

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
Dissertação será disponibilizado
somente a partir de 27/05/23.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Lucas Guerchi Belo

**Avaliação dos polimorfismos HPA em plaquetas
expostas *in vitro* ao ZIKV**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Pesquisa e Desenvolvimento (Biotecnologia Médica).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rejane Maria Tommasini Grotto

**Botucatu
2021**

Lucas Guerchi Belo

**Avaliação dos polimorfismos HPA em plaquetas expostas
in vitro ao ZIKV**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Pesquisa e Desenvolvimento (Biotecnologia Médica).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rejane Maria Tommasini Grotto

**Botucatu
2021**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Belo, Lucas Guerchi.

Avaliação dos polimorfismos HPA em plaquetas expostas
in vitro ao ZIKV / Lucas Guerchi Belo. - Botucatu, 2021

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de
Botucatu

Orientador: Rejane Maria Tommasini Grotto

Capes: 90400003

1. Zika vírus. 2. Polimorfismo (Genética). 3. Antígenos
de plaquetas humanas. 4. Plaquetas.

Palavras-chave: Human Platelet Antigen (HPA); Plaquetas;
Polimorfismo; Zika vírus (ZIKV).

Agradecimentos

Primeiramente, agradeço a Deus por estar ao meu lado e me acompanhar em mais essa etapa da vida.

Agradeço meus pais e minha família pelo apoio e palavras de carinho nessa conquista.

À toda a equipe do laboratório de Biologia Molecular do HC-FMB de Botucatu, por toda a ajuda no laboratório e na elaboração da dissertação, todos os conselhos, incentivos e apoio recebido. Mais que uma equipe, uma família, que levarei para sempre.

À minha orientadora, professora Dra Rejane Grotto, pela oportunidade, confiança, paciência, compreensão e ensinamentos que me foram passados desde a iniciação científica. Sem seu apoio não teria conquistado esse título, à senhora, minha eterna gratidão.

Epígrafe

*“Não discuto com o destino, o
que pintar eu assino.”*

(Paulo Leminski)

Resumo

O ZIKA vírus é um arbovírus da família *Flaviviridae* e gênero *flavivirus*, possuindo grandes semelhanças genéticas e estruturais a outros arbovírus relevantes na área da saúde. A infecção por este patógeno está associada a complicações neurológicas graves, como microcefalia em neonatos e a síndrome de *Guillain-Barre*. Sua principal forma de transmissão é vetorial, sendo o mosquito fêmea do gênero *Aedes* o principal vetor. Contudo, outras vias de transmissão também foram documentadas, como a transmissão por transfusão de hemocomponentes, entre eles, a transfusão de concentrado de plaquetas. As plaquetas são fragmentos de megacariócitos que expressam diversas moléculas de superfície, as quais já foram associadas como receptores virais. Os Antígenos Plaquetários Humanos (HPA), por exemplo, são glicoproteínas de membrana presentes na superfície das plaquetas e estão associados a interações virais. Tais antígenos são suscetíveis a ocorrência de polimorfismos, e a presença desses polimorfismos estão associadas a infecções de *flavivirus*, tais como a dengue e Hepatite C. No entanto, ainda não existem estudos avaliando essa relação com ZIKV. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a possível associação entre os polimorfismos dos sistemas HPA -1, -3 e -5 com a capacidade do ZIKA vírus de interagir com plaquetas. As plaquetas foram obtidas de doadores, elas foram incubadas *in vitro* com ZIKV e em seguida lavadas. A presença do ZIKV nas plaquetas foi detectada por RT-qPCR e a genotipagem do HPA-1 e HPA-3 foram feitas por PCR-SSP, e do HPA-5 por PCR-RFLP. As amostras apresentaram carga viral detectadas nas plaquetas. Na análise estatística foi identificada significância entre a genotipagem do sistema HPA-1 e a capacidade do ZIKV de interagir com as plaquetas. Nossos dados sugerem um mecanismo de interação entre ZIKV e plaquetas, e uma associação entre o perfil HPA-1 e a afinidade do ZIKV interagir com as plaquetas.

