

Análise da efetividade da terapia oncolítica viral na regressão do câncer de próstata

Aline Otoni Mesquita¹; Daiana Marina Andrade¹; Isadora Borges Magalhães¹; José Mateus dos Santos Neto¹; Ridania Vieira Tavares¹; Rodrigo Scaliante de Moura².

1. Discente do curso de medicina do Centro Universitário de Anápolis - UniEVANGÉLICA.
2. Docente do curso de medicina do Centro Universitário de Anápolis - UniEVANGÉLICA.

RESUMO: A terapia oncolítica viral é uma promissora alternativa no tratamento do câncer, pois os vírus infectam seletivamente células tumorais com a garantia de não causar danos às células de tecidos saudáveis. O câncer de próstata é uma doença clinicamente heterogênea, causada pela proliferação de células malignas que acometem a saúde do homem e podem ser alvo da viroterapia oncolítica. Assim, busca-se descrever os mecanismos de ação dos principais vírus estudados na terapia oncolítica contra o câncer de próstata, demonstrando sua efetividade na regressão tumoral. Com isso, foi realizada uma revisão integrativa da literatura, a partir das bases de dados: Scielo, BVS e MEDLINE (por meio do Portal PubMed) a partir da seleção de 28 artigos originais que mais se adequaram aos critérios de inclusão e exclusão, do período de 2003 a 2019. Os vírus estudados foram o *Adenovirus*, *Herpes simplex virus*, *Vaccinia virus* e o *Vesicular stomatitis virus*, os quais foram altamente eficazes na regressão tumoral em estudos *in vitro*, *in vivo* e *in situ*. Dessa forma, a viroterapia oncolítica foi eficaz contra o câncer de próstata em organismos vivos. No entanto, é necessário situações que mimetizem as condições de vida humana para se analisar melhor as reações, comportamentos celulares e sua viabilidade clínica no câncer de próstata humano.

Palavras-chave:

Câncer de próstata.
Terapia oncolítica.
Vírus oncolíticos.
Saúde do homem.

INTRODUÇÃO

O câncer de próstata (CP) é uma doença clinicamente heterogênea, causada pela proliferação de células malignas que acometem a saúde do homem, causando desde pequenas alterações no sistema urinário masculino às alterações mais graves que podem desencadear o óbito (SHOAG; BARBIERI, 2016). No Brasil, o CP é o segundo tipo de câncer mais frequente entre os homens, estimando-se 68.220 casos em 2018-2019, de acordo com o Instituto Nacional De Câncer José Alencar Gomes Da Silva (INCA). Além disso, conforme Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM) do DATASUS, o número de óbitos por esse tipo de câncer foi de 15.391 em 2017.

Sabe-se que o risco de desenvolver o câncer de próstata é maior em homens com idade acima de 50 anos, podendo estar associado a fatores genéticos hereditários ou mutações adquiridas por exposição a diversos tipos de substâncias, por altos níveis de andrógenos e radiação. (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2019). Segundo a Sociedade Americana do Câncer (2019), 1 em cada 9 homens poderá desenvolver o câncer de próstata ao longo da vida.

Atualmente, o tratamento do câncer de próstata é feito a partir de medidas terapêuticas que incluem: prostatectomia radical, terapia hormonal, quimioterapia e radioterapia, dependendo de cada estágio de desenvolvimento do câncer, além da particularidade de cada paciente acometido. Esses métodos são eficazes na fase inicial da doença, mas o CP pode eventualmente progredir para doença metastática invasiva, resistente a medicamentos e à castração. Dessa forma, observa-se que novas pesquisas sobre o tratamento do câncer de próstata estão sendo desenvolvidas, especialmente relacionadas com a terapia com vírus oncolíticos (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2019).

Os vírus oncolíticos foram desenvolvidos no início do século XX. Observou-se que havia regressão dos tumores em pacientes que apresentavam infecções virais simultâneas: uma alternativa para o tratamento do câncer por infectarem seletivamente células cancerosas (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

O mecanismo da terapia consiste na morte de células cancerígenas durante a replicação viral a partir da inserção de um vírus infeccioso. É importante, no entanto, que o vírus não prejudique o tecido normal circundante. Os vírus oncolíticos podem ser classificados em grande parte em dois grupos: vírus de DNA geneticamente modificados para obter especificidade de câncer (por exemplo, adenovírus, vírus do herpes simplex e vaccinia) e vírus de RNA dos quais o ser humano não é o hospedeiro natural (por exemplo, vírus da estomatite vesicular). A terapia com vírus oncolíticos é um meio atraente de tratar o câncer de próstata. São utilizados vírus competentes para replicação que podem se replicar *in situ* e se espalhar e, ao mesmo tempo, exibir atividade oncolítica por um efeito citotóxico direto (LI; NAKASHIMA; RUSSEL, 2013).

