Revista COOPEX (ISSN:2177-5052)

Ação oncolítica do Zika Vírus frente ao glioblastoma multiforme: uma revisão integrativa

Oncolytic action of the zika virus against glioblastoma multiforme: an integrative review

***Ademi de Sousa Leite Júnior*[1]**
***Ana Beatriz Monteiro de Medeiros*[2]**
***Laíza Andrade Soares Diniz*[3]**
***Ananda Santos Pimentel*[4]**
***Fernanda Eduarda das Neves Martins*[5]**
***João Vitor dos Santos Benjamin*[6]**
***Carine Cecconello*[7]**
***Avanúzia Ferreira Matias*[8]**
***Aucelia Cristina Soares de Belchior*[9]**
***Lúcia Patrícia Bezerra Gomes da Silva*[10]**

RESUMO: O Glioblastoma Multiforme (GBM) é um tumor cerebral maligno de origem ainda indefinida devido a sua semelhança com as células progenitoras cerebrais. É o tipo mais comum em adultos e possui alta taxa de mortalidade, apesar dos tratamentos disponíveis, reforçando a necessidade de se buscar novas terapias. Diante disso, após ser descoberto o seu tropismo pelas células progenitoras cerebrais, o Zika Vírus (ZIKV), vem sendo observado por sua atividade oncolítica frente ao GBM. O presente trabalho visa elencar os estudos nesta perspectiva, apresentando a relação entre Zika Vírus e glioblastoma, o mecanismo oncolítico do ZIKV e o seu potencial terapêutico como indutor de morte celular no GBM. Trata-se de uma revisão bibliográfica, utilizando os artigos indicados nas bases de dados (Pubmed, Nature e Frontiers), utilizando os descritores “Zika Vírus, Glioblastoma e Terapia Oncolítica”. Desses estudos, foram elencados em tabela, sete mais relevantes para posterior análise e discussão. Os resultados obtidos nos estudos analisados relatam como o ZIKV é capaz de infectar as células progenitoras cerebrais e induzir o mecanismo de apoptose, demonstrando que sua endocitose nas células progenitoras é dependente de pH e pode sofrer interferência na utilização de drogas, além do seu potencial em retardar o desenvolvimento do GBM, induzindo também a morte das células tumorais. Apesar de demonstrar resultados promissores, a terapia de combate ao GBM com Zika Vírus ainda tem um longo caminho a percorrer, uma vez que ainda não foram feitos estudos em seres humanos.

Palavras-chaves: Zika Vírus, Glioblastoma, Terapia Oncolítica.

ABSTRACT: Glioblastoma Multiforme (GBM) is a malignant brain tumor of as yet undefined origin due to its similarity to brain progenitor cells. It is the most common type in adults and has a high mortality rate, despite the treatments available, reinforcing the need to look for new therapies. In view of this, after its tropism for brain progenitor cells was discovered, the Zika Virus (ZIKV) has been observed for its oncolytic activity against GBM. This paper aims to list studies from this perspective, presenting the relationship between Zika Virus and glioblastoma, the oncolytic mechanism of ZIKV and its therapeutic potential as an inducer of cell death in GBM. This is a bibliographic review, using the articles listed in the databases (Pubmed, Nature and Frontiers), using the descriptors "Zika Virus, Glioblastoma and Oncolytic Therapy". Of these studies, the seven most relevant were listed in a table for further analysis and discussion. The results obtained in the studies analyzed show how ZIKV is capable of infecting brain progenitor cells and inducing the apoptosis mechanism, demonstrating that its endocytosis in progenitor cells is pH-dependent and can be interfered with by the use of drugs, in addition to its potential to delay the development of GBM, also inducing the death of tumor cells. Despite showing promising results, therapy to combat GBM with Zika Virus still has a long way to go, as no studies have yet been carried out on human beings.
Keywords: Zika Vírus, Glioblastoma, Oncolytic Therapy.
_____DOI: 10.61223/coopex.v15i01.757