Palavra-Chave: Zika vírus (ZIKV), Plaquetas, Human Platelet Antigen (HPA), Polimorfismo.

Abstract

ZIKA virus is an arbovirus of the family Flaviviridae and genus *flavivirus*. It has great genetic and structural similarities to other relevant arboviruses. This pathogen infection is associated with serious neurological complications, including microcephaly in neonates and Guillain-Barre syndrome. Its main form of transmission is through the female mosquito of the genus *Aedes* as a vector. However, other transmission routes have also been documented, such as transmission by transfusion of blood components, including the transfusion of platelet concentrate. Platelets are fragments of megakaryocytes that express several surface molecules, which have already been associated as viral receptors. Human Platelet Antigens (HPA), for example, are membrane glycoproteins present on the surface of platelets and are associated with viral interactions. Such antigens are susceptible to the occurrence of polymorphisms, and its presence is associated with flavivirus diseases, such as dengue and Hepatitis C. However, there are yet no studies evaluating this relationship with ZIKV. Therefore, the aim of this research has been to evaluate a possible association between the polymorphisms of the HPA -1, -3 and -5 systems and the ability of ZIKA virus to interact with platelets. Platelets were obtained from donors, incubated in vitro with ZIKV and then washed. The presence of ZIKV in the platelets was detected using RT-qPCR and genotyping of HPA-1 and HPA-3 has been performed through PCR-SSP, and HPA-5 by PCR-RFLP. Viral load was detected in platelets. Statistical analysis identified significance between the genotyping of the HPA-1 system and the ability of ZIKV to interact with platelets. Our updated data provided an interaction mechanism between ZIKV and platelets, as well as an association between the HPA-1 profile and the affinity of ZIKV interacting with platelets.

Keywords: Zika virus (ZIKV), Platelets, Human Platelet Antigen (HPA), Polymorphism.

Lista de Figuras:

Figura 1: Esquema representativo do ZIKA vírus.....	16
Figura 2: Esquema ilustrativo da distribuição dos Antígenos Plaquetários Humanos (HPA) estudados.....	19
Figura 3: Esquema representativo das etapas da incubação das amostras doadas.....	23
Figura 4: Esquema representativo das etapas de lavagem das plaquetas incubadas <i>in vitro</i> com o ZIKV.....	24/25
Figura 5: Quantificação da carga viral das amostras avaliadas.....	30
Figura 6: Eletroforese em gel de agarose 2% da PCR-SSP.....	32
Figura 7: Eletroforese em gel de agarose 2%, da PCR-RFLP.....	33
Figura 8: Eletroforese em gel de poliacrilamida 6,5%, da PCR-RFLP.....	33
Figura 9: Genotipagem HPA-1, HPA-3 e HPA-5 dos doadores.....	34

Lista de Tabelas:

Tabela 1: Sistemas HPA -1, -3 e -5 evidenciando o polimorfismo no DNA e, a substituição do aminoácido consequente a presença do alelo a ou b.....	20
Tabela 2: Sequência de <i>primers</i> utilizados para genotipagem plaquetária dos sistemas HPA-1, -3 e 5.....	27
Tabela 3: Análise estatística da frequência genotípica e alélica.....	35

Lista de Abreviações e Siglas

%	Porcento
°C	Grau Celsius
µL	Microlitro
Ant-Ant	Antibiótico-antimicótico
<i>CLEC-2</i>	C-type Lectin Domain Family 2
CO ₂	Dióxido de carbono
CRP	Proteína C reativa
CT	Threshold cycle
<i>DC-SIGN</i>	Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin
DENV	Dengue vírus
DNA	Ácido desoxirribonucléico
EDTA	Anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético
<i>FMB</i>	Faculdade de Medicina de Botucatu
<i>GelRed</i>	Substância marcadora de ácidos nucleicos
GP	Glicoproteínas
HCV	Vírus da hepatite C
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HPA	<i>HumanPlateletAntigens</i>
<i>HSP</i>	Heat Shock Protein
<i>P</i>	Valor de P
pb	Pares de bases
PBS	Tampão phosphatebuffered-saline
PCR-RFLP	Reação em Cadeia da Polimerase – <i>restrictionfragmentlengthpolymorphism</i>
PCR-SSP	Reação em Cadeia da Polimerase – <i>sequencespecificprimers</i>
Pe	<i>Pélete</i> de plaquetas lavadas
<i>PFU</i>	Unidade formadora de Placa
<i>Primers</i>	Iniciadores
PSBE	Tampão phosphatebuffered-saline com anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA)

