

MAPEAMENTO DO DESENVOLVIMENTO DE VACINAS CONTRA ZIKA EM FASE DE TESTE CLÍNICO COM FOCO NAS VACINAS GÊNICAS

Antonio Wanderson Vieira Gois – antoniowandersongois@gmail.com

Faculdade de Medicina da Bahia (FAMEB-UFBA) / Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Raphael dos Santos Cerqueira – rapha_new@hotmail.com

Faculdade de Medicina da Bahia (FAMEB-UFBA) / Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Elvis Paim Ferreira – elvispaim23@gmail.com

Faculdade de Medicina da Bahia (FAMEB-UFBA) / Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Angela Machado Rocha – anmach@gmail.com

Programa de Pós-Graduação em Propriedade Intelectual e Transferência Tecnológica para a Inovação (PROFNIT) / Núcleo de Inovação Tecnológica (NIT-UFBA) / Instituto de Ciências da Saúde (ICS-UFBA) / Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Resumo—O ZIKV (ou ZKV) figura dentre os vírus transmitidos pelo mosquito *Aedes aegypti*, causador de comorbidades neurológicas em crianças e adultos, como complicações oftálmicas, síndrome de Guillain-Barré, malformações congênitas, aumento no número de natimortalidade e aborto espontâneo. Ainda não existem vacinas ou medicamentos antivirais específicos autorizados para o tratamento da doença, que é forte candidata pra lista das doenças tropicais negligenciadas da Organização Mundial da Saúde (OMS). Portanto, o objetivo deste artigo é trazer atualizações sobre o cenário geral dos tipos vacinais para o ZIKV, com ênfase nas vacinas baseadas em seu material genético. A busca foi feita em 08/03/2021, através da base de dados ClinicalTrials.gov, utilizando os termos “Zika” e “vaccine”. Foram encontrados 29 resultados, porém, apenas 19 eram testes clínicos de vacinas contra Zika em testes clínicos. Os resultados apontaram início das pesquisas em 2016 e demonstraram tendências decrescentes. EUA são o local onde ocorre a maioria dos estudos encontrados. A maior parte das vacinas são do tipo DNA, seguidas pelas inativadas. As gênicas (ou genéticas) codificam proteínas prM e E, com destaque para os plasmídeos de DNA pGX7201 e VRC5283, sendo esse último o princípio ativo da vacina mais avançada, pois já concluiu a Fase 2. Outras vacinas que merecem atenção são as vetorizadas por ChAdOx1, pois podem imunizar simultaneamente contra Zika e Chikungunya. Ademais, é necessário entender melhor a interferência cruzada entre as imunizações de Dengue e Zika, e a influência da fabricação de doses contra COVID-19 e suas pesquisas no desenvolvimento de outras vacinas.

Palavras-chave— Ensaio clínico, Estudo prospectivo, Imunização, Zika vírus.

Abstract—The ZIKV (or ZKV) is among the *Aedes aegypti* mosquito-borne viruses, which causes neurological comorbidities in children and adults, such as ophthalmic complications, Guillain-Barré syndrome, congenital malformations, an increase in the number of stillbirths and miscarriage. There are still no specific vaccines or antiviral drugs authorized to treat the disease, and it's a strong candidate for World Health Organization (WHO) list of neglected tropical diseases. Therefore, the purpose of this article is to bring updates on the general scenario of vaccine types for ZIKV, emphasizing on vaccines based on their genetic material. The research was done on March 8th, 2021, through the ClinicalTrials.gov database, using the “Zika” and “vaccine” terms. 29 results were found, however, of these only 19 were vaccines against Zika undergoing clinical trials. The results pointed to the beginning of the research in 2016 and showed decreasing trends. The USA is where most of the studies found are carried out. Most vaccines are of the DNA type, followed by inactivated ones. Gene (or genetic) vaccines encode ZIKV prM and E proteins, with emphasis on the pGX7201 and VRC5283 DNA plasmids, the latter being the active ingredient of the most advanced vaccine, as it has already completed phase 2. Other vaccines that deserve attention are those vectorized by ChAdOx1, because they can simultaneously immunize against Zika and Chikungunya. Furthermore, it's necessary to better understand the

cross-interference between Dengue and Zika immunizations, and the influence of manufacturing doses against COVID-19 and their researches on other vaccine developments.

Keywords— Clinical assays, Prospective study, Immunization, Zika virus.

1 INTRODUÇÃO

A Zika é uma arbovirose, ou seja, uma enfermidade viral transmitida por mosquito, e pode gerar manifestações de cunho inflamatório, sequelas de curto a longo prazo e apresentar risco de vida, sobretudo para bebês em gestação. Em 2016, devido à Zika e a suas consequências clínicas, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou Estado de Emergência de Saúde Pública de Preocupação Internacional e, desde então, tem-se buscado estratégias de combate a essa doença.

A forma mais eficaz de prevenir uma enfermidade infectocontagiosa, como é o caso da Zika, é por meio da imunização ativa, proporcionada pela vacinação. Em contrapartida, ainda não existe uma vacina anti-Zika aprovada e, para entender o cenário de desenvolvimento científico e tecnológico no qual está inserida, seus problemas e perspectivas futuras, bem como apontar lacunas pertinentes ao tema a fim de auxiliar o seu progresso, é necessário um estudo prospectivo. Nesse aspecto, o objetivo deste artigo é trazer atualizações sobre o cenário geral dos tipos de vacinas contra a Zika que se encontram em fase de ensaios clínicos, com ênfase nos imunizantes baseados em seu material genético, que é o método mais inovador de imunização.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 A FEBRE ZIKA E O CONTEXTO ATUAL

A Zika possui esse nome por ter sido detectada pela primeira vez na floresta de Zika, situada em Uganda, durante o monitoramento de outra arbovirose, a febre amarela, em macacos *Rhesus*, utilizados como sentinelas (DICK et al., 1952). O vírus causador da Zika, o ZIKV (ou ZKV), pertence ao gênero *Flavivirus*, da família *Flaviviridae*. Seu principal transmissor é o mosquito da espécie *Aedes aegypti*, inseto de hábitos urbanos cujas fêmeas alimentam-se preferencialmente de sangue humano. Esse mosquito predomina nas zonas tropicais e úmidas do planeta, podendo também chegar a regiões não tropicais durante as temporadas chuvosas e de temperaturas mais quentes.