[1] Biomédico, formado pelo Centro Universitário de Patos – UNIFIP E-mail: ademyjunis@gmail.com
[2] Biomédica, formada pelo Centro Universitário de Patos - UNIFIP.E-mail: mmbiaana@gmail.com - ORCID: 0000-0001-8462-7502
[3] Graduanda em Biomedicina pelo Centro Universitário de Patos - UNIFIP. E-mail: laizaecit@gmail.com - ORCID: 0009-0003-7789-4399
[4] Graduanda em Enfermagem pela Universidade do Estado da Bahia – UNEB E-mail: Nandspimentel16@gmail.com
[5] Mestranda em Virologia, Instituto Evandro Chagas - IEC E-mail: fernandamartinsbm4@gmail.com - ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5372-5062
[6] Graduado em Biomedicina pela faculdade Cosmopolita E-mail: joaobenjamin.academico@gmail.com - ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5372-5062
[7] Graduanda em Medicina pela Universidade Comunitária da região de Chapecó – UNICHAPECÓ E-mail: carine.cecconello@gmail.com
[8] Mestranda em Saúde da Mulher e da Criança - Universidade Federal do Ceará – UFC E-mail: avamatias@gmail.com
[9] Doutora, professora das Faculdades Integradas do Ceará - UNIFIC e do UNIFIP. E-mail: auceliabelchior@med.fiponline.edu.br - ORCID: 0000-0002-3379-7875
[10] Orientadora, Doutora, professora da Universidade de Pernambuco – UPE E-mail: lpbezerra33@gmail.com

INTRODUÇÃO

O Zika vírus (ZIKV) é do gênero dos flavivírus, transmitido pelo mosquito *Aedes aegypti*, identificado inicialmente em macacos na Uganda no ano de 1947. Em 1952, na Uganda e na República Unida da Tanzânia, o vírus foi identificado em seres humanos. No Brasil, foram confirmados os primeiros casos no começo do ano de 2015 em Natal, Rio Grande do Norte e Camaçari na Bahia. Posteriormente, foram detectados casos nos estados de São Paulo, Alagoas, Maranhão, Pará e Rio de Janeiro, configurando-se como um problema de saúde pública (Lesser; Kitron, 2016).

A infecção por Zika vírus pode afetar todos os grupos etários e ambos os sexos, sendo atualmente conhecida como uma doença febril aguda que na maioria dos casos leva a uma baixa necessidade de hospitalização. As manifestações sintomáticas se apresentam como febre baixa, exantema, artralgia, mialgia, cefaleia, hiperemia conjuntival e, menos frequentemente, edema, odinofagia, tosse seca e alterações gastrointestinais, principalmente vômitos (Lesser; Kitron, 2016). Além desses sintomas, a infecção por Zika vírus pode levar ao desenvolvimento da síndrome de Guillain-Barré (SOUSA, *et al*., 2018).

No ano de 2015, foi identificada no Brasil uma cepa do ZIKV que infecta e induz lesões e morte de células progenitoras neurais, das quais se originam as células gliais e neurônios, justificando a capacidade deste vírus em impedir o desenvolvimento de cérebro fetal e causar microcefalia e outras injurias no desenvolvimento fetal (TANG *et al*., 2016).

O glioblastoma multiforme (GBM) é um tumor cerebral maligno de origem indefinida, visto que se apresenta semelhante as células progenitoras cerebrais. É o tipo mais comum em adultos, possuindo uma alta taxa de mortalidade – apesar dos tratamentos disponíveis – a sobrevida estimada é de apenas 12 meses, reforçando a necessidade de buscar novos tratamentos (DAVIS, *et al*., 2016).

O tropismo das cepas do ZIKV pelas células progenitoras neurais, associada a ineficiente terapia de glioblastomas multiformes, motivaram a realização de diversas pesquisas, objetivando avaliar a atividade oncolítica desse vírus frente a esse câncer. Diante disso, o presente trabalho visa elencar os estudos nesta perspectiva, publicados nos principais bancos de dados.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a elaboração do presente estudo, foi realizada uma revisão integrativa, cujos procedimentos metodológicos aplicados se deram a partir do levantamento bibliográfico. A revisão integrativa da literatura compreende seis etapas: a delimitação do tema; definição de critérios para inclusão e exclusão de estudos;

a categorização de estudos; avaliação dos estudos selecionados para análise; interpretação dos resultados e apresentação da revisão.

