



CENTRO UNIVERSITÁRIO FG - UNIFG
BACHARELADO EM FARMÁCIA

MAAYRA MAYYAN PORTO NUNES SANTOS

**A UTILIZAÇÃO DO *ZEBRAFISH* COMO MODELO ANIMAL *IN VIVO* NO
ESTUDO DO CORONAVÍRUS: UMA REVISÃO DE LITERATURA**

GUANAMBI-BA

2022.2

MAAYRA MAYYAN PORTO NUNES SANTOS

**A UTILIZAÇÃO DO ZEBRAFISH COMO MODELO ANIMAL *IN VIVO* NO
ESTUDO DO CORONAVÍRUS: UMA REVISÃO DE LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Centro Universitário FG, como requisito
para conclusão do curso de Bacharelado em
Farmácia.

Orientador Prof. Dr. Eldevan dos Santos Silva.

GUANAMBI-BA

2022.2

A UTILIZAÇÃO DO ZEBRAFISH COMO MODELO ANIMAL *IN VIVO* NO ESTUDO DO CORONAVÍRUS: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Maayra Mayyan Porto Nunes Santos¹, Eldevan dos Santos Silva²

¹ Graduanda do curso de Farmácia do Centro Universitário FG – UniFG

² Docente do curso de Farmácia do Centro Universitário FG – UniFG

RESUMO: O Zebrafish (*Danio rerio*) é uma espécie de peixe, comumente conhecida como “paulistinha”, no Brasil, sendo um modelo animal utilizado em diversas atividades ligadas ao aquarismo. A utilização dessa espécie tem revolucionado a pesquisa científica brasileira, por conta da facilidade em reprodução em cativeiro, baixo custo para a pesquisa e alta produtividade de anticorpos, tornando este um excelente modelo para estudos de doenças degenerativas e como modelo de sucesso para o estudo da Covid-19, foco deste estudo. O presente trabalho teve por objetivo, explicar em linhas gerais, a importância do Zebrafish (ZF) na pesquisa da Covid-19, sobretudo, no estudo dos mecanismos de vacina e as reações no organismo humano. Para tanto, utilizou-se da metodologia baseada em revisão de literatura, utilizando como base de dados as plataformas LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde), MEDLINE (*Medical Literature Analysis and Retrieval System Online*), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e o Google Acadêmico. Os resultados e discussão trazem em linhas gerais, aspectos sobre a Covid-19, percorrendo sobre o histórico da doença, além do estudo do *zebrafish* como modelo animal e as perspectivas de seu uso no desenvolvimento de pesquisas. Em razão do exposto, espera-se ao final deste trabalho, concluir que o ZF é referência na pesquisa, além do que esse modelo experimental poderá alavancar no desenvolvimento de anticorpos, como mecanismos para recebimento das vacinas. Por fim, é essencial destacar a necessidade do desenvolvimento de novas pesquisas acerca do modelo experimental, para com a doença pandêmica que, ainda, carece de novos estudos.

PALAVRAS-CHAVE: Ciência; Experimento animal; Modelo; *Zebrafish*.

ABSTRACT: Zebrafish (*Danio rerio*) is a species of fish, commonly known as "paulistinha", in Brazil, being an animal model used in various activities related to aquarist. The use of this species has revolutionized Brazilian scientific research, because of the ease in captive reproduction, low cost for research and high productivity of antibodies, making this an excellent model for studies of degenerative diseases and as a successful model for the study of

Covid-19, focus of this study. The present study aimed to explain in general terms the importance of Zebrafish (ZF) in the Covid-19 research, especially in the study of vaccine mechanisms and reactions in the human organism. For this purpose, we used the methodology based on literature review, using as database the lilacs (Latin American and Caribbean Literature in Health Sciences), MEDLINE (Medical Literature Analysis and Retrieval System Online), Virtual Health Library (VHL) and Google Scholar platforms. The results and discussion generally bring aspects about Covid-19, discussing the history of the disease, in addition to the study of zebrafish as an animal model and the perspectives of its use in the development of research. Due to the above, it is expected at the end of this study to conclude that the ZF is a reference in the research, in addition to what this experimental model can leverage in the development of antibodies, as mechanisms for receiving vaccines. Finally, it is essential to highlight the need for further research on the experimental model, for pandemic disease, which still lacks further studies.

KEYWORDS: Science; Animal experiment; Model; Zebrafish.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Linha do tempo de aparecimento de diversas espécies do coronavírus.....	06
Figura 2 – Estágios da embriogênese do <i>zebrafish</i>	07
Figura 3 – Estrutura do vírus da Covid-19.....	08
Figura 4 – Zebrafish adultos	14

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

***ACE2** – Enzima conversora da angiotensina 2*

***DA** – Doença de Alzheimer*

***DNA** – Ácido Desoxirribonucleico*

***E** – Proteína do envelope*

***ECA** – Enzima Conversora de Angiotensina*

***MERS-CoV** – Síndrome respiratória do Oriente Médio (Middle East Respiratory Syndrome, MERS)*

***N** - Nucleocapsídeo*

***ORF** – Open Reading Frame*

***OMS** – Organização Mundial da Saúde*

***pH** – Potencial Hidrogeniônico*

***RNA** – Ácido Ribonucleico*

***RdRP** – Replicase de RNA*

***SARS-COV-2** – Coronavírus*

***S** – Spike*

***TEA**- Transtorno do Espectro Autista*

***TDAH** – Transtorno do Déficit de Atenção com Hiperatividade*

***TMPRSS2** – Protease Transmembranar, a serina 2*

***ZF** – Zebrafish*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	5
2 METODOLOGIA	8
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	8
3.1 ASPECTOS GERAIS SOBRE O COVID-19.....	8
3.2 ZEBRAFISH COMO MODELO ANIMAL	13
3.3 ZEBRAFISH NO DESENVOLVIMENTO DE NOVOS ESTUDOS	15
4 CONCLUSÃO.....	16
REFERÊNCIAS.....	16

1 INTRODUÇÃO

Em dezembro de 2019, teve início a ocorrência dos primeiros casos do novo coronavírus na China, denominado de SARS-CoV 2, na qual se tornou uma ameaça à saúde global, caracterizada como uma doença respiratória, sendo desafiador aos sistemas de saúde mundial e denominada de COVID-19, que significa “Doença do coronavírus 2019” (ANTHONY et al., 2020).