Outrossim, em comparação com outras arboviroses, inclusive as vetorizadas pelo mosquito *Aedes aegypti*, como Dengue, Chikungunya e febre amarela, a infecção por Zika está relacionada a mais vias de transmissão. Além da disseminação por mosquito, o ZIKV também pode ser passado diretamente de um infectado para outras pessoas, através de transmissão vertical, transfusões de sangue e relações sexuais. Ademais, esse vírus também já foi detectado na saliva, no leite materno e na urina (BLOHM et al., 2018; FREITAS et al., 2020).

Embora a maior parte dos indivíduos infectados com o ZIKV permaneça assintomático, podendo apresentar também sinais leves e autolimitados, a Zika é associada a manifestações neurológicas em crianças e adultos, a exemplo de complicações oftálmicas, como anormalidades do nervo óptico e da retina, e síndrome de Guillain-Barré e déficit cognitivo. Ademais, a transmissão vertical tem sido relacionada a natimortalidade e aborto espontâneo, além de malformações congênitas, a exemplo da microcefalia, uma grave consequência da Síndrome Congênita do Zika que não possui cura e acarreta enorme sofrimento, tanto para as vítimas, quanto para suas famílias (BRASIL, 2017; FIGUEIREDO, 2019; FREITAS et al., 2020). Os efeitos epidemiológicos da Zika são tão graves que essa foi apontada como a principal causa da elevação da taxa de mortalidade infantil no Brasil, em 2016, fenômeno que não ocorria desde a década de 1990 (BRASIL, 2017).

O primeiro surto da doença aconteceu nas ilhas Yap, no Pacífico Ocidental, em 2007. Posteriormente, o ZIKV se introduziu na Polinésia Francesa e no Pacífico Sul, no ano de 2013 e, em 2016, a OMS alertou ao mundo sobre a importância de combater a Zika e seus distúrbios associados, que passaram a ser considerados uma emergência de saúde pública de importância internacional. Dentro de tal conjuntura, fomentaram-se esforços conjuntos de governos e especialistas para o manejo dos desafios clínicos e sociais apresentados e a descrição da fisiopatologia da infecção (FREITAS et al., 2020; LI et al., 2021).

Em julho de 2019, 87 territórios e países relataram casos da linhagem de ZIKV que se disseminou a partir da Polinésia Francesa. Ademais, desde sua chegada às Américas, um número superior a 5,8 milhões de casos da doença foi exposto, em dezembro de 2020. Por meio de estudos filogenéticos, foi constatado que o ZIKV teve evolução na África e se disseminou, em sequência, para a Ásia. De acordo com essas pesquisas, a linhagem asiática é responsável pelas epidemias recentes não só nas Américas, como também no Pacífico Sul (LI *et al.*, 2021; LIU *et al.*, 2021).

Segundo Pielnaa *et al.* (2020), existe o risco provável de transmissão do vírus para um maior número de países, além do ressurgimento do ZIKV em locais nos quais foi relatada uma transmissão anterior. Assim, o estado de disseminação do ZIKV caracteriza, atualmente, um perigo potencial à saúde e pode reaparecer como uma epidemia. Esse perigo é agravado pelo fato de que não existem vacinas ou medicamentos antivirais específicos autorizados para o tratamento da Zika, o que contribui com o fato de que a doença seja candidata a registro como Doença Tropical Negligenciada (DTN), segundo a OMS. Nesse sentido, as DTNs são um grupo de patologias que se manifestam em regiões de clima subtropical e tropical e estão associadas à pobreza. Dessa forma, essas doenças afetam predominantemente as Américas, Ásia e África e desenvolvem-se com maior facilidade em locais onde não existe saneamento adequado, o acesso à água potável e esgotamento sanitário é limitado e a população vive próxima a vetores de doenças infecciosas (CHIN *et al.*, 2021; ENGELS; ZHOU, 2020; WHO, 2017).

As doenças tropicais negligenciadas são patologias que poderiam ser controladas e erradicadas através de gerenciamento de casos, saúde pública veterinária, controle de vetores e tratamento em massa e, ademais, são relativamente ignoradas pela pesquisa. De acordo com Silva *et al.* (2020), a negligência frente a essas doenças gera um ônus de bilhões de dólares à economia das regiões afetadas e, desse modo, cria-se um ciclo vicioso de pobreza (BODIMEADE *et al.*, 2019).

Sob esse viés, encontrar medicamentos antivirais específicos é um grande desafio para a ciência, pois os vírus são basicamente formados de materiais genéticos envoltos por um encapsulado lipoproteico ou glicoproteico que facilmente sofrem mutação e geram variantes resistentes. Sobretudo no caso do ZIKV, que é um ribovírus, ou seja, um vírus cujo código genético é armazenado apenas em ácido ribonucleico (RNA), que é a forma mais instável de guardar informação genética, podendo selecionar facilmente uma variante resistente, em relação aos adenovírus – vírus que armazenam código genético apenas em forma de ácido desoxirribonucleico (DNA). Portanto, é muito importante prevenir a infecção viral através da imunização ativa.