Nesse sentido, essa revisão bibliográfica tem como objetivo descrever os mecanismos de ação dos principais vírus desenvolvidos para a terapia oncolítica e a sua efetividade na regressão tumoral do câncer de próstata.

METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão integrativa da literatura. Esta pesquisa foi realizada utilizando-se as bases de dados Scielo (Scientific Electronic Library Online), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e MEDLINE (Medical Literature Analysis and Retrieval Sistem on-line) por meio do Portal PubMed. Foram aplicados os descritores escolhidos a partir dos termos encontrados no DeCS (Descritores em Ciências da Saúde) da BIREME: “prostate”; “neoplasms”; “cancer”; utilizando booleanos “AND” e/ou “OR”. Foram feitas cinco pesquisas direcionadas, combinando os diferentes descritores para ampliar o campo da pesquisa com intuito de minimizar os possíveis vieses nessa fase de construção da revisão.

Os artigos foram incluídos na avaliação por alguns critérios definidos: artigos publicados nos idiomas inglês ou português, com texto disponível na íntegra, cujos estudos investigaram a eficácia das variadas terapias oncolíticas virais como alternativa ao tratamento do câncer de próstata, tanto em animais de laboratório quanto em humanos.

A seleção inicial dos artigos foi seguida pela aplicação dos critérios de exclusão, garantindo que não houvessem abordagens superficiais da viroterapia oncolítica ou estudos que não relacionaram o CP com a VO; além de estudos que abordaram outros vírus que não o Adenovirus, Herpes simplex virus, Vaccinia virus ou Vesicular stomatitis virus. O período de tempo estabelecido para a pesquisa de estudos foi de 2003 a 2019.

RESULTADOS

VETORES ADENOVIRAIS

Os adenovírus são vírus não envelopados, com genoma de DNA de fita dupla. Esses vetores têm sido cada vez mais recombinados e utilizados para o transporte de genes com o objetivo de suprimir a proliferação de células tumorais, devido à sua baixa patogenicidade (OLIVEIRA et al., 2018).

Os vetores de vírus adeno-associado (AAV) têm tido destaque em estudos por sua baixa patogenicidade e eficiência na transdução de vários tipos celulares. Nesse sentido, foi desenvolvido um capsídeo viral denominado AAV6-S663V+T492V expressando ovalbumina (OVA) que demonstraram uma ampla ativação de células T específicas contra antígenos tumorais com capacidade aumentada de indução de morte celular em tumores murinos de próstata e efetividade em torno de 90% (PANDYA et al., 2015).

Outro modelo de Adenovírus que transporta o gene da decorina humana (Ad.dcn) teve uma ação inibitória sobre a rede angiogênica do tumor suprimindo sua proliferação e proporcionando uma área em torno de 40% livre de metástase. Os adenovírus que expressam o gene MDA-5 (gene 5 associado à diferenciação de melanoma) e o Ad-REIC que carrega um gene relacionado a imortalização de células (REIC/Dkk-3) foram eficientes na eliminação de células cancerígenas ao induzir apoptose seletiva de células tumorais e uma resposta mediada por IFN tipo I aumentada, possuindo sobrevida livre de recidiva bioquímica em 80% dos casos de pacientes com câncer de próstata de alto risco (KUMON et al., 2016; YU et al., 2016). O CRAAd, outra variante do Adenovírus, foi analisado e encontrou-se forte sugestão de atividade significativa contra as células do câncer de próstata, apresentando eficácia de aproximadamente 100% dos camundongos (LI et al., 2016).

Ademais, foi criado o adenovírus 5 oncolítico quimérico carreando uma sequência gênica conhecida como Ad48 cujo objetivo era contornar a captação hepática e assim reduzir os efeitos tóxicos para o fígado após aplicação sistêmica (XU et al., 2014). Por fim, o AdCMVp53 induz a regressão tumoral e aumenta a sobrevida em modelos animais sem efeitos adversos no tecido normal. Porém outro estudo concluiu que vetores do Ad-PGp53 conhecidos como Advexin era mais capazes de induzir a morte celular *in vitro* e *in vivo* do que o AdCMVp53, e a terapia gênica *in situ* resultou em redução do volume do tumor e aumento da sobrevida global apenas como o Ad-PGp53, sendo eficaz em aproximadamente 100% dos camundongos (TAMURA et al., 2016; TAMURA et al., 2018).