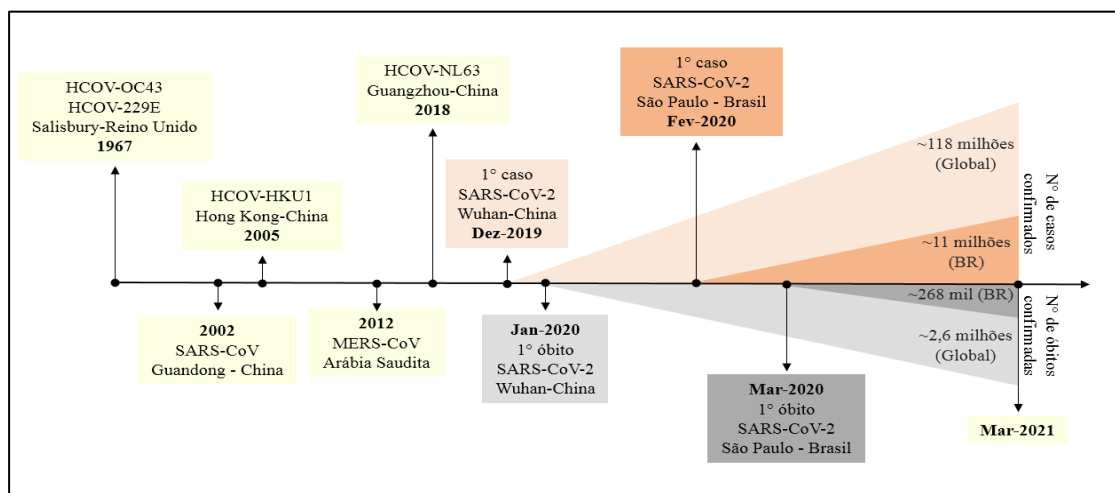
Inicialmente, a pandemia originou-se na China, em Wuhan, numa província chamada Hubei, onde rapidamente acometeu toda a china, levando as altas chances de se tornar um quadro de pandemia, que posteriormente foi anunciada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (ZHENG et al., 2020).

O coronavírus (COV) é um organismo pertencente à família *Coronaviridae*, composta ainda por mais 14 tipos de vírus causadores de doenças que vão desde resfriados simples até quadros mais graves como síndrome respiratória aguda grave (SARS-COV). Trata-se de uma família viral presente em humanas e distintas espécies de animais, como gado, gatos, camelos e morcegos (WIT et al., 2016).

Ao que se refere à fisiopatogenia do coronavírus, a entrada desses nas células hospedeiras ocorre mediante auxílio da glicoproteína do pico transmembrana, onde formam homodímeros projetados na superfície viral. Nesse pico, a proteína S é caracterizada como duas subunidades funcionais que atuam na ligação ao receptor celular da célula hospedeira, propiciando a fusão da membrana viral e celular (WALLS et al., 2020).

A figura abaixo apresenta uma Linha do tempo com o aparecimento de diferentes espécies de coronavírus. O primeiro caso de coronavírus ocorreu no Reino Unido por volta da década de 1967. Nos anos subsequentes registrou-se o surgimento de novas cepas, incluindo as três variantes mais patogênicas: SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2 (o novo coronavírus). Após o primeiro caso confirmado de SARS-CoV-2, milhões de mortes já foram registradas no Brasil (em cinza escuro) e no mundo (cinza claro) (CRUZ et al., 2021).

Figura 1. Linha do tempo de aparecimento de diversas espécies do coronavírus.



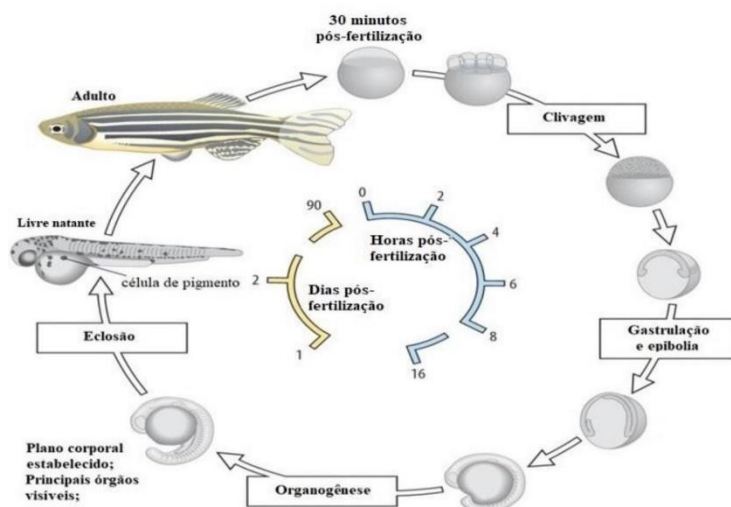
Fonte: CRUZ et al., 2021.

O *zebrafish* (ZF) é um pequeno peixe teleósteo de água doce originário do sul da Ásia que exibe grande adaptabilidade para a criação em cativeiro (SILVEIRA et al., 2012). No Brasil, é comumente utilizado em atividades de aquarismo, tendo como nome comum “paulistinha” ou peixe-zebra. O indivíduo adulto mede de 3 a 4 cm, exibe dimorfismo sexual marcante, expectativa de vida entre 2 e 4 anos e alta produção de ovos por fêmea aproximadamente 200 ovos/postura (RESENDE, 2015).