Atualmente, a pandemia de ZIKV, cujo pico foi em 2016, diminuiu, mas o vírus ainda representa uma ameaça pública conforme relatórios de surtos contínuos na Ásia, África e Índia (MUSSO, 2019). E as buscas por métodos de imunização da população se tornaram cada vez mais necessárias e objetivadas desde então, uma vez que as transformações socioambientais causadas pela interferência humana na natureza, o crescimento das zonas urbanas e a elevação da temperatura global favorecem a proliferação do principal vetor do ZIKV, o mosquito *Aedes aegypti*. Ademais, uma nova variante desse patógeno foi identificada no Brasil e pode se tornar epidêmica ao redor do mundo nos próximos anos (GOIS, 2021; KASPRZYKOWSKI *et al.*, 2020).

2.2 AS VACINAS ANTIVIRAIS

O desenvolvimento de uma vacina exige algumas etapas imprescindíveis as quais variam de acordo com o país ou estado. Todavia, possuem propósitos gerais muito semelhantes. O primeiro deles visa identificar possíveis métodos e formulações seguros para serem candidatos a vacina e, para tal, são realizados os estudos pré-clínicos, *in vitro* e em animais, para então poder realizar os ensaios clínicos, ou seja, em humanos, que são divididos em fases. A Fase 1, realizada em um pequeno número de pessoas, checka a segurança da vacina em humanos e se suas possíveis reações adversas são aceitáveis. Depois, na Fase 2, são avaliadas a administração das dosagens e a imunogenicidade do método, isto é, a capacidade de provocar imunização de longo prazo. A Fase 3 possui o intuito de demonstrar sua eficácia em um grande número de pessoas para, assim, receber a autorização de aplicação em massa pela agência sanitária responsável.

Desse modo, existem duas formas de imunização. A primeira é a imunização passiva, a qual se baseia na administração de um soro imunológico, ou seja, um soro contendo anticorpos específicos para tratar a infecção. A outra imunização, mais eficaz e efetiva de proteção antiviral, é a imunização ativa, proporcionada

pela vacinação, e é uma forma de prevenção prolongada contra uma doença infectocontagiosa, devido ao contato prévio do sistema imune do corpo com “pedaços” do patógeno. Esse contato estimula o sistema imunológico do paciente a produzir anticorpos contra as proteínas virais inoculadas ou produzidas pelo genoma do patógeno. Dessa forma, a memória imunológica estimulada pela imunização ativa controlada, quando houver uma infecção, será capaz de identificar o patógeno alvo da vacina e interromper a infecção com maior agilidade, a fim de evitar maiores complicações.

Uma vacina adequada é aquela que consegue estimular as células apresentadoras de antígeno e fazer o sistema imune liberar as citocinas apropriadas para conter a infecção. A imunização ativa da vacinação estimula os linfócitos B e T de modo a produzirem uma quantidade adequada de células específicas de memória contra o antígeno inoculado ou produzido pelo material genético inoculado. Além disso, a vacina deve estimular os linfócitos T auxiliares e T citotóxicos específicos para vários epítomos do antígeno vacinal. O conteúdo ativo da vacina deve ter afinidade por localidades específicas do sistema linfóide, a fim de persistir a estimulação de células imunológicas. (CANAL; VAZ, 2007).

As vacinas podem ser dos tipos replicativa ou não replicativa. As vacinas replicativas contêm o vírus vivo e com capacidade de se replicar. Ao ser inoculado, o princípio ativo se multiplica e assim aumenta a quantidade de antígenos para serem detectados pelo sistema imune e agem de modo semelhante à infecção natural. O tipo mais comum de vacinas replicativas são as de vírus vivo atenuado, ou seja, os vírus são modificados de modo a reduzir o seu potencial patogênico, a fim de evitar que cause uma doença ou manifestação sindrômica no paciente. Dessa forma, esse tipo estimula uma resposta imune robusta, por induzirem resposta mediada por linfócitos T citotóxicos, não precisa de adjuvantes, gera uma imunidade mais prolongada e a plataforma de produção é estável e usada em diversas vacinas. Por outro lado, possui um custo muito alto de produção, é desaconselhada a muitos grupos de risco, sobretudo aos imunodeprimidos, suas manipulações e produção podem ter alto risco, possui muitas limitações na produção e há a possibilidade de ter reversão na virulência (CANAL; VAZ, 2007; FAY; LANGLOIS, 2018).

As vacinas não replicativas, por sua vez, não contêm o vírus vivo e ativo. São mais seguras, porque não há como haver reversão da virulência e causar doença. Entretanto, não amplificam a quantidade de antígeno. As principais vacinas antivirais não replicativas contêm como princípio ativo proteínas virais, vírus inativado ou material genético. As vacinas de proteínas virais contêm as proteínas essenciais que são identificadas pelo sistema imunológico e podem ser proteínas de membrana, subunidades proteicas, partículas subvirais recombinantes (RSPs) e até peptídeos sintéticos. Apesar de ser segura e conter as mais importantes partes virais, pode não estimular uma resposta suficientemente forte e necessitar da adição de adjuvantes potencializadores (CANAL; VAZ, 2007).

Já as vacinas com vírus inativado possuem as partículas virais íntegras, porém submetidas a processos químicos e/ou físicos que tornam inviável a sua replicação. Essas vacinas são mais seguras do que as replicativas e mais fáceis de preparar, todavia precisam de uma quantidade maior de princípio ativo, não geram uma resposta imunológica tão forte quanto as vacinas replicativas e necessitam de adjuvantes potencializadores, o que pode elevar o seu custo de produção. Ademais, seu tempo de imunidade normalmente dura menos (CANAL; VAZ, 2007).