Com a administração intramuscular *in vitro* de Adenovírus recombinados em camundongos observou-se uma forte ativação de células T específicas com uma maior capacidade de morte da célula cancerígena. Além disso, houve um atraso na progressão do câncer e aumento do tempo de vida do camundongo. Percebeu-se, também, mecanismo de morte por resposta do IFN tipo I e sinalização sem ligantes (aumento dos níveis de IFN- β , IFN γ , MCP-1 e IL-12) que pode contribuir com a ativação de células efetoras (T CD8 + e NK), uma vez que a IL-12 além de ser um importante fator de crescimento para as células NK, também é uma das responsáveis por estimular sua função. Além disso, o interferon é importante para impedir a disseminação da infecção, porém ele não é específico para os genes virais, causando assim efeitos tóxicos para as células do hospedeiro que estão perto das células infectadas. É importante ressaltar que esse mecanismo também foi eficiente na eliminação de células cancerígenas da próstata de humanos *in situ*. Ademais, constatou-se aumento significativo do fator de necrose tumoral do tipo alfa (TNF- α) que é um mediador da resposta inflamatória aguda causando inflamação e trombose de vasos, e consequentemente necrose tumoral. Além disso, houve aumento de IL-6, outra citocina importante da resposta inflamatória aguda que tem efeitos locais e sistêmicos. (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI., 2015; PANDYA et al., 2015; YU et al., 2016; XU et al., 2014).

Outros modelos de recombinação do Adenovírus mostraram efeitos inibitórios do câncer de próstata por meio da inibição da rede vascular que promove o tumor. Esse modelo foi testado em duas próstatas humanas *in vitro* e apresentou resultados positivos tanto na administração local quanto sistêmica. Também se percebeu a indução de autofagia pelo Adenovírus, o que pode contribuir com a melhoria das respostas antitumorais, haja vista que pode estimular resposta imune mediada por células. Foi constatado também que os efeitos quimioterápicos podem contribuir com a ativação dos vetores virais que por sua vez promoviam respostas como apoptose através de mecanismos como a elevação dos níveis de espécies reativas de oxigênio, dano ao DNA e mudança na permeabilidade da membrana mitocondrial. (KUMON et al., 2016; TAMURA et al., 2016; XU et al., 2015; TAMURA et al., 2018).

A literatura também relata que o uso de células dendríticas (DCs) como transportadoras do Adenovírus teve efeitos significativos sobre o câncer de próstata. Isso é explicado pela ligação do CD40L (molécula presentes na superfície de células T CD4⁺) com a CD40 (presente na superfície das células dendríticas) que ativa as células T que secretam citocinas como o interferon- γ (IFN- γ). Isso proporciona um efeito positivo sobre a estimulação das células imunes levando a maximização da resposta e, por conseguinte um efeito antitumoral mais eficaz. (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI., 2015; LI et al., 2016).

Estudou-se também um modelo que utilizou um agonista do receptor do tipo Toll 5 (TLR5) em que se estabeleceu uma via de comunicação com o TLR5 resultando na ativação do fator nuclear kB (NF-Kb) *in vitro* e *in vivo*. Como o NF-KB é um importante estimulador de moléculas que participam da resposta inflamatória como citocinas (ex. TNF e IL-1), quimiocinas e moléculas de adesão endotelial sua ativação resultou em mobilização de células da imunidade inata incluindo neutrófilos e células NK, e assim suprimiu progressão tumoral. (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI., 2015; METT et al., 2018).

É importante ressaltar que grande parte dos adenovírus estudados apresentavam, em sua versão tradicional, nenhum efeito, baixa eficácia ou efeitos tóxicos e que por isso

VIRUS DA ESTOMATITE VESICULAR (VSV)

O vírus da estomatite vesicular é membro da família Rhabdoviridae, do gênero vesiculovirus, é um pequeno vírus de RNA de fita simples de sentido negativo, envelopado (ZHAO et al., 2014), causador de uma zoonose, a Estomatite Vesicular, que pode ser transmitida para os seres humanos em casos raros considerada uma doença subclínica (SPICKLER, 2016). Quando em contato com animais infectados, indivíduos podem ser adquirir a doença e apresentar sintomas semelhantes aos da gripe aguda (influenza) incluindo a febre, mialgia, malestar, cefaleia e até conjuntivite (KNIGHT; MESSER, 1983). No entanto, um caso de encefalite foi relatado em uma criança de 3 anos (QUIROZ et al., 1988).

Esse vírus é um vírus altamente citolítico que induz a morte de células cancerígenas por meio da ativação da via apoptótica em diversos tipos de tumores, uma vez que existe um tropismo para as

células malignas em comparação as células normais do organismo, pois têm uma resposta IFN defeituosa que favorece a infecção. Além disso, a proteína M, presente na superfície do vírus leva à apoptose precoce de uma célula (STOJDL et al., 2003; BAERBER, 2004; MOUSSAVI et al., 2011; HASTIE, GRDZELISHVIL, 2012).

A variante VSV-GP do vírus da estomatite vesicular (VSV) que transporta a proteína do envelope (GP) do vírus da coriomeningite linfocítica, possui características específicas favoráveis à terapia oncolítica viral: baixa resposta imune pré-existente, além de não induzir facilmente a produção anticorpos neutralizantes o que garante a entrega do vírus ao tumor e às metástases. Além disso, não há neurotoxicidade residual do VSV selvagem e possui um ciclo de replicação rápido, resultando em lise celular rápida e altos títulos de vírus. Essa variante ataca várias linhagens de células humanas do câncer de próstata (PC3, PC-3M-Luc, DU145, LNCaP, VCaP, LAPC4, 22Rv1) (URBIOLA et al., 2018).