É importante destacar que a fecundação se dá externamente e o embrião se desenvolve de forma rápida em um ovo translúcido. Tais características foram de grande importância para a popularização inicial do ZF como modelo para estudos científicos, em especial estudos sobre genética, toxicologia e biologia do desenvolvimento (PORTUGUÊS et al., 2022).

A embriogênese do *zebrafish* já é bem descrita e definida em sete estágios: a fase de zigoto, clivagem, blástula, gástrula, segmentação, faríngula (fase filotípica em que o tubo neural já está formado com as vesículas cefálicas e as respectivas estruturas sensoriais, a musculatura segmentar e as extremidades, tais como nadadeiras, o coração está na região ventral do corpo, e os arcos branqueais na região bucal) e eclosão da larva, sendo estas fases compreendidas entre as primeiras 72 horas pós-fertilização (hpf) (WYATT; BARTOSZEK; YAKSI, 2015), conforme descrito na Figura 2.

Figura 2- Estágios da embriogênese do *zebrafish*



Fonte: SCHIMITH, 2018

Outra peculiaridade da espécie é que esta absorve facilmente os compostos químicos presentes na água, que se difundem através da pele, bem como através das brânquias, o que possibilita os estudos principalmente sobre o sistema nervoso central. Além disso, dentre as possibilidades de pesquisa, destacam-se as que envolvem a formação de circuitos neuronais e formação dos padrões de comportamento, bem como seus distúrbios para permitir a realização dos estudos toxicológicos (PORTUGUÊS et al., 2022; CHU; BAMBINO, 2017).

Em síntese, corroborando com o exposto acima, tem-se que o peixe-zebra, tem surgido como modelo eficiente para a caracterização das propriedades toxicológicas de novos compostos, isto porque, ele possui uma alta taxa reprodutiva e tamanho pequeno, mede cerca de 3 a 4 centímetros na fase adulta, além disso destaca-se a facilidade de manejo e manutenção da espécie, é transparente e possui baixo custo para as pesquisas científicas (SCHIMITH, 2018).

O presente trabalho teve por objetivo, explicar em linhas gerais, a importância do *Zebrafish* (ZF) na pesquisa da Covid-19, sobretudo, no estudo dos mecanismos de vacina e as reações no organismo humano.

Justifica-se ao apresentar o *zebrafish* como uma espécie amplamente utilizada em pesquisas desde a década de 70, no qual pesquisadores começaram a fazer uso do mesmo na neurociência, se estudando a resposta ao susto e as células de Mauthner, a qual atualmente o peixe-zebra vem sendo usado como modelo na biologia dos vertebrados porque suas características são simples de estudar em comparação à outros organismos vertebrados, a

espécie tem sido usada no estudo de perturbações reprodutivas, teratológicas e de desenvolvimento, e de características ambientais, genéticas e comportamentais.

Por fim, a análise dessa temática se faz importante, por destacar que essa espécie possui fecundidade elevada, reprodução fácil e de baixo custo, o ZF vem auxiliando pesquisas laboratoriais, por permitir manipulação e visualização *in vivo* e não somente *in vitro*, e dessa forma é relevante o estudo dessa questão para efetivar uma melhor compreensão da temática.

2 METODOLOGIA

O presente artigo trata-se de uma revisão narrativa da literatura, e a pesquisa foi desenvolvida através das palavras-chaves “*Zebrafish*”, “*Coronavírus*” e “*Modelo Experimental*”. Para otimizar a produção científica foram utilizados critérios de inclusão e exclusão de arquivos baseados nas seguintes premissas: Ano de publicação, tipo de estudo, disponibilidade do arquivo e resultados apresentados.

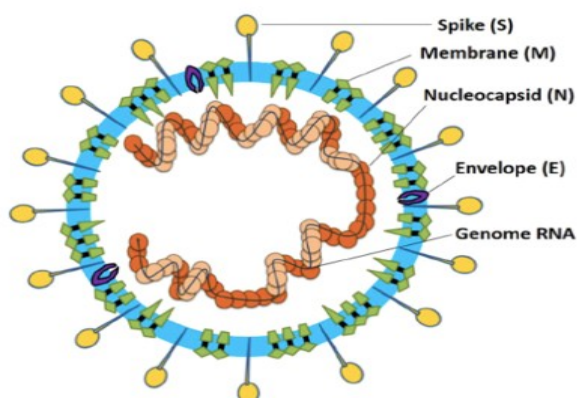
Foram incluídos os artigos publicados nos últimos cinco anos, sendo estes de 2017-2022, que abordaram no tema ou resumo ao menos duas palavras chaves e que estavam disponíveis na íntegra para leitura. Foram excluídos os arquivos que não apresentavam resultados contundentes a temática, arquivos com ano de publicação anterior ao estabelecido, bem como arquivados duplicados que fugiam ao tema proposto.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ASPECTOS GERAIS SOBRE O COVID-19

O Coronavírus (SARS-CoV-2) é conhecido mundialmente como o vírus causador da doença COVID-19, e foi nomeado em decorrência da semelhança com uma coroa, rodeada de uma fita de RNA e um nucleocapsídeo helicoidal, conforme descrito na Figura 3.

Figura 3- Estrutura do vírus COVID-19



Fonte: LI et al. (2020)

A doença pode ser cenário de sintomas variados, afetando em muitos dos casos as vias respiratórias, desde os mais leves até os mais graves e agudos sintomas, que acometem principalmente idosos que já possuem comorbidades como problemas cardiovasculares e imunocomprometidos, por exemplo (BRASIL, 2020). Além disso, sua transmissão pode ocorrer tanto pelo contato físico, quanto através do ar contaminado, onde todas as pessoas estão susceptíveis a se contaminar, mesmo que de maneira assintomática (FIOCRUZ, 2020).