As vacinas gênicas, ou genéticas, formadas por ácidos nucleicos, podem ser de DNA ou RNA. Baseiam-se na identificação de um trecho genético que codifica uma ou várias proteínas imunodominantes e indutoras de resposta protetora, normalmente epítomos. Elas podem ser transportadas por um vetor viral, por micropartículas ou por vesículas lipídicas. Assim como as vacinas replicativas, as vacinas gênicas estimulam resposta imunológica humoral e resposta mediada por linfócitos T, que geram uma proteção mais robusta e prolongada em comparação com as vacinas não replicativas. Somado a isso, não são infecciosas e são muito mais seguras, de fácil e rápida produção, fácil modelagem e baixo custo. Contudo, como desvantagem, as vacinas gênicas geram uma imunogenicidade menor (CANAL; VAZ, 2007; ZHANG *et al.*, 2019). No caso das vacinas de DNA, embora sejam mais estáveis que as de RNA a ponto de poder ser armazenadas próximo da temperatura ambiente, não existe um exemplar disponível no mercado e pode causar mutagênese severa e induzir novas doenças (FAUREZ *et al.*, 2010). Já as vacinas de RNA não são integrativas e são muito mais instáveis, necessitando equipamentos de alto custo para seu armazenamento (ZHANG *et al.*, 2019).

3 METODOLOGIA

Esta pesquisa trata-se de um estudo prospectivo das vacinas contra a Zika em fase de ensaios clínicos, com ênfase nas vacinas gênicas. A busca foi realizada na base de dados estadunidense ClinicalTrials.gov (CT). Esse sistema foi criado em 2008, para cumprir a exigência da *Food and Drug Administration (FDA)*, que obriga o envio de informações e resultados de ensaios clínicos, até no máximo um ano após sua data de conclusão, para um banco de dados publicamente acessível. Esse banco recebe registros de pesquisa clínica conduzidos em todo o mundo, é sustentado pela *National Library of Medicine* e pelo *US National Institutes of Health*, com apoio fundamental da iniciativa pública, e segue os critérios de registros recomendados pela OMS e pelo *International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE)*. Somado a isso, para cada ensaio registrado em seu banco de dados, é gerado um NCT (*number of ClinicalTrials.gov*), numeração largamente utilizada para identificar esses ensaios, inclusive em suas publicações respectivas científicas.

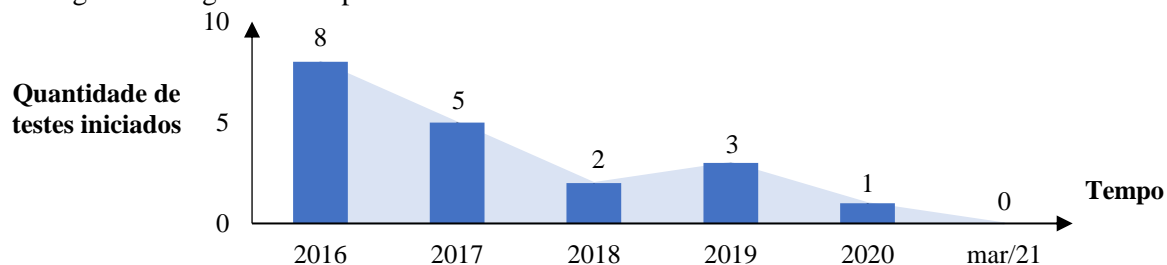
A busca foi realizada na base de dados CT, no dia 8 de março de 2021, através do método de busca avançada, que consistiu na pesquisa dos termos “Zika” e “vaccine”, nas caixas de busca “Condition or disease” e “Other terms”, respectivamente, e todos os termos são automaticamente truncados.

4 DISCUSSÃO E RESULTADOS

A busca apresentou 29 resultados de NCT e, após a leitura crítica de cada um, foi constatado que apenas 19 desses se adequavam ao presente objeto de estudo – candidatas a vacinas contra a Zika em fase de testes clínicos.

Assim, a Figura 1 exibe a progressão temporal da quantidade desses testes, na qual as barras azuis expressam as quantidades anuais de novos ensaios clínicos, conforme a base CT.

Figura 1. Progressão temporal do início de testes clínicos de candidatas a vacinas contra a Zika



Fonte: ClinicalTrials.gov (2021)

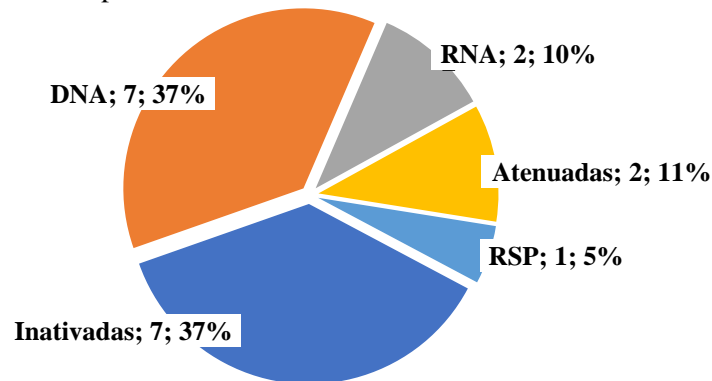
Observa-se que os ensaios clínicos iniciaram em 2016, quando a OMS decretou emergência sanitária por conta dessa enfermidade. E apesar de haver uma tendência de diminuição do surgimento de novas candidatas à vacinação contra a Zika, não significa que esses estudos estão a estagnar, uma vez que periodicamente são postadas atualizações. Nesse sentido, ao considerar o tempo de estudos medido entre o início dos ensaios clínicos até a última atualização, pode-se dizer que os resultados analisados duram de um a quatro anos, com uma média de dois anos e meio.

