



Zika Vírus como Terapia Oncolítica para Câncer
Cerebral: Mito ou Realidade?

Autores

Mateus Gonçalves de Sena Barbosa¹, Nicollas Nunes Rabelo, MD, PhD²

Afiliações:

¹ Acadêmico de medicina na Faculdade Atenas, Passos-MG, Brasil

² Professor de medicina na Faculdade Atenas, Passos-MG, Brasil

Palavras-chave: Zika, neurotropismo, glioblastoma, MSI1, AXL, oncolítico, câncer cerebral, tumor cerebral.

poderia revolucionar o prognóstico de pacientes com tumores cerebrais.

RESUMO

Os tumores cerebrais malignos estão entre os cânceres mais agressivos com prognóstico ruim e nenhum tratamento eficaz, apesar de todas as terapias e tecnologias. A por tratamentos para gliomas permitiu a descoberta de que o vírus Zika (ZIKV), um flavivírus, possui tropismo por células tumorais cerebrais e atua com um efeito oncolítico. Foi realizado uma revisão sistemática foi realizada a partir do MEDLINE, EMBASE, Cochrane Central Register of Controlled Trials, Web of Science e SciELO. Tal vírus capaz de atingir tumores cerebrais, além de estimular a ação antitumoral e imunidade do hospedeiro. Assim, fornece imunidade a longo prazo contra a remissão do câncer, reduz a carga tumoral, menos metástase e remissão completa em alguns animais, consequentemente aumenta a sobrevida. Houve evidências de que o tratamento com ZIKV contra o glioblastoma pode ser eficaz, sugerindo uma nova terapia futura que

1. INTRODUÇÃO

As patologias que ocorrem devido a uma proliferação celular exacerbada e desorganizada são denominadas tumores do sistema nervoso central (SNC). Segundo a GLOBOCAN 2020, mais de 300.000 novos casos foram registrados em 2020, com taxa de mortalidade de 2,5%. Os tratamentos disponíveis são radioterapia, quimioterapia e neurocirurgia (Sung H, et al., 2020), (Kaid C, et al., 2020).

Os glioblastomas (GBS) são considerados o tumor cerebral primário mais agressivo e comum, com progressão veloz e péssimo prognóstico. Nesse caso, não há cura, portanto, o tratamento visa aumentar a sobrevida com o máximo de qualidade de vida possível (Kaid C, et al., 2020), (Nair S, et al., 2021) e (Li H, et al., 2019). Diversos estudos recentes apresentam possíveis opções de vias bioquímicas e intracelulares, sendo assim, o uso do Zika vírus (ZIKV) está sendo sugerido para reduzir e/ou inibir a proliferação de células tumorais e induzir apoptose. Proteínas e moléculas virais específicas têm sido observadas em estudos controlados e orientados para obtenção de células-tronco, utilizando vacinas atenuadas, fragmentos virais encapsulados e terapia viral (Kaid C, et., al

2020), (Dabaja MZ, et al., 2018) e (Kaid C, et al., 2018). O presente artigo possui como objetivo evidenciar se o Zika vírus realmente tem capacidade oncolítica frente ao câncer cerebral, podendo-o representar uma opção terapêutica futura ou não.