Ao que se refere às suas características, são pertencentes à família *Coronaviridae*, sendo envelopados, vírus de RNA que atingem o sistema respiratório (WANG et al., 2020). Dessa forma, a atividade enzimática replica o material genético viral na célula hospedeira e produz a fita intermediária de RNA, no sentido negativo, onde posteriormente são sintetizadas as fitas positivas. Por fim, as fitas são associadas às proteínas virais que vão originar novas fitas e atuar na replicação do vírus, que ao final ocorre no retículo 7 endoplasmático e complexo de golgi da célula hospedeira que em consequente infectar outras células sadias (CRUZ et al., 2020).

O SARS-COV-2, por sua vez, significa Síndrome Respiratória aguda grave de coronavírus-2, um tipo viral de interesse atual, surgiu em 2019 também em uma província da China, sendo sequenciado e isolado especificamente em 2020 e denominando a doença do COVID-19, que até então vem sendo responsável por milhares de mortes em países de todo o mundo, caracterizando uma pandemia (WALLS et al., 2020).

Segundo Xavier et al (2020) o novo Coronavírus, ordem *Nidovirales*, família *Coronaviridae*, subfamília *Orthocoronavirinae*, foi nomeado síndrome respiratória aguda grave – coronavírus-2 (SARS-CoV-2) pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus [*International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)*], e a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou a COVID-19 (doença de coronavírus) como o nome dessa nova doença, em fevereiro de 2020.

Para elucidar melhor sobre o histórico do vírus, é importante ressaltar que, tanto o SARS-COV, quanto o SARS-COV-2 têm sua origem ligada a morcegos, na qual servem de hospedeiros reservatórios para ambos os vírus (ZHOU et al., 2020). Dado contexto, o vírus penetra a célula humana, na qual os ribossomos celulares traduzem as informações presentes no material genético e produzem proteínas como a RNA viral (WALLS et al., 2020).

Um estudo genético recente, acerca dos coronavírus concluiu que ele é generalizado e comumente causa infecções respiratórias em humanos e animais. No entanto, apenas um pequeno subconjunto de vírus infecta humanos, a saber: Alphacoronavirus 229E e NL63;

Betacoronaviruses OC43 e HKU1; SARS-CoV e MERS-CoV. SARS-CoV-2 é uma variante da família dos coronavírus (BEZERRA et al., 2020).

Até o momento, os genes alvo para detecção de SARS-CoV-2 englobam a codificação de proteínas estruturais como proteína do nucleocapsídeo (N), proteína do envelope (E), glicoproteína de superfície (S) e proteína de membrana (M); a codificação de gene da RNA polimerase dependente de RNA (RdRP) e de gene de poliproteínas ORF (Open Reading Frame) 1 (ORF1a e ORF1b) (LI et al., 2020).

De tal maneira, para compreender a estrutura do vírus SARS-CoV-2, deve-se ater ao fato de que ela é composta de RNA de fita simples com uma polaridade positiva, e sua partícula possui uma coroa solar, e foi essa estrutura que deu origem ao nome Coronavírus. Ademais, o seu material genético é envolvido por um nucleocapsídeo N, e sua estrutura externa engloba proteínas, sendo a proteína *Spike* (S), proteína de membrana (M) e de envelope (E), bem como formado de proteínas acessórias (OLIVEIRA et al., 2021).

Cabe salientar que além das proteínas estruturais, o SARS-CoV-2 também codifica proteínas não estruturais e proteínas acessórias. Logo, foi observado que os dois primeiros terços do genoma viral codificam genes de replicase, que originam duas grandes poliproteínas (pp1a e pp1ab) no qual são processadas em 15 proteínas não estruturais mediante clivagem proteolítica através de proteases codificadas (WU et al., 2020).

Outra observação é que o vírus SARS-CoV-2 também contém em seu genoma uma variação de orfs no qual codificam proteínas acessórias não essenciais para sua replicação ou estrutura, mas que desenvolvem papel na patogênese do hospedeiro natural. Nota-se que, esses genes são misturados aos genes estruturais, sendo eles: 3a, 3b, 6, 7a, 7b, 8, 9b e 10 (CHAN et al., 2020).

É relevante citar que o SARS-CoV-2 pode sofrer mutações durante o processo de replicação, uma vez que estão susceptíveis a erros na polimerase de RNA dependentes. Sendo assim mutações adaptativas tendem a provocar mudanças no potencial patogênico viral, o que dificulta o desenvolvimento de medicamentos ou vacinas mais eficazes e duradouras. São essas mutações que fazem o vírus evoluir geneticamente e gerar múltiplas variantes do mesmo vírus, contudo com características distintas em relação às cepas ancestrais, que foi o que resultou atualmente, gerando até o momento: Beta (linhagem b.1.351), Gama (linhagem p.1), Delta (linhagem b.1.617.2) e Omicron (linhagem b.1.1.529) (DUONG et al., 2021).

Ademais, no tocante ao tempo de sobrevivência do vírus, estima-se que o período de incubação do vírus dura, em média, 5 (cinco) dias. Contudo, este período pode se alongar até o 14º dia. (DEL RIO; MALANI, 2020). Alguns estudos identificaram que 86% das

contaminações são feitas por pessoas assintomáticas, o que aumenta a capacidade de contaminação viral sem que a presença do vírus seja detectada (LI et al., 2020).