Além disso, foi observada a disposição dos testes clínicos em questão em diferentes partes do globo. Vale ressaltar que um mesmo estudo pode ser realizado em diferentes regiões. Dessa maneira, foi possível notar que a maioria dos testes são realizados nos Estados Unidos, local que, embora não ameaçado por surtos de Zika como em outras regiões como da África e sudeste asiático, é onde também se localizam a maioria dos desenvolvedores dessas vacinas. Já em segundo lugar, com cinco estudos conduzidos, está a América Central, que é um local que dispõe de condições mais propícias para a proliferação do vetor *Aedes aegypti*.

Em relação ao tipo de vacina dessas candidatas, a maioria dos ensaios tratam das não replicativas, sendo que 37% utilizam o mecanismo de ZIKV inativado, também chamado de ZPIV (NCT04478656, NCT03343626, NCT03343626, NCT03008122, NCT02963909, NCT02952833 e NCT02937233); 47% usam

o princípio de vacina gênica, sendo 10% de RNA mensageiro (mRNA) (NCT04064905 e NCT03014089) e 37% de DNA complementar (cDNA) (NCT03110770, NCT02996461, NCT02840487, NCT02887482, NCT02809443, NCT04015648 e NCT04440774); e 5% de RSPs carregadas por vírus não replicativo de sarampo (NCT04033068), ou seja, MV-ZIKA-RSP. Há também duas vacinas replicativas, as quais baseiam-se no vírus vivo e atenuado (NCT03611946 e NCT02996890). As quantidades de resultados da busca em relação aos tipos vacinais estão esquematizadas na Figura 2. Vale ressaltar também que todos os ensaios utilizam o princípio duplo-cego, isto é, uma comparação da vacina testada em relação a um placebo sem que o voluntário saiba se recebeu a dose com ou sem o princípio ativo.

Figura 2. Tipos de vacinas contra ZIKV em fase de testes clínicos



Fonte: ClinicalTrials.gov (2021)

Todas as vacinas gênicas contra Zika em fase de testes clínicos observadas utilizam moléculas que codificam proteínas de pré-membrana (prM) e de envelope (E) e apenas variam na cepa e na metodologia de testagem, como nos critérios de recrutamento de voluntários, local de injeção, volume e quantidade e concentração de dosagem. Essa estratégia foi utilizada por Larocca *et al.* (2016) que, em ensaios pré-clínicos, mostraram que uma única imunização com uma vacina de DNA de plasmídeo fornece proteção completa em camundongos expostos a uma cepa de ZIKV coletada no surto do nordeste brasileiro em 2016.

Todas as vacinas contra a Zika se encontram na primeira fase, com exceção da vacina do *National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID)*, do ensaio denominado VRC 320 (NCT03110770), a qual é, dentre todas as candidatas, a mais avançada, e concluiu a Fase 2 em dezembro de 2020, após cerca de três anos e meio. Essa vacina consiste no plasmídeo de DNA circular fechado VRC5283, que codifica proteínas prM e E do tipo selvagem (wt) da cepa H/PF/2013 de ZIKV e é administrado por um dispositivo de injeção sem agulha. O plasmídeo consiste no cDNA produzido a partir de um trecho de RNA do ZIKV responsável pela síntese das referidas proteínas, as quais são produzidas pelo corpo da pessoa vacinada e passaram a estimular o sistema imune ativamente de maneira segura e tolerável (GAUDINSKI *et al.*, 2018).

Os resultados de segurança, tolerabilidade e imunogenicidade da vacina do ensaio VRC 320 (NCT02996461) foram relatados junto aos testes da molécula VRC5288, um plasmídeo quimera que combina códigos do ZIKV e do vírus da encefalite japonesa, no ensaio VRC 319 (NCT02840487), conforme descrito por Gaudinski *et al.* (2018). O VRC 319 contou com 80 participantes e o VRC 320 inscreveu 45 participantes, que foram divididos em vários grupos de testes. Ambas as vacinas foram seguras e bem toleradas. Todos os sintomas locais e sistêmicos foram leves a moderados. Em ambos os estudos, dor e sensibilidade no local da injeção foram os sintomas locais mais frequentes. Para VRC5283, todos os 14 participantes que receberam vacinas de dose dividida, por método de injeção sem agulha, tiveram respostas de anticorpos IgG detectados no sangue, o que indica imunidade de longo prazo.

Ademais, outros dois testes clínicos de vacinas de DNA (NCT04015648 e NCT04440774) utilizam como vetor um adenovírus de chimpanzé deficiente para replicação clinicamente validado (ChAdOx1) como plataforma vacinal para expressar as proteínas prM e E do ZIKV. Em testes pré-clínicos, foi constatado que uma única dose sem adjuvante de vacinas ChAdOx1 contendo material genético de ZIKV induz níveis adequados de respostas protetoras em camundongos quando contaminados com Zika. Inclusive, também foi

testado o potencial de imunização desse vetor viral contendo o trecho genético das proteínas prM e E com e sem seu domínio transmembrana (TM). E assim, foi constatado que a melhor proteção se dá com o trecho codificante das referidas proteínas sem o domínio TM (LÓPEZ-CAMACHO *et al.*, 2018).

Além da utilização de um vetor viral, outro diferencial das vacinas que utilizam o ChAdOx1 é a testagem de material genético do ZIKV juntamente com o do vírus da Chikungunya (CHIKV), sendo administrados juntos e separados, e com dosagens variadas. Em ensaios pré-clínicos utilizando outro vetor viral, foi mostrado que essa pode ser uma estratégia promissora, uma vez que conseguiu induzir proteção imunológica segura para ZIKV e CHIKV ao mesmo tempo em camundongos (PROW *et al.*, 2018). Vale ressaltar que ambas as enfermidades são causadas por vírus de RNA transmitidos sobretudo pelo mosquito *Aedes aegypti* e endêmicas das regiões tropicais do planeta.