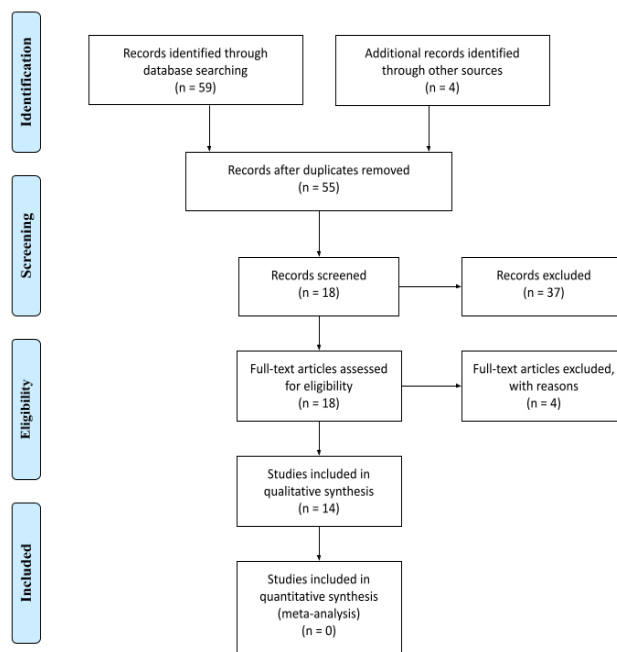
2. METODOLOGIA

Esta é uma revisão sistemática, baseada nas diretrizes dos itens de relatório preferidos para revisões sistemáticas e meta-análises (PRISMA), sendo uma revisão da literatura com síntese das evidências científicas encontradas. Com base na questão norteadora: “o Zika vírus pode ser um tratamento eficaz para tumores cerebrais?”. Uma revisão sistemática e abrangente da literatura foi realizada a partir do MEDLINE, EMBASE, Cochrane Central Register of Controlled Trials, Web of Science e SciELO, usando as seguintes palavras-chave: “tumor cerebral”, “câncer cerebral”, “neoplasia cerebral”, “glioma”, “glioblastoma”, “neuroblastoma”, “células-tronco”, “oncologia”, “Zika vírus”, “oncolítico”, “oncólise”, “tratamento”, “terapia”, “imunoterapia”, “imunologia”, “abordagem”, “desfecho”, “resultado”, “vacina”, “anticâncer”, “digoxina” e “acompanhamento”. Estas nas combinações com os operadores booleanos: “AND”, “OR” e “NOT”. As palavras-chave foram pesquisadas na modalidade “todos os campos”. Cada artigo e suas respectivas referências foram obtidos na íntegra e analisados criteriosamente. Os critérios de inclusão foram artigos que apresentassem evidências científicas sobre estudos que demonstrassem a presença ou ausência da capacidade oncolítica do Zika vírus contra tumores cerebrais e/ou apresentação da eficácia ou ineficácia desse vírus para combater tumores cerebrais. Somente estudos que apresentassem claramente a relação do Zika vírus com tumores cerebrais. Além de apresentarem uma descrição das seguintes informações: características do tumor, procedimentos de intervenção, parâmetros de avaliação de desfecho e os

resultados obtidos, que foram relatados de forma adequada, sendo trabalhos bem realizados metodologicamente e desenvolvidos de forma adequada, foram incluídos neste estudo. E também estudos que mostraram as principais novidades e atualizações da literatura médica sobre o assunto, em revistas de prestígio.

Além disso, outros critérios de inclusão foram selecionar pesquisa primária qualitativa e quantitativa e pesquisa secundária; que estavam disponíveis online na íntegra com formato de artigo nos idiomas: inglês, espanhol ou português. Palavras de textos livres e vocabulário controlado/termos MeSH foram combinados sem qualquer limitação no período de busca. Os termos de pesquisa do MEDLINE foram adaptados para cada banco de dados.

Figura 1: Fluxograma: Representa a identificação, triagem, elegibilidade e os critérios de inclusão e exclusão desta revisão sistemática.



3. Resultados

Tabela 1. Resumo dos principais estudos *in vitro* / *in vivo* (2017-2021) que investigaram os efeitos oncolíticos do vírus Zika (ZIKV) em tumores do SNC

REVISTA DOS SEMINÁRIOS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA
IV Seminário de Iniciação Científica da Faculdade Atenas Passos