Com base nessas etapas, inicialmente foi definido o tema: utilização do Zika Vírus no combate ao glioblastoma multiforme. Os estudos foram selecionados nas bases periódicas Scielo (Scientific Electronic Library on Line), Pubmed, Nature, ScienceDirect, Frontiers e BiorXiv, utilizando os descritores "zika vírus, glioblastoma, terapia oncolítica" e "Zika virus, glioblastoma, oncolytic therapy", respectivamente.

Foram utilizados como critérios de inclusão os artigos disponíveis com texto completo em Português e Inglês, compreendidos no intervalo de 2015 a 2022 e relacionados diretamente com a pesquisa. A coleta de dados foi feita através da leitura dos estudos, selecionando os dados de interesse que foram discutidos e analisados. Os critérios de exclusão foram estudos que estivessem fora deste corte temporal e/ou que não abordem a temática objeto de estudo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados um total de 15 artigos nas bases de dados. No PubMed foram encontrados 09 trabalhos, dos quais 04 foram selecionados; na Nature foram encontrados 02 trabalhos e selecionado 01 para este estudo, na Frontiers foram encontrados 03 trabalhos, dos quais foram selecionados 02 para este estudo, totalizando 15 artigos. A (Tabela 1) apresenta os dados observados nos principais estudos selecionados, seus achados são compatíveis aos objetivos do estudo.

Tabela 1: Sistematização dos artigos analisados considerando as variáveis: autores, ano, marcadores, título, objetivo e principais resultados.

AUTOR	TÍTULO	ANO DE PUBLICAÇÃO	MÉTODO	RESULTADOS
LIMA, Estela de O, GUERREIRO, Tatiane M. et al.	Zika Vírus infection induces synthesis of Digoxin in glioblastom cells	2017	Estudo *in vitro* com células de glioblastoma humano infectados com a cepa brasileira do ZIKV com análise de 24 a 48 horas após a infecção.	24 horas após a infecção o grupo infectado com a cepa brasileira do ZIKV apresentou efeitos citopáticos leves, como células redondas e inchadas, além da formação de sincício em comparação ao grupo controle, enquanto que 48 horas após a infecção as células infectadas apresentaram maior quantidade de células redondas e edemaciadas, formação de sincícios e perda de integridade celular em comparação ao grupo controle, destacando efeitos

				citopáticos importantes e morte celular provocados pela infecção viral do ZIKV.
Iannolo Gioachinn, et al.	Zika virus infection induces MiR34c expression in glioblastoma stem cells: new perspectives for brain tumor treatments	2019	Cultura de células, transfecção e infecção em camundongos imunocomprometidos através de xenoenxerto intracraniano.	Foi analisada a capacidade do gene MiR34c encontrado após a infecção por ZIKV, portanto, foi superexpresso esse gene em células tronco do glioblastoma e essa superexpressão reduziu a formação de esferas e assim como na infecção pelo ZIKV, em placas não tratadas as células isoladas foram induzidas a se aderirem refletindo o efeito da infecção com ZIKV.
SHU Yang, et al.	Zika Vírus – Induced Neuronal Apoptosis via Increased Mitochondrial Fragmentation	2020	Cultura de células com as células de glioblastoma mantidas em meio RPMI-1640 suplementado com 10% de soro fetal bovino. Duas cepas de ZIKV foram utilizadas (Uganda, 1947) e (Porto Rico, 2015).	Foram infectadas células tronco neuronais com as duas cepas em 24 horas. Após análise, a coloração mitocondrial estava anormal tendo em comparação as células mitocondriais em controle, as células com ZIKV mostraram estruturas mitocondriais mais fragmentadas, como hastes curtas e pontos inchados. O número de redes mitocondriais foi diminuído significativamente, indicando maior fragmentação.
				Foram utilizados cloreto de amônio (NH4Cl) e da cloroquina na infecção por ZIKV utilizando uma cepa chinesa (China,