Outra variável, a VSV- Δ M51-GFP, possui uma exclusão na posição de aminoácido 51 da proteína da matriz (M), bem como a ORF do GFP inserida na posição 5 do genoma viral. Apresenta bom efeito oncolítico e toxicidade com tropismo para células tumorais de CP, como DU145, células PC3 e células RWPE-I. A replicação é maior em tanto em células DU145 como nas PC3, e menor em RWPE-1, promovendo a apoptose de a depender do tempo e da quantidade de vírus inoculado (ZHAO et al., 2014).

A VSV (AV3) é uma outra variante de VSV. que carrega uma deleção da metionina 51 na proteína matriz (M), que expressa a luciferase e é capaz de induzir resposta IFN em células normais (efeito de segurança contra a infecção) e infectar precisamente células tumorais prostáticas causando apoptose com resposta deficiente de IFN (MOUSSAVI et al., 2010; MOUSSAVI et al., 2013).

Outras duas variáveis do VSV em soluções com inibidores de histonas deacetilases (iHDACs), a VSV+Vor e a VSV+MS-275, foram capazes de se replicar dentro das células cancerígenas com a ajuda dos iHDACs (SHULAK et al., 2014).

Os Interferons do Tipo I (IFN- α/β) são citocinas importantes para a restrição da replicação viral dentro de uma célula saudável. As variantes de VSV são sensíveis à resposta do IFN, uma vez que se observa a preferência por células tumorais que têm produção deste mediador inflamatório. Dessa forma, a infecção por VSV, independente da variante, leva à produção de IFN-I nas células hospedeiras saudáveis, um sistema de defesa inato contra a possível infecção pelo vírus (PFEFFER, 2011; MURROW, DEBNATH, 2013).

A autofagia é uma via de degradação lisossômica fisiológica com funções de proteção às células que sofrem estresse patológico durante doenças como o câncer de próstata (ABBAS, LICHTMAN, PILLAI, 2015; PFEFFER, 2011; MURROW, DEBNATH, 2013). A ativação da via canônica/clássica de NF- κ B regula a autofagia, de forma que a TAK1 (TGF- β activated kinase-1[quinase-1 ativada por TGF- β]) ativa a IKK, responsável pela fosforilação de fatores inibitórios de NF- κ B, ativando a sinalização celular. Além disso,

NF- κ B regula a expressão diferencial de genes estimulados por interferon (ISGs) e induz indiretamente a via autofágica que leva à apoptose pelo vírus da Estomatite. Assim, a via de sinalização de NF- κ B facilita a replicação desse tipo de vírus em células do câncer de próstata, pois regula a supressão das respostas imunes inatas, por meio da diminuição da capacidade de IFN induzir apoptose e atividade antiviral. Por isso, a inibição de TAK1, do complexo IKK ou NF- κ B, ocasiona a diminuição da replicação viral o que favorece a sobrevivência de células tumorais, uma vez que há expressão de IFN do tipo I e de citocinas (PFEFFER, 2011; SHULAK, 2014).

O vírus da estomatite vesicular é agente oncolítico altamente seguro e eficiente contra as linhagens celulares de câncer de próstata, sem afetar células do tecido não afetado. As variantes do VSV são eficazes nesse tipo de tratamento e, a depender da concentração dos vírus que é injetada tanto pela via intratumoral ou subcutânea quanto pela via endovenosa, pode ser responsável pela remissão tumoral e consequente sobrevida. A variante VSV-GP foi capaz de induzir, *in vitro*, a apoptose e morte em 8 tipos células tumorais prostáticas, garantindo que 70-80% fossem eliminadas, enquanto, *in vivo*, provocou regressão tumoral e sobrevivência em 100% dos camundongos com tumores de células Du145 e 22Rv1, e em 80% de camundongos com tumores VCaP (n=5) tratados com concentrações elevadas de VSV-GP (URBIOLA et al., 2018).

O VSV(AV3) promoveu apoptose em 3 linhagens diferentes desse tipo de câncer MPPK-1, LNCaP e RWPE-1, causando morte celular em aproximadamente 80% das células cancerígenas, MPPK-1 e LNCaP, de camundongos PTEN - / - tratados com titulações de AV3 de 100 PFU/célula (MOUSSAVI et al., 2013). Em células RWPE-1, na mesma condição que as demais, o vírus AV3 conseguiu eliminar aproximadamente 30% das células. Quando essas células foram tratadas com IFN junto ao vírus, a sobrevivência de células tumorais foi direta à concentração de IFN (MOUSSAVI et al., 2013).