No que concerne à forma como o vírus agride o organismo dos seres humanos, há estimativas de que 70% a 80% dos infectados são assintomáticos ou apresentam sintomas mais leves da doença. Lado outro, é estimado que 20% desenvolverão a forma mais grave da doença em cuidados hospitalares e podendo chegar a uma variação que vai de 5% a 10% de cuidados intensivos. Com relação ao período médio, este é de convalescência de 19 dias (de 2 a 5 dias até o aparecimento dos sintomas e 14 dias pós-sintomas até a recuperação), porém, os casos sob cuidados intensivos levam de 3 a 6 semanas (CAMPOS et al., 2020).

Deve-se destacar ainda, que algumas pesquisas demonstram que a viabilidade viral temporal difere em diferentes materiais, como plástico e metal. As partículas virais podem permanecer viáveis por algumas horas a nove dias, e a viabilidade viral depende não apenas do tipo de material, mas também de fatores físico-químicos, como temperatura e pH.

Isto porque o SARS-CoV-2 possui RBD (domínio de ligação ao receptor, do inglês “*receptorbinding domain*”) que utiliza a molécula ACE2 humana como seu receptor de entrada. Infere-se, ainda, uma evolução convergente entre SARS-CoV e SARS-CoV-2 RBDs indicativa de seleção na passagem para humanos, demonstrando indícios da mutação sofrida pelo vírus SARS-CoV-2 e sua alta capacidade de infecção em humanos (LAN et al., 2020). Outros fatores de risco preponderantes ao novo Coronavírus se dão através do contágio de pessoas consideradas grupo de risco.

Ressalta-se, ainda, que sendo as mesmas vulneráveis a desenvolver mais facilmente os quadros mais graves da doença, como a faixa etária avançada, possuir doença respiratória, portador de doença crônica como hipertensão, uso contínuo de substâncias psicoativas como o fumo, pessoas com problemas cardiovasculares e com o sistema imunológico comprometido (FIOCRUZ, 2020).

Assim sendo, é importante destacar que o coronavírus pode apresentar sintomas que se assemelham à gripe, o que em muitas situações pode impossibilitar que o indivíduo perceba o contágio e não se atentar, levando a contaminar outras pessoas. Outros sintomas também prevalentes a pessoas sintomáticas podem ser febre alta, calafrios, dor de cabeça, mal-estar, coriza, tosse, dor de garganta, falta de ar e dificuldade para respirar, sendo os mesmos considerados sinais clínicos (OLIVEIRA et al., 2021).

Pontua-se que, nas crises mais graves da doença, cerca de 10 a 20% dos pacientes necessitam de equipamentos de ventilação mecânica para contribuir com a oxigenação, sendo

ainda mais difícil de tratar de pacientes do grupo de risco, que são os idosos e portadores de doenças, como pneumonia, IRpA hipoxêmica ou hipercápnica, entre outras (BRASIL, 2020).

Quanto ao diagnóstico da doença, pontua-se que ele pode ser baseado em biomarcadores (material genético de microrganismos) associados a vírus relacionados, moléculas produzidas por respostas imunes contra antígenos virais (produção de anticorpos e testes sorológicos), alterações nas concentrações de biomarcadores em resposta ao vírus em órgãos afetados, marcadores de inflamação, marcadores de função renal e hepática, etc (OLIVEIRA, et al., 2021).

Corroborando com as informações acima, o diagnóstico pode ser obtido, ainda, através da coleta de materiais, seja por meio da aspiração de vias aéreas ou coleta através da saliva. As amostras são transferidas para um laboratório de biologia molecular, para a realização dos processos de identificação viral. No entanto, apenas em casos mais graves deve-se comparecer ao pronto socorro, em casos de suspeita é indicado que os pacientes se direcionam a Unidades Básicas de Saúde, ou em casos mais leves o uso de medicamentos indicados para cada caso para minimizar a sintomatologia (BRASIL, 2020).

Diante desta perspectiva medicamentosa, é importante destacar que não há um tratamento específico, ou até mesmo um medicamento comprovado como capaz de prevenir ou curar a doença do Coronavírus. Desta forma, caso houver um diagnóstico positivo, os pacientes devem seguir as indicações já citadas anteriormente, além de medidas que possam aliviar o sintoma, ou seja, o uso de alguns medicamentos, o repouso, hidratação dentre outros (BARRA et al., 2020).

Dado o contexto, uma alternativa eficiente para frear a Covid-19 é o desenvolvimento de vacinas, uma vez que as mesmas irão imunizar e enfraquecer a disseminação viral. Sendo assim, entre 2020 e 2021 foram iniciadas pesquisas e o desenvolvimento de vacinas, no qual ainda em 2021 deu-se início a vacinação em alguns países.

As vacinas fabricadas para Covid-19 estão associadas à proteína contida na membrana do vírus, denominada proteína *Spike* (S), no qual o vírus utiliza essa proteína para infectar a célula, se ligando a enzima conversora de angiotensina 2 (ECA-2), assim a vacina consegue induzir a produção de anticorpos contra a proteína *Spike* (OLIVEIRA et al., 2021). Atualmente já foram desenvolvidas várias vacinas contra a Covid-19, conforme se segue:

A vacina Oxford/ Astrazeneca foi criada pelo Instituto Jenner (Universidade de Oxford) no Reino Unido com apoio da indústria farmacêutica Astrazeneca, no qual utilizou um adenovírus de chimpanzé não replicante com modificação genética para obter a imunidade contra o Covid-19. O adenovírus é associado a um cromossomo artificial no qual gera

mudanças conformacionais como a deleção da região para replicação, que expressa a proteína spike e então origina o antígeno (GOUVEIA et al., 2022).

É relevante ressaltar que, o adenovírus passa a carregar a informação genética que o corpo requer para obtenção da memória imunológica. Dessa forma, a Astrazeneca já vem sendo produzida no Brasil através da parceria com a Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), cuja eficácia alcança mais de 80% (GOUVEIA et al., 2022).

