulation of viral control. **Frontiers in immunology**, v. 8, p. 1707, 2017.

HONDA, M. et al. Hepatic interferon-stimulated genes are differentially regulated in the liver of chronic hepatitis C patients with different interleukin-28B genotypes. **Hepatology**, v. 59, n. 3, p. 828-838, 2014.

HONEGGER, J. R. et al. Influence of IFNL3 and HLA-DPB1 genotype on postpartum control of hepatitis C virus replication and T-cell recovery. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 113, n. 38, p. 10684-10689, 2016.

HUITS, Ralph et al. Chikungunya virus infection in Aruba: Diagnosis, clinical features and predictors of post-chikungunya chronic polyarthralgia. **PloS one**, v. 13, n. 4, p. e0196630, 2018.

JACQUES, I. et al. High Incidence of Zika or Chikungunya Infection among Pregnant Women Hospitalized Due to Obstetrical Complications in Northeastern Brazil—Implications for Laboratory Screening in Arbovirus Endemic Area. **Viruses**, v. 13, n. 5, p. 744, 2021.

JAGGER, Brett W. et al. Gestational stage and IFN- λ signaling regulate ZIKV infection in utero. **Cell host & microbe**, v. 22, n. 3, p. 366-376. e3, 2017.

KAHL, G. et al. Single nucleotide polymorphisms: detection techniques and their potential for genotyping and genome mapping. **The Handbook of Plant Genome Mapping: Genetic and Physical Mapping**, p. 75-107, 2005

KETKAR, H.; HERMAN, D.; WANG, Penghua. Genetic determinants of the re-emergence of arboviral diseases. **Viruses**, v. 11, n. 2, p. 150, 2019.

KHAN, A. H. et al. Complete nucleotide sequence of chikungunya virus and evidence for an internal polyadenylation site. **Journal of General Virology**, v. 83, n. 12, p. 3075-3084, 2002

KING, A. M. et al. (Ed.). **Virus taxonomy: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. Elsevier, 2011.

KOTENKO, S. V. et al. IFN- λ s mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. **Nature immunology**, v. 4, n. 1, p. 69-77, 2003.

KRAEMER, M. U. et al. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. **elife**, v. 4, p. e08347, 2015.

KUNO, G.; CHANG, G. J. Full-length sequencing and genomic characterization of Bagaza, Kedougou, and Zika viruses. **Archives of virology**, v. 152, n. 4, p. 687-696, 2007.

KUNO, G.; CHANG, G. J. Biological transmission of arboviruses: reexamination of and new insights into components, mechanisms, and unique traits as well as their evolutionary trends. **Clinical microbiology reviews**, v. 18, n. 4, p. 608-637, 2005.

LAZEAR, H. M.; NICE, T. J.; DIAMOND, Michael S. Interferon- λ : immune functions at barrier surfaces and beyond. **Immunity**, v. 43, n. 1, p. 15-28, 2015.

LEE, S.; BALDRIDGE, M. T. Interferon-lambda: a potent regulator of intestinal viral infections. **Frontiers in immunology**, v. 8, p. 749, 2017.

LENGLET, Y. et al. Chikungunya infection in pregnancy: Evidence for intrauterine infection in pregnant women and vertical transmission in the parturient. Survey of the Reunion Island outbreak. **Journal de gynécologie, obstétrique et biologie de la reproduction**, v. 35, n. 6, p. 578-583, 2006.

LOPES, N.; NOZAWA, C.; LINHARES, R. E. C. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 5, n. 3, p. 10-10, 2014.

LOWE, Rachel et al. The Zika virus epidemic in Brazil: from discovery to future implications. **International journal of environmental research and public health**, v. 15, n. 1, p. 96, 2018.

LYRA, Priscila Pinheiro Ribeiro et al. Congenital chikungunya virus infection after an outbreak in Salvador, Bahia, Brazil. **American Journal of Perinatology Reports**, v. 6, n. 03, p. e299-e300, 2016.

MACNAMARA, F. N. Zika virus: a report on three cases of human infection during an epidemic of jaundice in Nigeria. **Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene**, v. 48, n. 2, p. 139-145, 1954.

MCINNES, Roderick R.; WILLARD, Huntington F.; NUSSBAUM, Robert. **Thompson & Thompson genética médica**. Elsevier Brasil, 2016.

MARCHETTE, N. J. et al. Isolation of Zika virus from *Aedes aegypti* mosquitoes in Malaysia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 18, n. 3, p. 411-15, 1969.

MARTINEZ, J. D.; CARDENAS-DE LA GARZA, J. A.; CUELLAR-BARBOZA, A. Going viral 2019: Zika, chikungunya, and dengue. **Dermatologic clinics**, v. 37, n. 1, p. 95-105, 2019.