Além disso, a infecção de células de tumores de próstata humanos (DU145, PC3 e RWPE-1) com VSV- Δ M51-GFP, *in vitro*, causou morte em aproximadamente 90% de Du145, quase 75% das PC3 e em 20% das RWPE-1 com VSV- Δ M51-GFP em MOI (multiplicidade de infecção) de 0,1 (0,1 partículas virais por célula). De 10 camundongos tratados com uma dose 107 PFU de VSV- Δ M51-GFP, 5 sobreviveram após 50 dias. Outros 10 camundongos foram tratados com 106 PFU de VSV- Δ M51-GFP, desses 40% conseguiu sobreviver. Nos grupos expostos a VSV- Δ M51-GFP, após 40 dias, os tumores com volumes aproximados de 500 mm³ sofreram redução, considerando as concentrações de 106 (redução de 50% aproximadamente) e 107 (redução de 80 % aproximadamente). Assim, os tumores foram significativamente inibidos, prolongando a sobrevivência dos camundongos (ZHAO et al., 2014).

HERPES SIMPLEX VIRUS

Os vírus do herpes simplex oncolítico (oHSV) se caracterizam por serem geneticamente modificados, podendo se replicar e matar de forma seletiva células cancerígenas, crescendo dentro do tumor, com a vantagem de preservar o tecido normal (WANG, 2019.). O vírus tipo 1, se manifesta atenuado devido a exclusão de fatores de virulência, tornando-o seguro para administração a pacientes com câncer. Sendo um vetor viral de DNA, o oHSV-1 tem aumentado potencial para manipulação, devido ao seu amplo genoma para inserção de transgene e seu amplo tropismo (LI, 2013). Apesar dos resultados otimistas em relação ao tratamento com os herpes vírus, alguns estudos realizados com vetores HSV para câncer de próstata usaram modelos com tumor implantado, ou seja, artificiais em relação ao meio e ao suprimento linfovascular. Dessa forma, por mais que esses modelos sejam mais simples para a manipulação terapêutica, eles não traduzem a verdadeira situação do câncer *in situ*, sendo passíveis de alterações nos resultados das pesquisas (VARGHESE, 2007).

Os vetores virais geneticamente modificados, tendo como característica a replicação restrita às células cancerígenas, representam um avanço para o tratamento do câncer, pois podem se replicar e espalhar *in situ*, exibindo atividade oncolítica por efeitos citopáticos diretos. Esses se tornam vantajosos à medida que são auto-perpetuantes e podem se espalhar não apenas no tumor, mas também para micrometástases distintas. O vetor G207 mostrou ter eficácia contra o câncer de próstata humano tanto *in vitro* quanto *in vivo* após administração intraneoplásica direta, assim como intravenosa. Em alguns tipos de camundongos com xenoinxertos de câncer de próstata humano, a injeção no tumor de G207 causou uma redução no tamanho do tumor e uma erradicação completa em torno de 22% dos tumores (FUKUHARA; HOMMA; TODO; 2013). O vetor G47 Δ , constitui-se como um vetor HSV-1 eficaz para replicação de nova geração baseado em G207 com uma exclusão adicional dentro do gene α 47 não essencial. A exclusão de α 47 não apenas impede a regulação negativa do complexo principal de histocompatibilidade classe I (MHC I), mas também coloca o gene US11 sob o controle do promotor α 47 inicial imediato. Esta alteração da expressão de US11 aumenta o crescimento de G47 Δ impedindo o fechamento da síntese de proteínas (PASSER et al., 2010).

Além do G207, o NV1020, demonstrou ter efeitos citolíticos *in vitro* em todas as linhagens celulares de câncer de próstata testadas. Esses obtiveram resultados eficazes em relação a diminuição significativa no PSA do sangue e uma diminuição do crescimento tumoral quando inoculados nos xenoinxertos subcutâneos PC-3 ou C4-2. Ao administrar sistemicamente os vírus NV1023, HSV1/2 recombinante em tumores que surgiram espontaneamente no camundongo TRAMP transgênico (transgenic adenocarcinoma of mouse prostate) houve inibição do crescimento tumoral primário e as metástases nos linfonodos. (FUKURA; HOMMA; TODO. 2013). Soma-se a esses mecanismos, a expressão da interleucina 12 (IL-12) do vírus 1042, sendo esse um derivado do NV1023, que foi adicionado de forma eficaz, reduzindo de maneira significativa a frequência de desenvolvimento de câncer de próstata (VARGUESE et al., 2007).

Estudos na área tiveram êxito ao demonstrarem que para maior eficácia do tratamento usando a viroterapia com herpes vírus, os microRNAs (miRNA) representam uma nova forma para uma regulamentação mais rigorosa da replicação viral específica do tumor. Esses utilizaram da inclusão de sequências-alvo específicas de miRNA no 3'-UTR de um gene essencial do HSV-1 para restringir a replicação viral e onólise das células cancerígenas, poupando tecidos normais (LEE; RENNIE; JIA; 2019).