Outra opção de vacina também desenvolvida foi a Pfizer, aprovada inicialmente no Reino Unido, cujo desenvolvimento contou com a parceria da BioNtech, que possui mecanismo de ação que se baseia na produção de células neutralizantes TCD4+, CD8+ e TH-1, onde são os linfócitos T que desencadeiam mecanismo para ligação do vírus ao receptor e contra as demais glicoproteínas S (MOREIRA et al., 2021).

Em seguimento, a Coronavac foi desenvolvida pela empresa chinesa Sinovac e o Instituto Butantã, e seu mecanismo se baseia na inativação viral do SARS-COV-2 que quando aplicada produz uma resposta imunológica no indivíduo. Mediante a parceria estabelecida, essa vacina já é produzida no Brasil com eficácia de mais de 50% (MOREIRA et al., 2021).

3.2 ZEBRAFISH COMO MODELO ANIMAL

A utilização do ZF como organismo modelo ocorreu em 1960 por George Streisinger, ele foi um dos fundadores da genética moderna que buscou um organismo modelo vertebrado geneticamente tratável. Visto que para compreender a genética de um vertebrado era uma meta extremamente ambiciosa, pois naquela época o estudo da genética molecular de invertebrados estava no início dos estágios (WYATT; BARTOSZEK; YAKSI, 2015).

Esta espécie é popularmente conhecida como peixe paulistinha, o Zebrafish como se denota da figura abaixo, além disso, é um peixe de água doce e tem sido importante no estudo de doenças humanas, isto porque, uma de suas vantagens seu baixo custo, em torno de R\$ 0,75 a R\$ 1,00 por animal (SILVEIRA et al., 2012).

Figura 4- Zebrafish adultos



Fonte: Agência FAPESP, 2015

Ressalta-se que, a taxa de manutenção em relação à espécie acima é bem diferente de outras espécies, como por exemplo, para adquirir um exemplar de camundongo é necessário o investimento de aproximadamente R\$ 8,00 (oito reais), por sua vez, um exemplar do ZF, sai em média pelo valor de R\$0,60 (sessenta centavos) (ZORZETTO; GUIMARÃES, 2013).

Além disso, esse peixe possui um porte pequeno, alta taxa reprodutiva de 100 (cem) ovos por dia, fecundação externa com embrião transparente, bem como, tem seu genoma sequenciado e possuir homólogos em mamíferos (SILVEIRA et al., 2012).

Diante do exposto, podemos classificá-los como modelo experimental eficiente também pelo rápido desenvolvimento, por ter repertório de 09 ferramentas desenvolvidas e assim descrever atributos importantes da biologia desta espécie, ressaltando as possibilidades terapêuticas para os ensaios pré-clínicos e triagem de drogas (GERLAI et al., 2019).

Importante frisar que, conforme estudos realizados em 2013, restou demonstrado que o ZF possui 26.206 genes, e então buscaram por mais conhecimento sobre esta espécie como modelo para muitas áreas de genética e biologia, contudo a utilização do ZF para estudos na área de neurociências e neurobiologia do comportamento é algo recente, mas promissor (RESENDE; SOCCOL, 2015). É importante ressaltar, que o modelo animal mais adequado deve replicar o tipo da patologia mais semelhante possível, deve-se ainda observar o histórico genético do animal e a disponibilidade de reagentes imunológicos (ZORZETTO; GUIMARÃES, 2013).

3.3 ZEBRAFISH NO DESENVOLVIMENTO DE NOVOS ESTUDOS

Atualmente o ZF vem sendo utilizado em inúmeras pesquisas, dentre elas a pesquisa comportamental, observando-se, por exemplo, no estudo da ansiedade com o peixe, que quando testado em nado livre não apresenta comportamento ansioso significativo, mas quando submetido a condições experimentais são observados comportamentos anormais característicos da ansiedade, como movimentos erráticos e saltos (FONTANA et al., 2019).

A Covid-19 não apresenta apenas sintomas respiratórios, mas também sintomas neurológicos que podem ser até mais duradouros que os respiratórios. Se tratando da utilização do ZF e o Coronavírus, tem-se buscado elucidar mecanismos ainda não conhecidos da doença, como por exemplo, o quadro de anosmia cujas evidências demonstram uma associação com a neurodegeneração da via olfativa, que apesar dos relatos os mecanismos e possibilidade de efeitos duradouros ainda são pouco investigados (CHEN et al., 2021).

É imprescindível destacar que enquanto perdurava a pandemia da COVID-19, vários pesquisadores investigaram o uso da espécie, como mecanismo de testagem da segurança de vacinas, se mostrando uma alternativa viável por produzir anticorpos após o recebimento da vacina (FIOCRUZ, 2020).

O ZF é uma boa opção de modelo experimental na Covid-19, pois apresenta inúmeras proteínas semelhantes ao ser humano e que são relatadas em muitos estudos como associadas ao desencadeamento da doença, dentre elas a protease catépsina tripsina. Outro ponto essencial é o sistema imunológico do peixe, sendo a imunidade inata presente desde quando há eclosão das larvas e a imunidade adaptativa leva semanas para o seu desenvolvimento completo (COSTA et al., 2021).

Isto porque, além do receptor ACE2, o TMPRSS2, as proteases catépsina L, tripsina e furina foram utilizados para mediar a entrada do vírus nas células. Além disso, as inúmeras proteínas relacionadas ao homem que o peixe-zebra apresenta, também há evidências dessas enzimas envolvidas na infecção por SARS-CoV-2, e dessa forma, elas podem ser utilizadas para projetar experimentos que possam ajudar a entender a mecânica do processo de infecção pelo vírus ou até mesmo estudar potenciais medicamentos, através da utilização dessas enzimas (COSTA et al., 2021).