Referência	Título do estudo	cepa de ZIKV	Linhagem celular	Biomarcador	Resultados
(Chen Qi, et al., 2018)	Tratamento de glioblastoma humano com um vivo atenuado Candidato a vacina contra o vírus Zika	FSS 13025/GZ01	Amostras de GSCs 387 e 4121		O ZIKV-LAV demonstrou ser seguro e significativamente no crescimento do tumor intracerebral e reduziu a sobrevivência do animal ao matar seletivamente as GSCs dentro do tumor
(Crane AT, et al., 2020)	A imunoterapia baseada no vírus Zika melhora sobrevivência a longo prazo de roedores com cérebro tumores através da regulação positiva da memória Células T	ZIKV H/PF/2013	células GBM GL261; Linhagem celular de glioma GS-9L		A imunoterapia com ZIKV pode ser um adjuvante das vacinas tumorais para intensificar a sobrevida a longo prazo, através do aumento da resposta das células T
(Dabaja MZ, et al., 2018)	Alterações metabólicas induzidas pelo vírus Zika atenuado em células de glioblastoma	ZIKV ^{BR}	Células U-251 GBM	Fosfolipídios ¹ , metabólito clorado ² , fosfatidilinositol-3-fosfato	ZVp pode ser um tratamento alternativo para GBM, dados os efeitos citopáticos e danos celulares induzidos em células tumorais neurais
(Iannolo G, et al., 2019)	Infecção pelo vírus Zika induz MiR34c expressão em células-tronco de glioblastoma: novo Perspectivas para tratamentos de tumores cerebrais	ZIKV H/PF/2013	GSCs U87MG e T98G	CD133, SOX-2, Musashi-1 e nestina	A infecção pelo ZIKV induziu a expressão do miR34c e sua superexpressão reproduziu um efeito equivalente ao da infecção. MiR34c pode inibir GSCs e reduzir Bcl2, o que poderia potencializar o efeito da quimioterapia/radioterapia.

REVISTA DOS SEMINÁRIOS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA
IV Seminário de Iniciação Científica da Faculdade Atenas Passos

(Kaid C, et al., 2018)	Zika vírus mata seletivamente humano agressivo Células tumorais embrionárias do SNC in vitro e in vivo	ZIKV ^{BR}	Linhagens de células tumorais do SNC embrionário: DAOY, USP13-MED, USP7-ATRT	Via Wnt/ β -catenina	O ZIKV tem propriedades oncolíticas e tem como alvo específico células cancerígenas do tipo tronco de tumores embrionários do SNC
(Kaid C, et al., 2020)	Segurança, Redução de Tumores e Clínico Impacto da injeção do vírus Zika em cães com Tumores Cerebrais em Estágio Avançado	ZIKV ^{BR}	Tumor primário do SNC com origem neural, excluindo meningioma e outros tumores não neurais	anticorpo anti-ZIKV NS2B	Mostrado pela primeira vez remissão significativa do tumor do SNC após injeções intratecais de ZIKVBR em dois cães com tumores intracranianos espontâneos com ausência de efeitos colaterais clínicos associados à infecção pelo ZIKV.
(Li H, et al., 2019)	A proteína NS5 do vírus Zika inibe o crescimento celular e a invasão de glioma	PRVABC59	Linhas celulares de glioma HEK293T, U87 e GL261	NS5	A proteína viral NS5 inibiu o crescimento e proliferação celular e a formação de tumoresfera
(Li M, et al., 2020)	Caracterização do Zika Vírus Vias endocíticas em humanos Células de Glioblastoma	kv963796	Células de Glioblastoma T98G	cadeia pesada de clatrina	Os vírus penetram nas células por vários mecanismos, incluindo fusão com a membrana celular ou entrada por endocitose mediada por receptor. A endocitose mediada por clatrina é a via mais frequentemente usada. O ZIKV pode entrar nas células T98G não apenas por vias dependentes de clatrina, mas também por vias independentes de clatrina
(Lima E, et al., 2017)	MALDI-Imaging detecta Digoxina endógena em células de glioblastoma infectadas pelo	ZIKV ^{BR}	Células GBM M059J	Digoxina	Efeitos citopáticos induzidos pelo ZIKV, associados à síntese endógena de digoxina, em células GBM