qPCR	Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real
RNA	Ácido ribonucléico
RT-qPCR	Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real precedida de transcrição reversa
S3	Sobrenadante da 3 ^o lavagem
SGB	Síndrome de Guillain-Barré
Si	Sobrenadante inicial
TBE	Tampão Tris-Borato 45mM/EDTA 1mM
UV	Luz ultravioleta
ZIKV	ZIKA vírus

Sumário

1 – Introdução.....	12
2 – Levantamento teórico	14
2.1 - ZIKA Vírus (ZIKV).....	14
2.2 - Tropismo Viral.....	17
2.3 –Plaquetas e receptores plaquetários	17
2.4 - Antígeno plaquetário humano – HPA	19
3 – Objetivo.....	21
4 – Metodologia	22
4.1 - Seleção dos Doadores	22
4.2 - Incubação (exposição das plaquetas com o ZIKA vírus <i>in vitro</i>)	22
4.3 - Detecção da interação ZIKV-plaqueta.....	23
4.4 - Extração de ácidos nucleicos (RNA e DNA)	26
4.5 - Reação em cadeia da Polimerase em Tempo Real precedida de transcriptase reversa (RT-qPCR)	26
4.6 - Genotipagem dos Antígenos Plaquetários Humanos (HPA)	27
4.7 - Análises estatísticas	29
5 – Resultados e Discussões.....	30
6 – Conclusão.....	37
Bibliografia	38
Anexo.....	45

Bibliografia

ADORNO, E.V. et al. Antígenos plaquetários humanos HPA1, HPA3 e HPA5 e risco de eventos vaso-oclusivos em portadores de anemia falciforme de Salvador–Bahia. **Gazeta Médica da Bahia**, n. 3, 2010.

ALTER, J.J.; HOUGHTON, M. Clinical Medical Research Award Hepatitis C virus and eliminating post-transfusion hepatitis. **Nat Med**. v.6, p. 1082–6, 2001.

ALMEIDA, A.J. et al. Hepatitis C virus-associated thrombocytopenia: a controlled prospective, virological study. **Ann. Hematol.**, v.83, p.434-40, 2004.

ARAUJO, L.M.; FERREIRA, M.L.B.; NASCIMENTO, O.J.M. Guillain-Barré and Zika in Brazil. **Arq Neuropsiquiatr**. v.74, n.3, p.253-5, 2016.

ARIEDE, J.R. et al. Platelets can be a biological compartment for the Hepatitis C Virus. **Braz J Microbiol**. v.46, n.2, p.627-9, 2015.

ASSINGER, A. Platelets and Infection - an emerging role of platelets in viral Infection. **Frontiers in Immunology**, v.5, 2014.

BARJAS-CASTRO, M.L. et al. Probable transfusion-transmitted Zika virus in Brazil. **Transfusion**. v.56, n.7, p.1684-8, 2016.

BRAND, C.; BISAILLON, M.; GEISS, B.J. Organization of the *Flavivirus* RNA replicase complex. **Wiley Interdiscip Rev RNA**. v.8, n.6, 2017.

BELL, T.M.; FIELD, E.J.; NARANG, H.K. Zika virus infection of the central nervous system of mice. **Archiv f. Virusforschung**. v.35, p.183-93, 1971.