Numa correlação do sistema imune com a Covid-19, supõe-se que o vírus provoque uma resposta imunológica exacerbada, que consequentemente ocasiona o aumento de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias periféricas que são propensas a promover a falência de órgãos. Sendo assim o ZF e suas diferentes fases evolutivas torna se relevante na análise fisiopatológica da infecção do Coronavírus no sistema olfativo e cardiovascular, pois é de

conhecimento que a resposta imune do ZF a proteína S recombinante é semelhante à observada em humanos com sintomas leves da Covid-19 (KRAUS et al. 2020).

No estudo de Ventura et al. (2022) observou-se a produção de anticorpos no soro e em ovos do ZF como resposta da transferência passiva para a proteção da prole. Mais adiante, peixes que foram submetidos à rSpike desenvolveram resposta inflamatória deletéria com grande semelhança aos casos graves da Covid-19 em humanos, sendo ainda notado reações no sistema nervoso central, sistema renal e hepático do peixe adulto.

Já o estudo, Laghi et al. (2022) demonstrou que as larvas do ZF do tipo selvagem são eficientes quando aplicadas às pesquisas na bexiga natatória, pois neste local observou-se a estabilização do RNA viral após o período de 24h, e foi identificado através da imunohistoquímica células epiteliais com nucleoproteína SARS-CoV-2 na parede da bexiga urinária.

Por fim, além do estudo correlacionado ao sistema imunológico, o ZF pode também ser manipulado geneticamente para alterar a função de proteínas e auxiliar na caracterização da cinética e dinâmica do vírus, com tropismo celular, comportamento fagocitário, ativação espaço temporal de vias antivirais e demais características (COSTA et al. 2021).

4 CONCLUSÃO

Diante do exposto, infere-se que a utilização do ZF, como modelo animal, representa um avanço nas pesquisas, uma verdadeira inovação no campo científico e farmacêutico, tornando-se um aliado no estudo das doenças humanas. Contudo, é relevante citar que essa utilização infere em vantagens e desvantagens como qualquer outro modelo, entretanto há peculiaridades que somente o ZF vem se tornando destaque.

Em relação ao tema específico deste estudo, a Covid-19, o ZF mostrou-se um importante modelo experimental, isto porque, essa espécie apresenta um baixo custo para a indústria, em comparação a outras espécies. Sua alta taxa de reprodução, bem como a produção de anticorpos em níveis altos, fizeram deste peixe, uma importante alternativa à indústria científica brasileira.

Por tudo isso, o ZF é referência na pesquisa, e espera-se muito dessa espécie, a fim de que esse modelo experimental possa alavancar no desenvolvimento de anticorpos, como mecanismos para recebimento das vacinas. Por fim, é essencial destacar a necessidade do desenvolvimento de novas pesquisas acerca do modelo experimental, para com a doença pandêmica que, ainda, carece de novos estudos.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA FAPESP. **Plataforma Zebrafish é inaugurada no Instituto Butantan**. 2015. Disponível em: <https://agencia.fapesp.br/plataforma-zebrafish-e-inaugurada-no-instituto-butantan/22071/>. Acesso em: 12 dez. 2022.
- ANTHONY, S.F. et al. Covid-19- Navigating the Uncharted. **Journal of Medicine**. v. 382. n. 13, p. 1268-1269, 2020.
- BARRA, R. P. et al. A importância da gestão correta da condição crônica na Atenção Primária à Saúde para o enfrentamento do Covid-19 em Uberlândia, Minas Gerais. **Revista da Rede APS**. Minas Gerais, v. 2, n. 1, p. 38-43, 2020.
- BEZERRA, V. L. de. et al. SARS-CoV-2 como agente causador da COVID-19: Epidemiologia, características genéticas, manifestações clínicas, diagnóstico e possíveis tratamentos. **Braz. J. Hea. Rev.**, Curitiba, v. 3, n. 4, p. 8452-8467 jul./ago. 2020.
- BRASIL. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Nota técnica nº 04/2020 GVIMS/GGTES/ANVISA: Orientações para Serviços de Saúde: Medidas de Prevenção e Controle que Devem ser Adotadas Durante a Assistência aos Casos Suspeitos ou Confirmados de Infecção pelo Novo Coronavírus (2019- ncov)**. 2020. Disponível em: <https://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/noticias/176-nota-tecnica-n-04-2020-gvims-ggtes-anvisa-atualizada>.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Coronavírus e novo coronavírus: O que é, causas, sintomas, tratamento e prevenção**. 2020.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico COE nº 02. Infecção Humana pelo Novo Coronavírus (2019- nCoV)**. 2020f.
- CAMPOS, M. R. et al. Carga de doença da COVID-19 e de suas complicações agudas e crônicas: reflexões sobre a mensuração (DALY) e perspectivas no Sistema Único de Saúde. **Cadernos de Saúde Pública**, n. 36, v. 11, 2020.
- CHAN, J. F. et al. Simulação das manifestações clínicas e patológicas da doença de coronavírus 2019 (COVID-19) em um modelo de hamster sírio dourado: implicações para a patogênese e transmissibilidade da doença. **Clin Infect Dis**. V. 71, p. 2139-49, 2020.
- CHAN, J.F. Simulação das manifestações clínicas e patológicas da doença de coronavírus 2019 (COVID-19) em um modelo de hamster sírio dourado: implicações para a patogênese e transmissibilidade da doença. **Clin Infect Dis**. v. 71, 2020.
- CHEN, R. et al. A distribuição espacial e do tipo celular do receptor SARS-CoV-2 ACE2 nos cérebros humanos e de camundongos. **Front Neurol**. v. 11 :573095, 2021.
- COSTA, K.C.M. et al. Zebrafish as a Translational Model: An Experimental Alternative to Study the Mechanisms Involved in Anosmia and Possible Neurodegenerative Aspects of COVID-19? **Journal List**. v. 8, n. 3, 2021.
- CRUZ, A. A. et al. **Considerações Sintomáticas e Medicamentosas a Respeito do novo coronavírus: Uma Revisão da Literatura sobre Farmacologia, efeitos Adversos, Fisiopatogenia e formas de tratamento do COVID-19**. 2020.