LI Mei, et al.	Characterization Of Zika Virus Endocytic Pathways In Human Glioblastoma Cells	2020	Foram utilizadas culturas de linhagens celulares de rim de macaco verde africano e glioblastoma humano em meio essencial e células BHK-21 em meio Eagle modificado por Dulbecco de hamsters bebês suplementados com 10% de soro fetal bovino e 100u/ml de penicilina/estreptomicina sendo todas as linhagens cultivadas a 37ºC na presença de 5% de CO2.	2016). Na qual foi identificada neurotropismo. Foram testados os efeitos citotóxicos das drogas, onde o NH4Cl não impactou na viabilidade celular em concentrações de 40nm ou inferior, enquanto concentrações da cloroquina variam entre 0 a 200 nm. Após o tratamento de células do glioblastoma humano com concentrações crescentes de NH4Cl ou Cloroquina, as cópias de RNAs genômicos virais do vírus foram significativamente diminuídas de forma dependente da dose. Ensaios de placa demonstraram uma produção diminuída de vírions infecciosos na presença das drogas demonstrando que o ZIKV infecta as células de glioblastoma de maneira dependente do pH.
WIELAND Johannes, et al.	Zika Virus replication in glioblastoma cells: eléctron microscopic tomography shows 3D arrangement of endoplasmatic reticulum, replication organelles, and viral ribonucleoproteins	2021	Foram realizadas culturas de linhagens celulares do glioblastoma a partir de um tecido tumoral fresco e caracterizadas por um painel de anticorpos de agrupamento de diferenciação expressos na superfície e no citoplasma. Para a infecção pelo ZIKV foi utilizada uma cepa brasileira (Brasil, 2016) isolada a partir de um feto com microcefalia. As células foram fixadas 48h após a infecção.	Primeiramente foram estudados os efeitos do glutaraldeido nas estruturas celulares devido a questões de segurança e foi feita uma comparação com as células infectadas pelo ZIKV prefixadas com glutaraldeido e as células não infectadas. Nas duas preparações não houve alteração no aparelho de golgi indicando que a prefixação química não alterou a visibilidade do aparelho de golgi, porém as estruturas das mitocôndrias foram alteradas pela prefixação. Com relação as estruturas das células infectadas pelos ZIKV. Foi observado que a infecção levou a uma reorganização das estruturas do citoplasma e o citosol praticamente igual aos de células de controle além de terem sido observados danos ao citoesqueleto.

NAIR Sharmila, et al.	Zika vírus oncolytic activity requires CD8+ T cells and is boosted by immune checkpoint blockade	2021	Foi realizada a implantação de tumores de glioblastoma no hemisfério cerebral direito de camundongos fêmeas de 8 a 9 semanas de idade depois de serem anestesiados com cetamina 10mg/kg e xilazina 100mg/kg e buprenorfina 1ng. Os camundongos foram montados em um aparelho esterotáxico e foi feita uma incisão sobre a linha média craniana, uma seringa foi inserida para injeção das células tumorais ao longo de 5 minutos, com o local sendo fechado por suturas cirúrgicas. Os animais foram monitorados por bioluminescência no desenvolvimento do tumor, começando no dia 6 após a implantação do tumor. O fluxo de fótons do tumor foi medido por um software de imagem, Living Image.	Depois de confirmado o crescimento do tumor através da bioluminescência. Os camundongos foram randomizados para um tratamento intratumoral utilizando a cepa ZIKV-DAKAR adaptada ao camundongo. O tratamento aumentou a sobrevida a longo prazo de aproximadamente 10% para 63% para camundongos portadores de uma linhagem de glioblastoma (GL261) e de 0 a 37% para camundongos portadores da linhagem (CT2A). A análise histológica revelou tamanhos tumorais comparáveis entre os grupos no dia 14 após a implantação do tumor, mas uma diminuição no tamanho do tumor 1 semana após a implantação. Também foi verificado a presença de células imunológicas no microambiente tumoral nos dias 14 e 21 de animais tratados com ZIKV (7 e 14 dias após tratados com ZIKV)