BERDITCHEVSKI, I.F. Complexes of tetraspanins with integrins: more than meets the eye. **J. Cel. Sci**. v.114, p.4143-51, 2001.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE GESTÃO DO TRABALHO E DA EDUCAÇÃO NA SAÚDE. **Zika abordagem clínica na atenção básica**. UFMS, FIOCRUZ, UNA-SUS; Brasília, 2016. Disponível em: http://www.saude.ba.gov.br/wp-content/uploads/2017/08/ZIKA_ABORDAGEM_CLINICA_NA_ATENCAO_BASICA_2016.pdf

BERGELSON, J.M. et al. Identification of the integrin VLA-2 as a receptor for echovirus 1. **Science**, v.255, n.5052, p.1718–20, 1992.

BUSSEL J, KAPLAN C. The fetal and neonatal consequences of maternal alloimmune thrombocytopenia (Review). **Baillieres Clin Haematol**. v.11, p.3911-8, 1998.

CHARO, I.F.; KIEFFER, N.; PHILLIPS, D.R. Platelet membrane glycoproteins. *In*: COLWAN, W. et al. (Eds.). – Hemos. and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice. 3. ed. Philadelphia: Lippincott Company, p. 489-507, 1994.

CHAVEZ, J.H. et al. Domain III peptides from *flavivirus* envelope protein are useful antigens for serologic diagnosis and targets for immunization. **Biologicals**, v.38, l.6, p.613-8, 2010.

CLEMETSON, K.J. et al. Functional expression of CCR1, CCR3, CCR4, and CXCR4 chemokine receptors on human platelets. **Blood**.v.96, p.4046-54, 2000.

CONTI, F. et al. Molecular HPA genotyping by microarray in Brazilian blood donors. **Transfusion**, v. 54, n. 2, p. 405-11, 2014.

CURTIS, B. R.; MC-FARLAND, J. G. Human platelet antigens–2013. **Vox sanguinis**. v.106, n.2, p. 93-102, 2014.

DE LA VEGA ELENA, C. D. et al. Human platelet-specific antigens frequencies in the Argentinean population. **Transfusion medicine**, v. 18, n. 2, p. 83-90, 2008.

DHURAT, R.; SUKESH, M. Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: A review and author's perspective. **J CutanAesthet Surg**. v.7, n.4, p.189, 2014.

DICK, G.W.; KITCHEN, S.F.; AND HADDOW, A.J. Zikavirus.I Isolations and serological specificity.**Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg**. v.46, p.509–20, 1952.

ELENA, C.D.V. Genotipificación de los sistemas de antígenos plaquetarios humanos HPA-1, -3 y 5 endonantes de sangre y Aborígenes Tobasen Rosario, Argentina. **Tese (Doutorado)** - Facultad de Medicina, Universidad de Granada, Granada. 2007.

FARIA, N.R. et al. Zika virus in the Americas: early epidemiological and genetic findings. **Science**.v.352, p.345–9, 2016.

FARQUHAR, M.J.; HARRIS, H. J.; MCKEATING.J.A.Hepatitis C virus entry and the tetraspanin CD81.**BiochemSoc Trans**. v.39, p.532-6, 2011.

FAYE, O. et al. Molecular evolution of Zika virus during its emergence in the 20(th) century. **PLoS Negl Trop Dis**. v.8, n.1, p.1-10.e2636, 2014.

Foy, B.D. et al. Probable non-vector-borne transmission of Zika virus, Colorado, USA.**Emerg Infect Dis**. v.17, n.5, p. 880-2. 2011.

FU, J.; SHA, B.E.; THOMAS, L.L.HIV-1-infected peripheral blood mononuclear cells enhance neutrophil survival and HLA-DR expression via increased production of GM-CSF. Implications for HIV-1 infection.**JAcquir Immune DeficSyndr**.v.56, n.1, p.16-25,2011.

GITLIN, L. et al. Essential role of mda-5 in type I IFN responses to polyriboinosinic:polyribocytidylic acid and encephalomyocarditispicornavirus. **Proc Natl Acad Sci USA**.v.103, n.22, p.8459–64, 2006.