	vírus Zika – seria a chave oncolítica?				
(Luplertlop N, et al., 2017)	O impacto da infecção pelo vírus Zika no neuroblastoma humano (SH-SY5Y) linha celular	SV0127/14 e SV0010/15	linha celular de neuroblastoma humano (SH-SY5Y)	-	
(Mazar J, et al., 2018)	O vírus Zika como tratamento oncolítico de células neuroblastoma humanas requer CD24	PRVABC59	Neuroblastoma MYCN e não MYCN	NS1	A infecção pelo ZIKV reduz a viabilidade celular. No entanto, a permeabilidade ao vírus zika depende da expressão de CD24. Ocorre principalmente em progenitores de alta atividade metabólica, não tendo esse efeito em células diferenciadas
(Nair S, et al., 2021)	A atividade oncolítica do vírus Zika requer CD8+ células T e é impulsionado pelo sistema imunológico bloqueio de posto de controle	ZIKV-Dacar	GL261 e CT2A Células GBM	Anticorpos depletors de CD8, controle de isotipo IgG2b, anticorpos contra PD-1, controle de IgG2a	A análise histológica revelou tamanhos tumorais comparáveis entre o ZIKV e Grupos PBS no dia 14 após a implantação do tumor (7 dias após o tratamento com ZIKV), mas uma diminuição no tumor tamanho 1 semana depois no dia 21 após a implantação do tumor (14 dias após o tratamento com ZIKV) em resposta ao ZIKV tratamento. Foi observada infiltração de células imunes no microambiente tumoral. mento nos dias 14 e 21 após a implantação do tumor em animais tratados com ZIKV. O tratamento com ZIKV também aumentou a resposta das células mieloides associadas ao tumor no leito tumoral, particularmente as populações de monócitos e microglia.

REVISTA DOS SEMINÁRIOS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA
IV Seminário de Iniciação Científica da Faculdade Atenas Passos

(Trus I, et al., 2020)	Vírus Zika com Dinucleotídeo CpG aumentado	PRVABC59	C6/36 células	In vitro: cinética de infecção reduzida em células cerebrais não malignas, mas alta infectividade e atividade oncolítica em GSCs. In ovo: replicado de forma eficiente com uma redução significativa do crescimento do tumor
(Zhu Z, et al., 2020)	Zika vírus atinge células-tronco de glioblastoma através um eixo SOX2-Integrin avb5	H/PAN/2016/BEI-259634 e PRVABC59	Linha celular 293FT, ENSA (ENS-tem-A), NSC11, NM53, NM55, NM177, NPC C4-7, hNP1 (STEMEZ hNP1) e H1 ESC	A integrina avb5 demonstrou ser um marcador funcional de células-tronco cancerígenas essenciais para a manutenção da infecção por GBM e ZIKV

Abreviaturas : SNC (sistema nervoso central), GBM (glioblastoma), MALDI (imagem de espectrometria de massa de desorção/ionização a laser de matriz), ZVp (protótipo de ZIKV atenuado)

¹Ácido lisofosfatídico, fosfatidilserina oxidada e fosfatidilserina simples; ²5-metiltetrahydropteroltri-L-glutamato.

A Tabela 1 contém os principais aspectos objetivos de cada artigo selecionado para a síntese qualitativa. Existem estudos in vitro, in vivo e in vitro/in vivo. Nos artigos eles apresentam diferentes vias de sinalização e diferentes biomarcadores.

4. DISCUSSÃO

Uma pesquisa realizada com o objetivo de entender como as células-tronco tumorais embrionárias do SNC humano se comportam diante da infecção pelo ZIKV. Portanto, o estudo se concentrou em analisar três linhagens de células tumorais embrionárias do SNC (DAOY, USP13-MED e USP7-ATRT), bem como três linhagens de células tumorais não SNC de câncer de mama, colorretal e próstata. Todas as seis linhagens celulares foram infectadas com ZIKV para avaliar os efeitos oncolíticos in vitro da infecção por ZIKV. 72 horas após a infecção, os pesquisadores observaram morte celular e/ou crescimento reduzido em todas as linhagens tumorais do SNC, embora a infecção por DAOY tenha sido menos pronunciada quando comparada com USP13-MED e USP7-ATRT. A análise de citometria de fluxo foi realizada e mostrou um aumento na população de linhagens tumorais do SNC positivas para PI como consequência da infecção pelo ZIKV, sugerindo morte celular por ruptura da membrana plasmática. Também foi afirmado que a infecção pelo ZIKV interferiu nas esferas tumorais do SNC, principalmente nas esferas tumorais embrionárias do SNC. No entanto, foi observado um ligeiro ou nenhum efeito nas propriedades oncolíticas e na ruptura da esfera tumoral em linhas de células tumorais não SNC. Com base nesses achados, os autores propuseram uma infecção seletiva por ZIKV e morte celular de células tumorais do SNC quando comparadas a células-tronco normais do SNC e outras linhagens de células tumorais (próstata, mama, colorretal). Dois anos depois, o mesmo autor mostrou a primeira remissão significativa do tumor do SNC após injeções intratecais de ZIKV BR em dois cães portadores de tumores intracranianos espontâneos, sem efeitos colaterais clínicos associados à infecção por ZIKV (Kaid C, et al., 2020), (Kaid C, et al., 2018).