VIRUS VACCINIA

O vírus Vaccinia pertence à família Poxviridae e possui um grande genoma linear de DNA de fita dupla constituído por aproximadamente 250 genes, com capacidade de inserção de transgenes terapêuticos, tendo diversas variantes avaliadas. A variante GLV1h153, que possui um gene simulador de iodo de sódio (NIS), uma proteína da membrana responsável pela captação de iodo, incluindo o iodo 131 (131I), pelo tecido tireoidiano. A terapia gênica com o gene NIS utiliza o potencial comprovado do 131I para combater outros tipos de câncer. O uso do GLV1h153 combinado à radioterapia demonstrou aumentar a apoptose das células cancerígenas da próstata. A modificação genética de Vaccinia para expressar o gene NIS representa um aperfeiçoamento adicional de seu potencial terapêutico, dando-lhe a capacidade de conduzir a captação celular de 131I para morte direta de células infectadas e morte indireta de células vizinhas dentro do raio de 0,8 mm das partículas β emitidas. O vírus apresentou efeito contra quatro linhas celulares de câncer de próstata (DU145, PC3, LNCaP e WPMY-1), sendo mais eficaz quanto maiores a dose e o tempo de infecção, apesar de não ter apresentado total linearidade. A replicação viral limitou-se apenas ao tecido tumoral em camundongos e não se disseminou para outros tecidos (MANSFIELD et al., 2016).

Em outro estudo, o tratamento utilizando apenas a variante GLV-1h153 do vírus Vaccinia, sem combinação à radioterapia, em camundongos transgênicos para o adenocarcinoma de próstata, estendeu a sobrevivência média de 50,5 dias para 123,5 dias, em comparação com os animais controle. Já a sua combinação com o 131I aumentou a sobrevivência para 195 dias, tendo sido constatado que a adição de 131I à terapia viral causa uma redução significativa na taxa de crescimento do tumor (MANSFIELD et al., 2016).

Outra variante do vírus Vaccinia avaliada em estudos é o GLV1h68 atenuado que apresenta três cassetes de expressão codificando as proteínas Renilla luciferase-GFP, β galactosidase e β -glucuronidase, recombinadas nos loci F14.5L, J2R e A56R, respectivamente. O tratamento com o vírus da Vaccinia oncolítica GLV-1h68 resultou em uma diminuição drástica dos vasos sanguíneos e linfáticos, vias essenciais para a disseminação metastática da linhagem de células de carcinoma da próstata humana PC-3 (DSMZ ACC465). A análise da distribuição viral em camundongos portadores de tumor injetados em GLV-1h68 por ensaios em placas revelou títulos de vírus significativamente mais altos nas metástases em comparação

aos tumores sólidos. Diversos componentes microambientais mediaram o tropismo do GLV1h68 para tumores metastáticos, como a maior permeabilidade vascular, maior proliferação de células tumorais e menor necrose das células PC-3 nas metástases de linfonodos do que nos tumores sólidos, além de um número aumentado de células imunes combinados a uma expressão regulada de citocinas pró-inflamatórias no primeiro tipo (DONAT et al., 2012).

A nova cepa LVP6.1.1 do vírus Vaccinia oncolítico, um vírus nativo, possui o gene timidina quinase (tk) dividido em duas ORFs (open reading frames), além de outras mutações quando comparado ao GLV-1h68. Em estudo foi observado o efeito oncolítico da linhagem LVP6.1.1 em multiplicidades de infecção (MOIs) de 1,0 e 0,1 e em 24, 48 e 72 h após a infecção de células DT08 / 40 de carcinoma da próstata caninos. Ao longo de quatro dias após a infecção, no MOI de 1,0, houve morte de 83% das células tumorais. A replicação viral de LVP6.1.1 em células DT08 / 40 foi considerada mais eficiente do que o GLV-1h68, já que uma única injeção com o vírus levou a uma inibição significativa do crescimento do tumor de todos os camundongos tratados (GENTSCHEV et al., 2013).

A variante GLV 1h255 do vírus Vaccinia oncolítico contém o gene MMP-9 que codifica as metaloproteinases da matriz (MMPs), que são endopeptidases dependentes de zinco, geralmente expressas como zimógenos inativos. No estado ativado, essas MMPs atuam na degradação de várias proteínas da matriz extracelular (MEC), podendo afetar a progressão do câncer, levando ao aumento da distribuição viral dentro dos tumores. O GLV-1h255 foi utilizado para tratar camundongos portadores de tumor PC-3, tendo sido observada uma diminuição acentuada no conteúdo de colágeno IV em áreas tumorais infectadas, quando comparado com áreas tumorais infectadas por GLV-1h68, facilitando assim a disseminação viral intra-tumoral e resultando em regressão acelerada do tumor, reduzindo aproximadamente 50% do volume tumoral ao 24º dia após a infecção (SCHÄFER et al., 2012).