GREVE, J.M. et al. The major human rhinovirus receptor is ICAM-I. **Cell**.v.56, p.839-47, 1989.

GROTTO, R. M. T. et al. Human platelets antigens influence the viral load of platelets after the interaction of the platelets with HCV and HIV *in vitro*.**Rev Soc Bras Med Trop**. v.49, n.4, p.491-3, 2016.

HAMAIA, S.; LI, C.; ALLAIN, J.P.The dynamics of hepatitis C virus binding to platelets and 2 mononuclear cell lines.**Blood**.v.98, p.2293-300, 2001.

HAYES, E. Zika virus outside Africa.**Emerg Infect Dis**. v. 15, n. 9, p. 1347-50. 2009.

HAMEL, R. et al. Biology of Zika virus infection in human skin cells. **Journal of Virology**. v. 89, n. 17, p. 8880–96. 2015.

HUEN, A.O.; ROOK, A.H. Toll receptor agonist therapy of skin cancer and cutaneous T-cell lymphoma.**Curr Opin Oncol**.v.26, n.2, p.237–44, 2014.

IOOS, S. et al. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics Infections par le virus Zika et épidémies récentes.**Med Mal Infect**. v.44, p.302-7, 2014.

KALB, R. et al. Localization of the Br polymorphism on a 144bp exon of the GPIa gene and its application for platelet DNA typing. **Thromb Haemost**.v.71, p.651-4, 1994.

KAPLAN, C. Neonatal alloimmune thrombocytopenia: a 50-year story. **Immuno hematology**.v.23, n.1, p 9-13, 2007.

KELL, A.M.; GALE M. RIG-I in RNA virus recognition.**Virology**.v.479, p.110–21, 2015.

KOSTYUCHENKO, V.A. et al. Structure of the thermally stable Zika virus. **Nature**.v.533, p.425-3, 2016.

KUHN, R.J. et al. Structure of dengue virus: implications for *flavivirus* organization, maturation, and fusion. **Cell**.v.108, p.717–25, 2002.

KÜLTER, H. et al. Rapid typing for human platelet antigen systems -1, -2, -3 and -5 by PCR amplification with sequence-specific primers. **Vox Sang**. v.71, p.121-5, 1996.

KUNO, G. et al. Phylogeny of the genus *Flavivirus*. **J Virol**.v.72, p.73–83, 1998.

KUNO, G.;CHANG, G.J.Full-length sequencing and genomic characterization of agaza, Kedougou, and Zika viruses. **Arch Virol**, v.152,p.687-96, 2007.

LANCIOTTI, R. S., etal.Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. **Emerg Infect Dis**.v.14, n.8, 8pgs. 2008.

LANCIOTTI, R. S., etal.PhylogenyofZika Virus in Western Hemisphere, 2015. **Emerg Infect Dis**. v.22, n.5, p.933–5, 2016.

LEFKOVITS, J.; PLOW, E.F.; TOPOL, E.J. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors in cardiovascular medicine.**N. Engl. J. Med.**, v.332, p.1553-59, 1995.

Li RS, Qiao ZL, Ling B, Lu P. Establishment of reference panel for human platelet antigen genotyping.**Vox sanguinis**. 2014.

LIMON-FLORES, A.Y. et al. Dengue virus inoculation to human skin explants: an effective approach to assess in situ the early infection and the effects on cutaneous dendritic cells. **Int J ExpPathol**. v.86, p.323–34, 2015.

LINDENBACH, B.D.; RICE, C.M. Molecular biology of *flavivirus* es. **Adv.Virus Res**. v.59, 23–61. 2003.

LUCAS, G.F.; METCALFE, P. Platelet and granulocyte polymorphisms.**Transfus Med**. v.10, p.157-74, 2000.

LYNCH, S. E. The role of growth factors in periodontal repair and regeneration.**In**: Polson, A. M. Periodontal regeneration. Current Sstatus and Ddirections. Illinois, Quintessence, 1994.