CRUZ, K. A. T. de. et al., Principais aspectos do nova Coronavírus SARS-Cov-2: uma ampla revisão. **Arquivos do Mudi**, v. 25, n. 1, p. 73/90, ano 2021.

DUONG, D. Alfa, beta, delta, gama: o que é importante saber sobre as variantes preocupantes do SARS-CoV-2?. **Can Med Assoc J.** V. 193, E1059–60, 2021.

FAILLACE, M. P. et al. Short-and long-term effects of nicotine and the histone deacetylase inhibitor phenylbutyrate on novel object recognition in zebrafish. **Psychopharmacology.** V. 234, n. 6, p. 943- 955, 2017.

FIGUEIREDO, S. A.; PAULA, F. B. de A. Diagnosis of COVID-19 in clinical analysis laboratories. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. e49511125286, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i1.25286. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/25286>. Acesso em: 14 nov. 2022.

FIOCRUZ. **Covid-19: estudo investiga uso do zebrafish para testar segurança de vacinas.** 2020. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/covid-19-estudo-investiga-uso-do-zebrafish-para-testar-seguranca-de-vacinas>. Acesso em agosto de 2022.

FONSEKA et al. Review: Zebrafish Models of Major Depressive Disorders. **Journal of Neuroscience Research.** v. 94 p. 3–14. 2016.

FONTANA, B. D. et al. Zebrafish models for attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). **Neuroscience & Biobehavioral Reviews.** V. 100, p. 9-18, 2019.

FUKUSHIMA H.; BAILONER. L.; BAUMGARTNERI.; BORRAR. C.; CORREAT.; DE AGUIARL. K.; JANKEH.; ROÇAR.; SETTIP. G. Potenciais usos do modelo animal Zebrafish Danio rerio em pesquisas na Medicina Veterinária. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 18, n. 1, 1 jun. 2020.

GERLAI, R. Reproducibility and replicability in zebrafish behavioral neuroscience research. **Pharmacology Biochemistry and Behavior.** v. 178, p. 30-38, 2019.

GOUVEIA, M.P.G. et al. Eventos adversos às vacinas Coronavac e Astrazeneca em uma coorte de trabalhadores da saúde. **Sociedade Brasileira de Infectologia.** V. 26, n. 1, 2022.

KRAUS, A. et al. Um modelo de peixe-zebra para COVID-19 recapitula fisiopatologias olfativas e cardiovasculares causadas por SARS-CoV-2. **bioRxiv**, 2020.

LAGHI, V. et al. Exploring zebrafish larvae as a COVID-19 model: probable abortive SARS-CoV-2 replication in the swim bladder. **Frontiers in cellular and infection microbiology.** V. 12, p. 1-17, 2022.

LAI, C. K. C.; LAM, W. Laboratory testing for the diagnosis of COVID-19. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, n. 538, 2021, págs. 226-230.

LIU Y, YANG Y, ZHANG C, et al. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. **Science China: life sciences.** 2020; v. 63, n. 3, p. 364-74.

MOREIRA, A.M. et al. Mecanismo de ação das vacinas utilizadas para a covid-19 atualmente como uso emergencial no Brasil. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação.** São Paulo, v. 7.n. 11. nov. 2021.

OLIVEIRA, A. M. de, et al. (2021). Mecanismo de ação das vacinas utilizadas para a Covid-19 atualmente como uso emergencial no Brasil. **Revista Ibero-Americana De Humanidades, Ciências e Educação**, v. 7, n. 11, p. 1087–1106.

RUIZ-OLIVEIRA, J. et al. Coffee time: Low caffeine dose promotes attention and focus in zebrafish. **Learning & behavior**. V. 47, n. 3, p. 227-233, 2019.

SCHIMITH, L. E. **Uso do peixe-zebra *Danio rerio* (Hamilton,1822) como modelo alternativo para avaliação da toxicidade de novos compostos com ação antimicrobiana** / Lucia Emanuelli Schimith. São Gabriel, 2018, 41 p.

SCHNEIDER, A. C. R. et al. Implementação de um novo modelo de experimentação animalzebrafish implementation of a new experimental animal model – zebrafish. **Revista HCPA**. v. 29, n. 2, p. 100-103, 2009.

SILVEIRA, T.R.; SCHNEIDER, A.C.; HAMMES, T.O. Zebrafish: modelo consagrado para estudos de doenças humanas. **Ciência e Cultura**, v. 64, n. 2, p. 4-5, 2012.

STEWART, A. M. et al. Zebrafish models for translational neuroscience research: from tank to bedside. **Trends in neurosciences**. v. 37, n. 5, p. 264-278, 2014.

STRABELLI, T. M. V.; UIP, D. E. COVID-19 e o coração. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**. v. 114, n. 4, p. 598-600, 2020.

VENTURA, F. et al. Toxicidade dos fragmentos de pico da proteína SARS-CoV-2 para peixe-zebra: uma ferramenta para estudar sua periculosidade para a saúde humana? **Ambiente Científico Total**. V. 813, 2022.

WU, D. et al. Alterações do subconjunto de linfócitos com gravidade da doença, manifestação de imagem e hospitalização atrasada em pacientes com COVID-19. **Distúrbio de Infecção BMC**. V. 21, p. 631, 20

XAVIER, A. R. et al. COVID-19: manifestações clínicas e laboratoriais na infecção pelo novo coronavírus. **J Bras Patol Med Lab**. n. 56, 2020, p. 1-9.

ZHENG, Y. et al. Covid-19 e o sistema cardiovascular. **Nature Reviews**. V. 17, p. 259-260, 2020.