CHEN Lishu, et al.	Oncolytic Zika vírus promote intratumoral T cell infiltration and improves immunotherapy efficacy in glioblastoma	2022	Foram isoladas duas cepas de ZIKV, uma de um chines retornando da Venezuela em 2016 e outra isolada do Camboja em 2016. Foram utilizadas duas linhagens de glioblastoma de camundongos e célula dos rins de hamsters bebês que foram cultivadas em 10% de soro fetal bovino. O estudo foi realizado com camundongos fêmeas com cerca de 4 a 6 semanas. O estudo teve como base analisar o efeito da sobrevivência dos camundongos com o glioblastoma. Grupos de camundongo foram inoculados com 10.000 celulas de (GL261). Os camundongos foram monitorados e pesados diariamente para avaliar mudanças de peso e mortalidade. Para os cortes histológicos os camundongos foram monitorados através de Bioluminescência.	Após análise, o ZIKV foi replicado de forma eficaz no tecido tumoral cerebral por 5 dias após a infecção. A administração do ZIKV suprimiu significativamente o crescimento tumoral e prolongou a sobrevida dos camundongos. Foi feita uma análise de citometria de fluxo das células tumorais onde mostrou um aumento de células TCD3+ em GBM ortotópicos. O tratamento com ZIKV promoveu infiltração intratumoral de células CD4+ e CD8+. Os resultados mostraram que o tratamento com ZIKV em dois modelos GBM inibiram significativamente o crescimento do tumor.

O estudo publicado por LIMA *et al.* (2017), evidenciou que a cepa brasileira do ZIKV provocou efeitos citopáticos importantes nas células tumorais infectadas, promovendo arredondamento celular, formação de sincícios e perda da integridade celular em relação ao grupo controle. Chen *et al.* (2022) e Sharmila *et al*. (2021), demonstraram que a expressão de células T nas microrregiões tumorais após a infecção pelo ZIKV, inibem significativamente o crescimento do tumor nos camundongos que receberam as células tumorais. Foi observado um aumento da sobrevida dos camundongos de 10% a 63% para o glioblastoma GL261 e de 0 a 37% para os que receberam o CT2A (Sharmila Nair *et al*., 2021).

Gioachinn *et al.* (2019) observou em seus resultados que após a infecção do ZIKV, a regulação positiva de miR34c causou diminuição do crescimento celular, inibindo o avanço do tumor, além do

favorecimento da apoptose das células tumorais por aumento na atividade das caspases. Johannes Wieland *et al*. (2021) analisou linhagens celulares do glioblastoma a partir de um tecido tumoral fresco e utilizou a cepa brasileira ZIKV_FB-GWUH-2016 (KU870645) do Zica Vírus para infectar essas células. Os resultados obtidos após a infecção por ZIKV, demonstraram mudanças estruturais importantes no aparelho de Golgi, haja visto que houve perdas estruturais importantes nessa organela somente nas células infectadas. Já Yang *et al.* (2020) infere que a fragmentação mitocondrial e a diminuição das redes mitocondriais em células de glioblastoma infectadas pelo ZIKV, são os pilares para a ativação da via apoptótica intrínseca das células tumorais, tornando o reequilíbrio da função mitocondrial um possível alvo de tratamento.