MA, F. et al. Development of human lymphohematopoietic stem and progenitor cells defined by expression of CD34 and CD81. **Blood**, v.97, n.12, p.3755-62, 2001.

MANSUY, J.M. et al. Zika virus: high infectious viral load in semen, a new sexually transmitted pathogen?.**LancetInfect.Dis**.v.16, p.405, 2016.

MC-CRAE, A.W.R.; KIRYA, B.G. Yellow fever and Zika virus epizootics and enzootics in Uganda.**Trans R Soc Trop Med Hyg**. v. 76, p.552-62, 1982.

METCALFE, P. et al. Human platelet antigen-2and-3 genotyping by PCRSSP.**Transfus.Med**.v.5, n.4, p.285-8, 1995.

METCALFE, P. et al. Nomenclature of human platelet antigens. **Vox Sang**.v.85, n.3, p.240-5, 2003.

MLAKAR, J. et al. Zika Virus Associated with Microcephaly. **N. Engl. J. Med**. v.374, p.951–8, 2016.

MOTTA, L.J. et al. Evidence for Transmission of Zika Virus by Platelet Transfusion. **N Engl J Med**.v.375, n.11, p.1101-3, 2016.

MUSSO, D. et al. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. **Euro Surveill**.v.19, n.14, p.1-3, 2014.

MUSSO, D.; CAO-LORMEAU, V.M.; GUBLER, D.J. Zika virus: following the path of dengue and chikungunya?. **Lancet**.v.386, n.9990, p.243-4, 2015.

Nei M, Tajima F, Tateno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data. **Journal of molecular evolution**.v.19, n.2, p.153-70, 1983.

OLINGER et al. CD4-Negative Cells Bind Human Immunodeficiency Virus Type 1 and Efficiently Transfer Virus to T Cells. **J. Virol**.v.74, n.18, p.8550-7, 2000.

OLINGER et al. Cellular Factors Influence the Binding of HIV Type 1 to Cells. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**.v.18, n.4, p.259-67, 2002.

PADOVANI, J.L. et al. In vitro detection of hepatitis C virus in platelets from uninfected individuals exposed to the virus. **Rev Soc Bras Med Trop**. v. 46, n.2, p.154-5, 2013.

PANYASRIVANIT, M. et al. Induced autophagy reduces virus output in dengue infected monocytic cells. **Virology**.v.418, i.1, p.74–84, 2011.

PETERSEN, E. et al. Rapid Spread of Zika Virus in The Americas - Implications for Public Health Preparedness for Mass Gatherings at the 2016 Brazil Olympic Games. **Int. J. Infect. Dis**. v.44, p.11–5, 2016.

PETERSON, Julie A. et al. Neonatal alloimmune thrombocytopenia: pathogenesis, diagnosis and management. **British journal of haematology**, v. 161, n. 1, p. 3-14, 2013.

PICELLI, N. et al. The absence of the human platelet antigen polymorphism effect on fibrosis progression in human immunodeficiency virus-1/ hepatitis C virus coinfecting patients. **Rev Soc Bras Med Trop**. v.48, n.4, p.406-9, 2015.

PUGLIESE, A. et al. HCV infective virions can be carried by human platelets. **Cell Biochem Funct**.v.22, p.353-8, 2004.

ROEHRIG, J. T. Antigenic Structure of *Flavivirus* Proteins. **Advances in Virus Research**, v. 59, p. 141–175, 2003.

RUGGERI, Z.M. Mechanisms initiating platelet thrombus formation. **Thromb Haemost.**, v.78, n.1, p.611-616, 1997.