Outrossim, dois estudos de vacinas de DNA em fase de testes em humanos utilizam a droga GLS-5700. Essa contém o plasmídeo pGX7201, o qual advém de um conjunto de sequências de cepas de ZIKV infecciosas humanas e, assim como os demais plasmídeos citados anteriormente, também codifica as proteínas prM e E (MUTHUMANI *et al.*, 2016; TEBAS *et al.*, 2017). A diferença fundamental entre esses estudos que testam a GLS-5700 é que em um deles (NCT02887482) são testados voluntários que já foram infectados por vírus da Dengue (DENV), e no outro, voluntários que por esse vírus nunca foram infectados (NCT02809443). Isso é importante para estudar se essa vacina contra ZIKV interfere na memória imunológica contra a DENV, uma vez que, conforme Vogt *et al.* (2011), há evidências de que infecção prévia por flavivírus pode influenciar na imunização de outras flaviviruses. E a Dengue, assim como a Zika, também é causada por um flavivírus.

Os dois ensaios de vacina de RNA testam, cada um, diferentes mRNAs – o mRNA-1325 (NCT03014089), da cepa da Micronésia de 2007, e o mRNA-1893 (NCT04064905), da cepa do Rio de Janeiro de 2016. A respeito desses ensaios, nenhum apresentou resultados, sendo que o primeiro já encerrou a fase de recrutamento dos voluntários e não atualizou seus registros na base CT desde 2019; já o segundo, mais recente, embora tenha atualizado seus dados em março de 2021, ainda não apresentou previsão para recrutar.

Nesse viés, em testes pré-clínicos, foi constatado que mRNA modificado com nucleosídeo encapsulado em nanopartículas de lipídeo (mRNA-LNP), que codificam proteínas prM e E da cepa ZIKV H/PF/2013, desencadeou respostas de anticorpos neutralizantes potentes e duráveis em camundongos e primatas não humanos (PARDI *et al.*, 2017). Não obstante, outros testes pré-clínicos publicados mais recentemente evidenciaram que, apesar da promissora proteção contra ZIKV, o uso de mRNA-LNP reduziu a taxa de anticorpos anti-DENV em camundongos previamente infectados com DENV (RICHNER *et al.*, 2018). Logo, considerando essas informações, o método de imunização ativa contra a Zika por mRNA-LNP pode oferecer grandes riscos, uma vez que talvez possa diminuir também em humanos a imunidade contra a Dengue, doença muito difundida e ainda mais nociva, e ambas as viroses são essencialmente vetorizadas pelo mesmo mosquito, o *Aedes aegypti*. Sobre isso, em humanos, Katzelnick *et al.* (2020) concluíram ainda, por análise epidemiológica, que a infecção prévia por Zika pode aumentar o risco de contração de Dengue nas variantes DENV1 e DENV3, bem como suas formas mais graves da doença. Por outro lado, outras publicações, de estudos também epidemiológicos, apontam que infecção prévia por Zika pode oferecer proteção contra a Dengue, tanto para diminuir os riscos de infecção quanto para evitar sintomas mais graves (RIBEIRO *et al.*, 2018), e vice-versa (RODRIGUEZ-BARRAQUER *et al.*, 2019). Sendo assim, são necessários estudos clínicos para entender mais profundamente o motivo dessa interferência cruzada na imunização contra infecções desses flavivírus e o que determina se ela será positiva ou negativa.

Junto a isso, outro ponto negativo das vacinas de RNA é o custo de conservação dessas doses, que exige ultra freezers com capacidade de resfriamento de cerca de -70°C e são equipamentos de custo bastante elevado. Somado a isso, a Zika é uma forte candidata a entrar para a lista das DTNs da OMS, porque é endêmica das regiões tropicais e dos países menos desenvolvidos, fato o qual também tende a afastar investimentos privados. Por outro lado, como citado anteriormente, as vacinas de RNA possuem fortes indícios para serem consideradas as mais indicadas em casos de epidemias, uma vez que são de produção mais fácil e rápida e de menor custo em relação às demais estratégias imunizantes (ZHANG *et al.*, 2019).

Em relação à logística de produção vacinal, é importante investigar se os esforços imensos para o desenvolvimento de métodos de imunização ativa contra a doença do coronavírus de 2019 (COVID-19)

puderam dar surgimento a novas técnicas e tecnologias para pesquisa e fabricação de vacinas, se são de menor custo, se possui um desempenho melhor que as atuais, entre outros pontos a se considerar. Isso pode ter ocorrido porque, desde a sua descoberta, houve grandes esforços por parte da sociedade para desenvolver vacinas contra essa patologia, que é pandêmica (QUINTELLA *et al.*, 2020). Todavia, talvez a produção industrial de doses vacinais contra a COVID-19 tenha também afetado negativamente a fabricação e os investimentos no desenvolvimento de outras vacinas, principalmente as tropicais e endêmicas de países pobres.

5 CONCLUSÃO

A partir da presente pesquisa, foi possível entender a importância do combate à Zika, os tipos de vacina em desenvolvimento e mapear seus testes clínicos através da base de dados CT com foco nas vacinas gênicas. Nesse cenário, foi possível perceber que esses ensaios começaram em 2016, quando a doença e suas consequências foram declaradas Emergência de Saúde Pública e Preocupação Internacional pela OMS, e, apesar da tendência decrescente de surgimento de novos testes clínicos, eles não estagnaram e duram em média dois anos e meio, se considerados desde a data de registro na base CT até a última atualização. Além disso, embora seja uma doença tropical endêmica de países subdesenvolvidos, foi observada uma hegemonia dos Estados Unidos como local de testagem, uma vez que também dominam a maior parte desses ensaios.