O vírus GLV-1h109 infecta, se replica e destrói eficientemente as linhas celulares de sarcoma de tecidos moles caninos e o carcinoma da próstata canino. Após 96 h de tratamento do carcinoma da próstata canino DT08 / 40 com GLV-1h109, sobreviveram apenas aproximadamente 17% das células cancerígenas, 96 horas após a infecção tanto nos MOIs de 0,1 quanto de 1,0. A infecção das células cancerígenas pelo vírus levou a uma produção contínua do anticorpo de cadeia única scAb GLAF-1, que reconheceu especificamente o VEGF (Fator de Crescimento Endotelial Vascular) canino, resultando na inibição da angiogênese. Em dois modelos diferentes de xenoenxerto, a administração sistêmica do vírus GLV-1h109 foi considerada segura e levou a efeitos antitumorais e imunológicos, resultando na redução significativa do crescimento do tumor em comparação com camundongos de controle não tratados (PATIL et al., 2012).

CONCLUSÃO

A viroterapia oncolítica tem mostrado resultados promissores na busca pelo tratamento efetivo do câncer de próstata e a expectativa é que possa complementar as terapias convencionais e até representar um tratamento alternativo no futuro. Porém, são necessários estudos mais eficazes sobre seu papel na regressão tumoral em organismos humanos in vivo e em situações que mimetizem as condições de vida humana para se analisar melhor as reações e comportamentos celulares. Nesse sentido, a recombinação e melhoria dos vetores virais proporcionaram o desenvolvimento de respostas mais eficazes e com menores efeitos tóxicos. Dessa forma, é importante enfatizar que o aperfeiçoamento desse método terapêutico para uso em modelos pré-clínicos pode ser rapidamente incorporado em uso clínico e que, por isso, é extremamente necessário o incentivo e financiamento do desenvolvimento de pesquisas mais aprofundadas sobre o tema.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
- AMERICAN CANCER SOCIETY. **Cancer Facts & Figures 2019**. Atlanta, GA, 2019.
- BARBER, G.N. Vesicular stomatitis virus as an oncolytic vector. **Viral Immunol**. V. 17, n. 1, p. 516-527, 2004.
- DONAT, U. et al. Preferential Colonization of Metastases by Oncolytic Vaccinia Virus Strain GLV-1h68 in a Human PC-3 Prostate Cancer Model in Nude Mice. **PLOS ONE [internet]**, v. 7, n. 9, e45942, 2012.
- GENTSCHEV, I. et al. Characterization and evaluation of a new oncolytic Vaccinia Virus strain LIVP6.1.1 for canine cancer therapy. **Bioengineered**, v. 4, n. 2, p. 84–89, 2013.
- HASTIE, E.; GRDZELISHVIL, V.Z. Vesicular stomatitis virus as a flexible platform for oncolytic virotherapy against cancer. **J Gen Virol**. v. 93, n. 12, p. 2529-2545, 2012.
- INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA/MS). Câncer de próstata, Disponível: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-prostata>.
- GENETICS EDITORIAL BOARD. PDQ Genetics of Prostate Cancer. Bethesda, MD: National Cancer Institute. Disponível em: <https://www.cancer.gov/types/prostate/hp/prostate-geneticspdq>. Acesso em: 22 de setembro de 2018.
- KARIN, M.; LIN, A. NF- κ B at the crossroads of life and death. **Nature Immunology**, v. 3, n. 3, p. 221–227, 2002.
- KNIGHT, A.P.; MESSER, N.T. Vesicular Stomatitis. **The Compendium Continuing Education**, v. 5, n. 10, p. 517-522, 1983.
- KUMON, H. et al. Adenovirus vector carrying REIC/DKK-3 gene: neoadjuvant intraprostatic injection for high-risk localized prostate cancer undergoing radical prostatectomy. **Cancer Gene Ther**, v. 23, n. 11, p. 400-409, 2016.