Victorio *et al*. (2024), utilizou a cepa vacinal ZIKV-LAV para infectar células de glioblastoma multiforme humano *in vitro.* Os resultados trouxeram novos "insights", haja visto revelarem que a infecção do vírus, não somente ocasionou morte celular significativa por piroptose, mas também prejudicou a autorrenovação clonogênica das células infectadas sobreviventes. Além disso, inferiu-se que os processos de infecção viral nas células de GBM são mediados pelos receptores tirosina quinase Axl e integrina α_v β_5. Esses resultados demonstram que a terapia oncolítica com o ZIKV é promissora, porém a limitada quantidade de estudos, ressalta a necessidade de mais pesquisas e investimentos nessa área.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A agressividade e malignidade do glioblastoma multiforme, evidencia a necessidade constante de novas terapias. A utilização do Zika Vírus como agente terapêutico vem demonstrando resultados promissores, haja vista que o tropismo natural desse vírus por células neurais, torna as células do GBM um alvo importante. Diversos estudos demonstram que a infecção do ZIKV nas células tumorais, altera diversas estruturas celulares, culminando na ativação da apoptose dessas células e contribuindo para a regressão tumoral. Dessa forma, espera-se que a capacidade oncolítica do ZIKV seja viável no futuro, tendo em vista que ainda não foram realizados testes em seres humanos.

REFERÊNCIAS

CHEN, Lishu. **Oncolytic Zika virus promotes intratumoral T cell infiltration and improves immunotherapy efficacy in glioblastoma**. 2022. 13 f. National Center Of Biomedical Analysis, State Key Laboratory Of Proteomics, Beijing, China, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.omto.2022.01.011. Acesso em: 19 jul. 2022.

DAVIS, Mary Elizabeth. Glioblastoma Multiforme. **Glioblastoma: Overview of Disease and Treatment**, National Center for Biotechnology Information, 2016.

IANNOLO, Gioachinn *et al*. **Zika virus infection induces MiR34c expression in glioblastoma stem cells: new perspectives for brain tumor treatments**. 2019. 10 f., Department Of Oncology And Molecular Medicine, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41419-019-1499-z. Acesso em: 19 jul. 2022.

LESSER, Jeffrey; KITRON, Uriel. A geografia social do Zika no Brasil. **Estudos avançados**, v. 30, p. 167-175, 2016.

LI, Mei. **Characterization of Zika Virus Endocytic Pathways in Human Glioblastoma Cells**. 2020. 19 f., Wuhan Institute Of Virology,, Chinese Academy Of Sciences, Wuhan, China, 2020. Disponível em: 10.3389/fmicb.2020.00242. Acesso em: 19 jul. 2022.

LIMA, Estela de O *et al*. **Zika virus infection induces synthesis of Digoxin in glioblastoma cells**. 2017. 18 f. Laboratory of Biotechnology, School of Pharmaceutical Science, University of Campina.

SOUSA, Camila Alves de; MENDES, Daniela do Carmo Oliveira; MUFATO, Leandro Felipe; QUEIRÓS, Pollyana de Siqueira. Zika vírus: conhecimentos, percepções, e práticas de cuidados de gestantes infectadas. **Zika virus: conocimientos, percepciones, y prácticas de cuidados de gestantes infectados**, Scielo, 2 jul. 2018.

TANG, Hengli et al. Zika virus infects human cortical neural progenitors and attenuates their growth. **Cell stem cell**, v. 18, n. 5, p. 587-590, 2016.

VICTORIO, Carla Bianca Luena et al. Repurposing of Zika virus live-attenuated vaccine (ZIKV-LAV) strains as oncolytic viruses targeting human glioblastoma multiforme cells. **Journal of Translational Medicine**, v. 22, n. 1, p. 126, 2024.

WIELAND, Johannes *et al*. **Zika virus replication in glioblastoma cells: electron microscopic tomography shows 3D arrangement of endoplasmic reticulum, replication organelles, and viral ribonucleoproteins**. 2021. 12 f. Central Facility For Electron Microscopy, Ulm University, Bundeswehr, Germany, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s00418-021-02028-2. Acesso em: 19 jul. 2022.

YANG, Shu. **Zika Virus-Induced Neuronal Apoptosis via Increased Mitochondrial Fragmentation**. 2020. 16 f. National Center For Advancing Translational Sciences, National Institutes Of Health, Maryland - United States, 2020. Disponível em: 10.3389/fmicb.2020.598203. Acesso em: 19 jul. 2022.