Nesse sentido, todos os testes se baseiam no método duplo-cego e a maioria desses diz respeito a vacinas não replicativas, sendo que uma grande fração utiliza o princípio do vírus inativado, com um total de sete NCTs, outras sete são de DNA, dois de RNA e apenas um NCT aborda vacina de parte viral, mais especificamente MV-ZIKA-RSP. Há também dois NCTs que avaliam a atuação de vírus vivo replicativo atenuado.

Somado a isso, foi possível perceber que todas as vacinas gênicas analisadas utilizam proteínas prM e E, variando somente as cepas, dosagem e metodologias de avaliação. E os NCT04015648 e NCT04440774 destacam-se dos demais tanto pela utilização do vetor viral ChAdOx1, quanto por avaliar a possibilidade ou não de imunização contra CHIKV e ZIKV simultaneamente.

Já os NCT02809443 e NCT02887482 testam o plasmídeo de DNA pGX7201 em voluntários com e sem histórico de infecção por Dengue e isso é muito importante, uma vez que há pesquisas epidemiológicas conflitantes sobre as influências entre as imunizações contra ZIKV e DENV. Sob esse prisma, enquanto umas publicações, incluindo testes pré-clínicos de mRNA, comprovam que a imunização contra a Zika pode diminuir a proteção contra a Dengue e gerar quadros mais severos, há outras que apontam a infecção prévia por Zika como possível fator de proteção contra Dengue e vice-versa, sendo necessários, então, estudos mais aprofundados para compreender melhor essas dinâmicas de imunização cruzada.

Todos os ensaios clínicos de vacina contra ZIKV estão ou já concluíram a Fase 1, com exceção de uma, correspondente ao registro NCT03110770, a qual já concluiu a Fase 2 em 2020, e teve sua Fase 1 associada ao NCT02996461. Sua dose, administrada por dispositivo de injeção sem agulha, é composta pelo plasmídeo de DNA circular fechado VRC5283, que foi capaz de produzir memória imunológica de maneira segura e tolerável, o que significa um importantíssimo passo no combate à Zika.

Ademais, é importante verificar a influência das pesquisas e fabricação de vacinas contra a COVID-19 no desenvolvimento de uma vacina contra a Zika, entre outras doenças, sobretudo as DTNs e candidatas.

AGRADECIMENTOS



REFERÊNCIAS

- BLOHM, J. A. *et al.* Evidence for mother-to-child transmission of Zika virus through breast milk. **Clinical Infectious Diseases**, v. 66, pp. 1120-1121, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/cid/cix968>. Acesso em: 22 fev. 2021.
- BODIMEADE, C. *et al.* Doenças tropicais negligenciadas: eliminação e erradicação. **Clinical Medicine**, v. 19. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.19-2-157>. Acesso em: 22 fev. 2021.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Saúde Brasil 2015/2016**: Uma análise da situação de saúde e da epidemia pelo vírus Zika e por outras doenças transmitidas pelo *Aedes aegypti*. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.
- CANAL, C. W.; VAZ, C. S. L. Vacinas Víricas. In: FLORES, E. F. *et al.* **Virologia veterinária**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2007. Cap. 12, p. 329-358. Disponível em: <https://setordevirologiaufsm.files.wordpress.com/2012/10/livro-virologia-cap3adtulo-12.pdf>. Acesso em: 01 fev. 2021.
- CHIN, W. *et al.* Um candidato a vacina quimérica viva atenuada de dose única contra o vírus Zika. **NPJ Vaccines**, v. 6. 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7846741/>. Acesso em: 01 mar. 2021.
- CLINICALTRIALS.GOV [Base de dados – Internet], 2021. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov>. Acesso em: 15 mar. 2021.
- DICK, G. W. *et al.* Zika Virus (I). Isolations and serological specificity. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. Volume 46, Issue 5, September 1952, Pages 509-520. Acesso em: 15 fev. 2021. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(52\)90042-4](https://doi.org/10.1016/0035-9203(52)90042-4). Acesso em: 05 mar. 2021.
- ENGELS, D; ZHOU, X. Doenças tropicais negligenciadas: uma resposta global eficaz às prioridades locais de doenças relacionadas à pobreza. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 9. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6986060/>. Acesso em: 05 mar. 2021.
- FAUREZ, F. *et al.* Biosafety of DNA vaccines: New generation of DNA vectors and current knowledge on the fate of plasmids after injection. **Vaccine**, v. 28, 25 mai. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.03.040>. Acesso em: 20 mar. 2021.
- FAY, E. J.; LANGLOIS, R. A. MicroRNA-Attenuated Virus Vaccines. **Non-coding RNA**, v. 4, n. 16, oct. 2. 2018. <https://www.mdpi.com/2311-553X/4/4/25>. Acesso em: 05 mar. 2021.
- FIGUEIREDO, C. P. *et al.* Zika vírus replicates in adult human brain tissue and impairs synapses and memory in mice. **Nature**, v. 10, n. 3890, London, 05 set. 2019. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41467-019-11866-7>. Acesso em: 08 fev. 2021.
- FREITAS, D. A. *et al.* Síndrome congênita do zika: uma revisão sistemática. **PLoS One**, v. 15. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242367>. Acesso em: 05 mar. 2021.
- GAUDINSKI, M. R. *et al.* Safety, tolerability, and immunogenicity of two Zika virus DNA vaccine candidates in healthy adults: randomised, open-label, phase 1 clinical trials. **The Lancet**, ed. 391, n. 10130, p. 552-562, 10 fev. 2018. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)33105-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)33105-7). Acesso em: 05 mar. 2021
- GOIS, A. W. V. Mapeamento das tecnologias de vacinas de RNA contra o Zika vírus por meio de pesquisa patentária. In: Congresso Virtual UFBA 2021, **TV UFBA**, Salvador, 22 fev. 2021. Disponível em: https://www.youtube.com/watch?v=8n7L6kw4_98. Acesso em: 28 fev. 2021.
- KASPRZYKOWSKI, J. I. *et al.* A recursive sub-typing screening surveillance system detects the appearance of the ZIKV African lineage in Brazil: is there a risk of a new epidemic? **International Journal of Infectious Diseases**, v. 96, p. 259-581, 01 jul. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.05.090>. Acesso em: 20 fev. 2021.
- KATZELNICK, L. C. *et al.* Zika virus infection enhances future risk of severe dengue disease. **Science**, v. 369, p. 1123-1128. 28 ago. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.abb6143>. Acesso em: 08 mar. 2021.
- LAROCCA, A. R. *et al.* Vaccine protection against Zika virus from Brazil. **Nature**, v. 536, p. 474-478, 28 jun. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature18952>. Acesso em: 10 fev. 2021.
- LI, S. L. *et al.* Uma revisão dos modelos aplicados à disseminação geográfica do vírus Zika. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/trstmh/traab009>. Acesso em: 29 jan. 2021.
- LIU, J. *et al.* Papel das reversões mutacionais e restauração da aptidão no vírus Zika disseminado nas Américas. **Nature**, v. 12. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20747-3>. Acesso em: 29 jan. 2021.