- LEE, C. Y. F. et al. Transcriptional and Translational Dual-regulated Oncolytic Herpes Simplex Virus Type 1 for Targeting Prostate Tumors. **Mol. Ther**, v. 18, n. 5, p. 929-935, 2010.
- LEE, C.Y.F.; RENNIE, P.S.; JIA, W. G. MicroRNA Regulation of Oncolytic Herpes Simplex Virus-1 for Selective Killing of Prostate Cancer Cells. **Clinical cancer research**, v. 15, n. 16, p. 5126-5135, 2009.
- LI, Z.L. et al. Dendritic cells serve as a "Trojan horse" for oncolytic adenovirus delivery in the treatment of mouse prostate cancer. **Acta Pharmacol Sin**, v. 37, n. 8, p. 1121-8, 2016.
- LI, H. et al. HSV-NIS, an oncolytic herpes simplex virus type 1 encoding human sodium iodide symporter for preclinical prostate cancer radiovirotherapy. **Cancer gene ther**. v. 20, n. 8, p. 478-485, 2013.
- MANSFIELD, D. C. et al. Oncolytic vaccinia virus as a vector for therapeutic sodium iodide symporter gene therapy in prostate cancer. **Gene Therapy**, v. 23, n. 1, p. 357-368, 2016.
- METT, V. et al. Mobilan: a recombinant adenovirus carrying Toll-like receptor 5 self-activating cassette for cancer immunotherapy. **Oncogene**, v. 37, n. 4, p. 439-449.
- MOUSSAVI, M. et al. Oncolysis of Prostate Cancers Induced by Vesicular Stomatitis Virus in PTEN Knock-out Mice. **Cancer Res**, v. 70, n. 4, p. 1367-1376, 2010.
- MURROW, L.; DEBNATH, J. Autophagy as a stress-response and quality-control mechanism: implications for cell injury and human disease. **Annual review of pathology**, v. 8, n. 1, p. 105-137, 2013.
- OLIVEIRA, B.A. et al. Vetores virais para uso em terapia gênica. **Rev Pan-Amaz Saude**, v. 9, n. 2, p. 57-66, 2018.
- PANDYA, M. et al. "Reprogramming Immune Response With Capsid-Optimized AAV6 Vectors for Immunotherapy of Cancer." **Journal of immunotherapy**, v. 38, n. 7, p. 292-298, 2015.
- PATIL, S. S. et al. Virotherapy of Canine Tumors with Oncolytic Vaccinia Virus GLV-1h109. Expressing an Anti-VEGF Single-Chain Antibody. **PLOS ONE [internet]**, v.7, n. 10, e47472, 2012.
- PFEFFER, L.M. The role of nuclear factor κ B in the interferon response. **Journal of interferon & cytokine research: the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research**, v. 31, n. 7, p. 553-559, 2011.
- QUIROZ, E. et al. A human case of encephalitis associated with vesicular stomatitis virus (Indiana serotype) infection. **Am J Trop Med Hyg**. v. 39, n. 3, p. 312-314, 1988.
- SCHÄFER, S. et al. Vaccinia virus-mediated intra-tumoral expression of matrix metalloproteinase 9 enhances oncolysis of PC-3 xenograft tumors. **BMC Cancer**, v. 12, n. 366, p. 1471-2407, 2012.
- SHOAG, J.; BARBIERI, C. E. Clinical variability and molecular heterogeneity in prostate cancer. **Asian journal of andrology**, v. 18, n. 4, p. 543-548, 2016.
- SHULAK, L. et al. Histone deacetylase inhibitors potentiate vesicular stomatitis virus oncolysis in prostate cancer cells by modulating NF- κ B-dependent autophagy. **Journal of virology**, v. 88, n. 5, p. 2927-2940, 2014.

SPICKLER, A. R. **Vesicular Stomatitis**. CFSPH Technical Fact Sheets, 2016 (Last Updated). Disponível em: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/vesicular_stomatitis.pdf>. Acesso em: 02 de setembro 2019.

STOJDL, D. F. et al. VSV strains with defects in their ability to shutdown innate immunity are potent systemic anti-cancer agents. **Cancer Cell**, v. 4, n. 4, p. 263–275, 2003.

TAMURA, R.E., et al. Autoregulated expression of p53 from an adenoviral vector confers superior tumor inhibition in a model of prostate carcinoma gene therapy. **Cancer Biol Ther**, v. 17, n. 12, p. 1221-1230, 2016.

TAMURA, R.E., et al. Improving adenoviral vectors and strategies for prostate cancer gene therapy. **Clinics**, v. 73, suppl 1 e 476s, 2018.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. Microbiologia. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

URBIOLA, C. et al. Oncolytic activity of the rhabdovirus VSV-GP against prostate cancer. **International journal of cancer**, v. 143, n. 7, p. 1786–1796, 2018.

WANG, L. et al. Oncolytic Herpes Simplex Virus and PI3K Inhibitor BKM120 Synergize to Promote Killing of Prostate Cancer Stem-like. **Mol Ther: oncolytics**, v. 13, n. 1, p. 58-66, 2019.

XU W., et al. “Ad5/48 hexon oncolytic virus expressing sTGFβRIIFc produces reduced hepatic and systemic toxicities and inhibits prostate cancer bone metastases.” **Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 22, n. 8, p. 1504-1517, 2014.

XU, W. et al. “The systemic delivery of an oncolytic adenovirus expressing decorin inhibits bone metastasis in a mouse model of human prostate cancer.” **Gene therapy**, v. 22, n. 3, p. 247-256, 2015.

YU, X. et al. “Activation of the MDA-5-IPS-1 Viral Sensing Pathway Induces Cancer Cell Death and Type I IFN-Dependent Antitumor Immunity.” **Cancer research**, v. 76, n. 8, p. 2166-2176, 2016.

ZHAO, X. et al. Evaluation of vesicular stomatitis virus mutant as an oncolytic agent against prostate cancer. **International journal of clinical and experimental medicine**, v. 7, n. 5, p. 1204–1213, 2014.