MASON, P. J. et al. An Epidemic of Yirus Disease in Southern Province, Tanganyika Territory, in 1952-53. An Additional Note on Chlkungunya Yirus Isolations and Serum Antibodies. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 51, n. 3, p. 238-40, 1957.

METZ, S. W.; PIJLMAN, G. P. Production of chikungunya virus-like particles and subunit vaccines in insect cells. In: **Chikungunya Virus**. Humana Press, New York, NY, 2016. p. 297-309.

MOSSER, D. M.; ZHANG, X. Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. **Immunological reviews**, v. 226, n. 1, p. 205-218, 2008.

MUSSO, D.; NILLES, E. J.; CAO-LORMEAU, V.-M. Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 10, p. O595-O596, 2014.

- NITHIYANANTHAM, S. F.; BADAWI, A. Maternal infection with Zika virus and prevalence of congenital disorders in infants: systematic review and meta-analysis. **Canadian Journal of Public Health**, p. 1-11, 2019.
- NJENGA, M. K. et al. Tracking epidemic chikungunya virus into the Indian Ocean from East Africa. **The Journal of general virology**, v. 89, n. Pt 11, p. 2754, 2008.
- OLSON, J. G. et al. Zika virus, a cause of fever in Central Java, Indonesia. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 3, p. 389-393, 1981.
- PAIXÃO, Enny S. et al. Chikungunya chronic disease: a systematic review and meta-analysis. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 112, n. 7, p. 301-316, 2018.
- POULIOT, S. H. et al. Maternal dengue and pregnancy outcomes: a systematic review. **Obstetrical & gynecological survey**, v. 65, n. 2, p. 107-118, 2010.
- RALLÓN, N. I. et al. Impact of IL28B gene polymorphisms on interferon- λ 3 plasma levels during pegylated interferon- α /ribavirin therapy for chronic hepatitis C in patients coinfecting with HIV. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 67, n. 5, p. 1246-1249, 2012.
- RAMOS, J. A. et al. A single nucleotide polymorphism, rs129679860, in the IL28B locus is associated with the viral kinetics and a sustained virological response in a chronic, monoinfected hepatitis C virus genotype-1 Brazilian population treated with pegylated interferon-ribavirin. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, p. 888-892, 2012.
- RAUCH, A. et al. Genetic variation in IL28B is associated with chronic hepatitis C and treatment failure: a genome-wide association study. **Gastroenterology**, v. 138, n. 4, p. 1338-1345. e7, 2010.
- REZZA, G. et al. Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. **The Lancet**, v. 370, n. 9602, p. 1840-1846, 2007.
- RIZZO, S. R. C. P. et al. Prevalence of IFNL3 gene polymorphism among blood donors and its relation to genomic profile of ancestry in Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 20, p. 619-622, 2016.
- SADLER, A. J.; WILLIAMS, B. RG. Interferon-inducible antiviral effectors. **Nature reviews immunology**, v. 8, n. 7, p. 559-568, 2008.
- SARNO, M. et al. Zika virus infection and stillbirths: a case of hydrops fetalis, hydranencephaly and fetal demise. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n. 2, p. e0004517, 2016.
- SCIENTIFIC, Thermo. NanoDrop 1000 Spectrophotometer V3. 8 User's Manual. 2010
- SHEPPARD, P. et al. IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R. **Nature immunology**, v. 4, n. 1, p. 63-68, 2003.

SIMIÃO, Adriana Rocha et al. A major chikungunya epidemic with high mortality in northeastern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 52, 2019.

SUKHRALIA, S. et al. From dengue to Zika: the wide spread of mosquito-borne arboviruses. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 38, n. 1, p. 3-14, 2019.

SYEDBASHA, M.; EGLI, A.. Interferon lambda: modulating immunity in infectious diseases. **Frontiers in immunology**, v. 8, p. 119, 2017.

TANAKA, Y. et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon- α and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. **Nature genetics**, v. 41, n. 10, p. 1105-1109, 2009.

TEIXEIRA, M. G. et al. East/central/South African genotype chikungunya virus, Brazil, 2014. **Emerging infectious diseases**, v. 21, n. 5, p. 906, 2015.

TEIXEIRA, M. G. et al. The epidemic of Zika virus-related microcephaly in Brazil: detection, control, etiology, and future scenarios. *American journal of public health*, v. 106, n. 4, p. 601-605, 2016.

THOMAS, D. L. et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. **Nature**, v. 461, n. 7265, p. 798-801, 2009.

TOURET, Y. et al. Transmission materno-foetale précoce du virus Chikungunya. **La Presse Médicale**, v. 35, n. 11, p. 1656-1658, 2006.

ZANLUCA, Camila et al. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 4, p. 569-572, 2015.