- LÓPEZ-CAMACHO, C. *et al.* Rational Zika vaccine design via the modulation of antigen membrane anchors in chimpanzee adenoviral vectors. **Nature**, 22 jun. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04859-5>. Acesso em: 12 mar. 2021.
- MUSSO, D. *et al.* Zika Virus Infection - After ther Pandemic. **The New England Journal of Medicine**, v. 15, n. 381, Waltham, 10 out. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJMra1808246>. Acesso em: 09 jan. 2021.
- MUTHUMANI, K. *et al.* In vivo protection against ZIKV infection and pathogenesis through passive antibody transfer and active immunisation with a prMEnv DNA vaccine. **Nature**, n. 16021, 10 nov. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/npjvaccines.2016.21>. Acesso em: 15 jan. 2021.
- PARDI, N. *et al.* Zika virus protection by a single low-dose nucleoside-modified mRNA vaccination. **Nature**, 02 fev. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature21428>. Acesso em: 10 mar. 2021.
- PIELNAA, P. *et al.* Propagação do vírus Zika, epidemiologia, genoma, ciclo de transmissão, manifestação clínica, desafios associados, vacinas e desenvolvimento de drogas antivirais. **Virology**, v. 543, abr. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2020.01.015>. Acesso em: 10 mar. 2021.
- PROW, N. A. *et al.* A vaccinia-based single vector construct multi-pathogen vaccine protects against both Zika and chikungunya viruses. **Nature**, v. 9, n. 1230, 26 mar. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03662-6>. Acesso em: 10 mar. 2021.
- QUINTELLA, M. C. *et al.* Vacinas para Coronavírus (COVID-19; SARSCOV-2): mapeamento preliminar de artigos, patentes, testes clínicos e mercado. **Cadernos de Prospecção**, v. 13, n.1, 2020. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.9771/cp.v13i1.35871>. Acesso em: 10 mar. 2021.
- RIBEIRO, G. S. Does immunity after Zika virus infection cross-protect against dengue? **The Lancet**, v. 6. 01 fev. 2018. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(17\)30496-5](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(17)30496-5). Acesso em: 13 mar. 2021.
- RICHNER, J. M. *et al.* Modified mRNA vaccines protect against Zika virus infection. **Cell**, v. 168, 09 mar. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.02.017>. Acesso em: 13 mar. 2021.
- RODRIGUEZ-BARRAQUER, I. *et al.* Impact of preexisting dengue immunity on Zika virus emergence in a dengue endemic region. **Science**, 8 fev. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.aav6618>. Acesso em: 13 mar. 2021.
- SILVA, J. V. *et al.* Doenças tropicais negligenciadas e doenças infecciosas: potenciais peptídeos direcionados empregados como compostos de sucesso no design de medicamentos. **Journal of Drug Targeting**, v. 29, p. 269-283. 2021. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1061186X.2020.1837843>. Acesso em: 01 mar. 2021.
- TEBAS, P. *et al.* Safety and Immunogenicity of an Anti-Zika Virus DNA Vaccine - Preliminary Report. **New England Journal of Medicine**, 4 out. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1708120>. Acesso em: 10 mar. 2021.
- VOGT, M. R. *et al.* Poorly neutralizing cross-reactive antibodies against the fusion loop of West Nile virus envelope protein protect in vivo via Fcγ receptor and complement-dependent effector mechanisms. **Journal of Virology**, v. 85, n. 22, nov. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JVI.05859-11>. Acesso em: 10 mar. 2021.
- WHO/Department of control of neglected tropical diseases. **Integrating neglected tropical diseases in global health and development**: Fourth WHO report on neglected tropical diseases. World Health Organization, 267 p., 19 abr. 2017.
- ZHANG, C. *et al.* Advances in mRNA Vaccines for Infectious Diseases. **Frontiers Immunology**, v. 10, n. 594, 27 mar. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00594>. Acesso em: 10 fev. 2021.