Em seguida, foi realizado um estudo in vivo com injeção intracerebroventricular de ZIKV em camundongos nude BALB/c após um período de estabelecimento do tumor no SNC (1 a 2 semanas para as linhas celulares

DAOY, USP13-MED e USP7-ATRT). Neste estudo, o ZIKV mostrou induzir remissão em 20 dos 29 animais do grupo experimental, com remissão completa em 7 camundongos. Quando comparado ao grupo sham, o OS de camundongos portadores de tumor USP7-ATRT tratados com infecção por ZIKV foi estatisticamente aumentado ($P = 0,0046$) e 60% do grupo teve remissão metastática completa ($n = 3$). A redução da taxa de crescimento tumoral em USP7-ATRT e USP13-MED também foi observada, embora a linhagem celular DAOY tenha tido uma resposta pobre à infecção por ZIKV, o que se encaixa nos achados in vitro. Além disso, o estudo sugere que a via Wnt/ β -catenina pode estar envolvida na morte celular associada à infecção pelo ZIKV, uma vez que USP7-ATRT, a linhagem celular com melhores resultados, apresentou hiperatividade dessa via específica (Chen Q, et al., 2018).

Verificou-se que o ZIKV interferiu em células infectadas com glioblastomas, através de alterações metabólicas. Isso aconteceu, principalmente, devido à proteína não estrutural do vírus (NS5), que inibe consideravelmente a tumorigenicidade devido à lesão das células-tronco do glioma, reduzindo sua proliferação (Li H, et al., 2019). Além disso, moléculas de glicosídeos cardíacos, como a digoxina, observadas precocemente na infecção pelo ZIKV, já mostraram bons resultados em pacientes com neuroblastoma, melanoma e câncer de mama. Também foi demonstrado que aumenta a atividade da p536 (Lima E de O, et al., 2018).

Evidenciou-se que o vírus poderia atuar positivamente em outros tipos de câncer, como meduloblastoma, próstata, mama e tumor rabdóide teratóide, porém, obtiveram bons resultados específicos para o sistema nervoso central, principalmente o tumor rabdóide teratóide, pois são originários de células-tronco e neuroprogenitores, que são partes de maior tropismo pelo vírus [6]. Em outro estudo, foi observada eficácia significativa para o tratamento do neuroblastoma, no qual o

vírus dominou a maioria das células tumorais em poucos dias (Mazar J, et al., 2018)

Além disso, a remissão tumoral foi observada em camundongos que sobreviveram ao glioblastoma por vacinação com células previamente infectadas com ZIKV e por injeções intracranianas de vírus vivo atenuado ou por células previamente infectadas. Nesse grupo, obtiveram a possibilidade de imunização de longo prazo a partir da geração de células T de memória, com sobrevida significativa. Portanto, o ZIKV pode contribuir para o desenvolvimento de vacinas (Crane AT, et al., 2020). Outro estudo mostrou que apenas uma injeção intracerebroventricular em camundongos foi suficiente para reduzir a carga viral, aumentar a sobrevida e reduzir a incidência de remissão e metástase (Kaid C, et al., 2018).

5. CONCLUSÃO

O ZIKV pode ser eficiente de forma significativa e viável para terapia de câncer cerebral, com segurança, alta atividade de células T e pode ser utilizado associado à neurocirurgia/radioterapia para melhorar a sobrevida do paciente. Apesar do pequeno número de estudos e informações de qualidade para fundamentar, os resultados dos estudos já realizados demonstram eficácia e possibilidade de utilização desse tratamento no futuro. No entanto, mais pesquisas nesse campo de investigação são necessárias.