- RUGGERI, Z.M. Platelets in atherothrombosis. **Nat.Med.**, v.8, p.1227-1234, 2002.
- RUSSO F.B. et al. Zika infection and the development of neurological defects. **Cell Microbiol.**v.19, n. 6, e12744, 2017.
- Simon,A. Y.; Sutherland, M. R.;Pryzdial, E. L. Dengue virus binding and replication by platelets. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology.** v. 126, p.378-85, 2015.
- SALIGNAC, S. et al. Platelet Counting. **In: Methods in molecular biology** (Clifton, NJ). p. 193–205, 2013.
- SADLER, A.J. The role of MDA5 in the development of autoimmune disease. **JLeukoc Biol.** v.103, n.2, 2017.
- SAKKAS, H. et al. An Update on Sexual Transmission of Zika Virus. **Pathogens.**v.7. n.3, p.66, 2018.
- SCHROEDER, M.L; RAYNER, H.L. Red cell, platelet and white cell antigens. **In: LEE, G.R. et al. Wintrobe's clinical hematology.**9.ed. Philadelphia: Lea &Febiger. v.1, cap.20.p.616-50, 1993.
- SILVA, G.F. et al. Human Platelet Antigen (HPA) genotype is associated with fibrosis progression in chronic hepatitis C. **J Med Virol.**v.84, p.56-60, 2012.
- SIMMONDS, P. et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: Flaviviridae. **Journal of General Virology**, v. 98, n. 1, p. 2–3, 2017.
- SINGH, Meera V. et al. Preventive and therapeutic challenges in combating Zika virus infection: are we getting any closer?. **Journal of neurovirology**, v. 23, n. 3, p. 347-357, 2017.
- SIROHI, D. et al. The 3.8 Å resolution cryo-EM structure of Zika virus. **Science.** v.352, p.467–70. 2016.
- SJOBRING, U.; RINGDAHL, U.; RUGGERI, Z. M. Induction of platelet thrombi by bacteria and antibodies. **Blood**, v.100, n.13, p.4470–7, 2002.
- SOUNDRAVALLY, R.; HOTI, S.L. Immunopathogenesis of dengue hemorrhagic fever and shock syndrome: role of TAP and HPA gene polymorphism. **Hum Immunol.** v.68, p.973-9, 2007.
- TAPPE, D.; NACHTIGALL, S.; KAPAUN, A.; SCHNITZLER, P.; GUNTHER, S.; SCHMIDT-CHANASIT, J. Acute Zika Virus Infection after Travel to Malaysian Borneo, September 2014. **Emerging Infectious Diseases.** v. 21, n. 5, 2015.
- TERADA, H. et al. Interaction of Influenza Virus with Blood Platelets. **Blood.**v.28, p.213-28, 1966.

TORALLES-PEREIRA, C. et al. The first report of the human platelet alloantigen 4b allele in a Brazilian Short Communication. **Int J Immunogenet.** v.32, n.3, p.165-6, 2005.

VANDERGAAST, R.; FREDERICKSEN, B.L. West Nile virus (WNV) replication is independent of autophagy in mammalian cells. **PLoS One.**v.7, e.45800, 2012.

VERDICHIO-MORAES, C.F. et al. Allelic frequencies of HPA-1 to -5 human platelet antigens in hepatitis C virus-infected patients. **J. Med. Virol.**, v.81, p. 757-9, 2009.

WICKHAM, T.J. et al. Integrins alpha v beta 3 and alpha v beta 5 promote adenovirus internalization but not virus attachment. **Cell.**v.73, p.309-19, 1993.

XU, X. et al. Simultaneous genotyping of human platelet antigen-1 to 17w by polymerase chain reaction sequence-based typing. **Vox Sang.** v.97, n.4, p.330-7, 2009.

XU, X et al. RIG-I: a multifunctional protein beyond a pattern recognition receptor. **Protein Cell**, .v.8, n.3, p.246-53, 2018.

Zahn, A. et al. Hepatitis C virus interacts with human platelet glycoprotein VI. **J Gen Virol**, v.87, n.8, p.2243–51, 2006.

ZANLUCA, C. et al. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz.** v.110, p.569–72, 2015.

ZHANG, X. et al. Cryo-EM structure of the mature dengue virus at 3.5-Å resolution. **Nature structural & molecular biology**, v. 20, n. 1, p. 105-110, 2013.