6. FONTES CONSULTADAS

Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021 May;71(3):209–49.

Kaid C, dos Santos Madi RA, Astray R, Goulart E, Caires-Junior LC, Mitsugi TG, et al. Safety, Tumor Reduction, and Clinical Impact of Zika Virus Injection in Dogs with Advanced-Stage

Brain Tumors. *Mol Ther*. 2020 May 6;28(5):1276–86.

Nair S, Mazzoccoli L, Jash A, Govero J, Bais SS, Hu T, et al. Zika virus oncolytic activity requires CD8+ T cells and is boosted by immune checkpoint blockade. *JCI Insight* [Internet]. 2021 Jan 11;6(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1172/jci.insight.144619>.

Li H, Hu Y, Huang J, Feng Y, Zhang Z, Zhong K, et al. Zika virus NS5 protein inhibits cell growth and invasion of glioma. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019 Aug 20;516(2):515–20.

Dabaja MZ, Lima E de O, de Oliveira DN, Guerreiro TM, Melo CFOR, Morishita KN, et al. Metabolic alterations induced by attenuated Zika virus in glioblastoma cells. *Cell Biosci*. 2018 Sep 4;8(1):1–9.

Kaid C, Goulart E, Caires-Júnior LC, Araujo BHS, Soares-Schanoski A, Bueno HMS, et al. Zika Virus Selectively Kills Aggressive Human Embryonal CNS Tumor Cells In Vitro and In Vivo. *Cancer Res*. 2018 Jun 15;78(12):3363–74.

Chen Q, Wu J, Ye Q, Ma F, Zhu Q, Wu Y, et al. Treatment of Human Glioblastoma with a Live Attenuated Zika Virus Vaccine Candidate. *MBio* [Internet]. 2018 Sep 18;9(5). Available from: <http://dx.doi.org/10.1128/mBio.01683-18>

Crane AT, Chrostek MR, Krishna VD, Shiao M, Toman NG, Pearce CM, et al. Zika virus-based immunotherapy enhances long-term survival of rodents with brain tumors through upregulation of memory T-cells. *PLoS One*. 2020 Oct 1;15(10):e0232858.

Iannolo G, Sciuto MR, Cuscino N, Pallini R, Douradinha B, Ricci Vitiani L, et al. Zika virus infection induces MiR34c expression in glioblastoma stem cells: new perspectives for brain tumor treatments. *Cell Death Dis*. 2019 Mar 19;10(4):263.

Li M, Zhang D, Li C, Zheng Z, Fu M, Ni F, et al. Characterization of Zika Virus Endocytic

Pathways in Human Glioblastoma Cells. *Front Microbiol.* 2020 Mar 6;11:242.

Lima E de O, Guerreiro TM, Melo CFOR, de Oliveira DN, Machado D, Lancelloti M, et al. MALDI imaging detects endogenous digoxin in glioblastoma cells infected by Zika virus— Would it be the oncolytic key? *J Mass Spectrom.* 2018 Mar 1;53(3):257–63.

Luplertlop N, Suwanmanee S, Muangkaew W, Ampawong S, Kitisin T, Poovorawan Y. The impact of Zika virus infection on human neuroblastoma (SH-SY5Y) cell line. *J Vector Borne Dis.* 2017 Jul 1;54(3):207.

Mazar J, Li Y, Rosado A, Phelan P, Kedarinath K, Parks GD, et al. Zika virus as an oncolytic treatment of human neuroblastoma cells requires CD24. *PLoS One.* 2018 Jul 25;13(7):e0200358.

Trus I, Berube N, Jiang P, Rak J, Gerdts V, Karniychuk U. Zika Virus with Increased CpG Dinucleotide Frequencies Shows Oncolytic Activity in Glioblastoma Stem Cells. *Viruses.* 2020 May 25;12(5):579.

Zhu Z, Mesci P, Bernatchez JA, Gimple RC, Wang X, Schafer ST, et al. Zika Virus Targets Glioblastoma Stem Cells through a SOX2-Integrin $\alpha\beta 5$ Axis. *Cell Stem Cell.* 2020 Feb 6;26(2):187–204.e10.