

VIRUS ONCOLÍTICOS

TATIANA ANDREA BRICEÑO PAIPA

TRABAJO DE GRADO

Presentado como requisito parcial

Para optar al título de:

MICROBIOLOGA INDUSTRIAL.

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
CARRERA DE MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL
BOGOTA D.C**

2014

NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la resolución No. 13 de julio 1946.

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Sólo velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porque las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vean en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”

VIRUS ONCOLÍTICOS

TATIANA ANDREA BRICEÑO PAIPA

APROBADO



Ismael Samudio Echeverry Ph.D
Bioquímica Y Genética
Director



Sandra Quijano Gómez MSc. PhD.
Bacterióloga
Jurado

VIRUS ONCOLÍTICOS

TATIANA ANDREA BRICEÑO PAIPA

APROBADO

Concepción Puerta B., PhD
Decana Facultad de Ciencias

Marcela Franco Correa PhD.
Directora del Programa.
Microbiología Industrial.

AGRADECIMIENTOS

A Dios quien me permitió llegar a esta etapa de mi vida, por darme sabiduría para poder culminar mis estudios, fortaleza, constancia, perseverancia y sobre todo salud.

A mi familia, mis padres y mi hermano, quienes día a día me dieron su apoyo incondicional, por la educación, por mi formación como persona y profesional, por la compañía y por la fuerza.

A Ismael Samudio por su confianza, enseñanzas, tiempo y por ser un ejemplo de crecimiento profesional.

A Laura, Lina, Tatiana, Catalina y compañeros quienes de una u otra manera me apoyaron y creyeron en mi para lograr este proyecto.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	7
2. JUSTIFICACIÓN	9
3. MARCO TEÓRICO	10
4. OBEJTIVOS	
4.1 Objetivo general	11
4.2 Objetivos Específicos	11
5. METODOLOGÍA	
5.1 Revisión de bases de Datos	11
5.2 Palabras Clave	11
5.3 Recopilación de Artículos	11
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
6.1 Adenovirus	12
6.2 Virus de Newcastle	17
6.3 Virus de Herpes Simple	22
6.4 Reovirus	24
6.5 Virus del Sarampión	25
7. CONCLUSIÓN	28
8. BIBLIOGRAFÍA	29

INTRODUCCIÓN

La viroterapia es una técnica que se fundamenta en el uso de virus que han sido modificados genéticamente y que tienen como blanco principal células tumorales, las cuales – en su afán de mantener una descontrolada proliferación celular – han perdido la habilidad de suprimir la replicación viral (Tomoki 2012); éstos virus son también conocidos como virus oncolíticos y su importancia radica en que al replicarse dentro de las células tumorales las destruyen de manera lítica generando un efecto terapéutico y haciendo su actividad un foco de investigación para el manejo de enfermedades específicamente las de origen oncológico. (Liras 2008).

Existen varios virus que han sido empleados y estudiados para uso terapéutico; el primero y más estudiado es el adenovirus, descubierto en 1953, aunque también se puede encontrar otros que son estudiados aún como el virus del herpes simplex (HSV), virus de la viruela, virus de la estomatitis vesicular (VSV), virus del sarampión, virus de la enfermedad de Newcastle (NDV), virus de la influenza A (IFA), parvovirus y reovirus; entre los más estudiados. En algunos de estos casos los virus no son modificados genéticamente , algunos de estos poseen actividad específica de infección en las células cancerígenas, otros han sido modificados genéticamente para tener como blanco las células tumorales, algunos virus evocan una respuesta inmune fuerte y por lo tanto pueden funcionar como adyuvantes (Vaha-Koskela et al. 2007), y como resultado se ha evidenciado que algunos de estos en combinación con quimioterapia generan un mayor potencial para destruir los tumores y aumentar el número de pacientes que sobreviven a dichas enfermedades. (Dave et al. 2014, Sheng et al. 2008)

Aunque los virus oncolíticos llevan más de 20 años siendo estudiados con resultados alentadores, mostrando cierta respuesta dependiendo del método empleado (Alvarez et al. 2011), aún siguen habiendo factores que no permiten que el uso de virus como terapia sea 100% segura y es poco probable que erradique completamente los tumores de las personas con cáncer. (Sheng et al. 2008). Los principales factores son: respuesta del huésped al virus oncolítico, la respuesta angiogénica a la infección viral, barreras extracelulares a la

propagación viral, e interacciones ineficientes o inespecíficas con el receptor de la célula diana. (Alvarez et al. 2011, Cronin et al. 2014).

Aún así existen varios métodos que pueden ser mejorados con metodologías complementarias en donde no solo se busque el direccionamiento del virus a las células cancerígenas, sino que se erradiquen señales que favorezcan el crecimiento de los tumores (Savontaus et al 2002); además el uso de múltiples virus simultáneamente ha sido como estrategia para potencializar aún más su efecto en las células diana (Zhang et al 2014); inclusive varios de los virus han sido empleados para inducir y generar la respuesta inmune natural del humano, de tal manera que contrarresten la inmunosupresión generada por el ambiente tumoral. (Alabsi et al 2012)

Con este proyecto se pretende determinar cuál ha sido el impacto que ha tenido el uso de virus como terapia para el manejo de enfermedades oncológicas, cuáles han sido los avances y cuales aún siguen siendo los factores que impiden el desarrollo de esta terapia que va en pro de incrementar la supervivencia de pacientes que padecen cáncer.

JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El desarrollo de distintas terapias, tratamientos o metodologías que favorezcan el manejo y control de enfermedades de difícil manejo como lo son las oncológicas, es de alta importancia en la actualidad; ya que a pesar de que existen tratamientos como la quimioterapia y radioterapia que pueden llegar a tener resultados positivos en donde el paciente presente una recuperación y asimile el tratamiento al cual está siendo expuesto, aún no resultan 100% efectivos (Cokkinides et al 2012). Según lo indica la Organización Mundial de Salud las enfermedades oncológicas son una de las principales causas de mortalidad en las Américas, en el 2012 se informó que 1,3 millones de muertes fueron causadas por el cáncer de las cuales el 47% se presentaron en América Latina y el Caribe y según la Organización Panamericana de Salud para el año 2030 se espera un aumento hasta de 2,1 millones de personas (PAHO 2014). Por esta razón surge la búsqueda de tratamientos alternos en donde el paciente presente una recuperación rápida, el uso de medicamentos tóxicos sea mínimo y si es posible nulo, evitando consecuencias a largo plazo y aumentando la tasa de supervivencia a estas enfermedades; es uno de los aspectos científicos más estudiados actualmente. Es por esto que una de las técnicas de alto impacto en este momento es el uso de virus oncolíticos, que permiten tener las células cancerígenas como blanco para que al generarse un proceso de replicación del virus, genere la lisis de las células, erradicando por completo la presencia de células malignas y estimulando la respuesta inmune a estas patologías (Liras 2008). Este trabajo tiene como finalidad indagar, investigar, e identificar la acción de los virus oncolíticos, los beneficios que trae el uso de este proceso en pacientes oncológicos, la eficiencia al emplear los virus para eliminar las células tumorales, ofreciendo una opción en pro de la salud del paciente y ser empleada como terapia, además de esto determinar qué factores influyen en que el uso de virus no sea totalmente satisfactorio y tenga un impacto relevante en el manejo de estas enfermedades.

MARCO TEÓRICO

El cáncer se caracteriza por ser un proceso de crecimiento y proliferación incontrolada de células anormales; dicha células cancerosas pueden invadir tejidos cercanos y diseminarse a otros órganos, ya sea por la sangre o por el sistema linfático provocando lo que se conoce como metástasis; siendo esta una de las principales razones por las cuales resulta aún más complicado el manejo de la enfermedad. Aunque como lo menciona la Organización Mundial de Salud varios tipos de cáncer pueden ser prevenidos evitando exposición a factores de riesgo, cuando se presenta la enfermedad se han desarrollado procedimientos que se pueden erradicar mediante cirugías, radioterapia y quimioterapia que resultan muy eficientes cuando la enfermedad y los tumores se encuentran en fase temprana (OMS , Shors 2009).

No solo los tratamientos de quimioterapia y radioterapia se han empleado para el manejo del cáncer, hay otros tratamientos que están siendo estudiados y uno de ellos es con el uso de virus; se caracterizan por ser microorganismos pequeños, con capacidad de atravesar los filtros que atrapan a la mayoría de las bacterias conocidas; filtros identificados como la respuesta inmune innata del organismo como fagocitosis, citotoxicidad, citoquinas, quemoquinas que controlan y destruyen o cuando logra evadir la respuesta se activa el sistema inmune adaptativo. Son totalmente dependientes de la célula huésped ya que debe usar toda su maquinaria de síntesis proteica para sintetizar sus proteínas , y en pocos casos pueden persistir integrando su genoma al genoma de la célula huésped evadiendo la respuesta inmune a través de una variación antigénica y supresión de respuesta inmune. (Shors 2009).

Los virus tienen un genoma de ácido nucléico protegido por una cubierta proteica conocida como cápside que le otorga a la partícula viral su estructura sólida, ésta estructura puede llegar a contener otras proteínas que les permiten al virus adherirse a la superficie de la célula huésped o diana; ésta característica es adecuada y oportuna para hablar de tratamiento frente a patologías oncológicas. (Shors 2009, Romero 2007)

Específicamente se han utilizado como modelos de tratamiento para cáncer los virus oncolíticos, éstos virus son modificados genéticamente para tener especificidad en las células que van a infectar y posteriormente lisar. Los virus oncolíticos tienen capacidad de infectar la célula y lisarla cuando entra en proceso de replicación, en cambio las células normales poseen mecanismos para frenar su propia proliferación de tal manera que si son infectadas puedan evitar que el virus se replique.(Sheng et al. 2008)

OBJETIVOS

General

Realizar revisión de virus oncolíticos como terapia para el manejo y control de enfermedades de origen oncológico.

Específicos

- Revisar los diferentes tipos de virus usados clínicamente
- Evaluar los mecanismos propuestos y las posibles combinaciones para la eficacia de la viroterapia en cáncer.

METODOLOGÍA

1. Se realizó una búsqueda bibliográfica en las siguientes bases de datos

- Science Direct (Elsevier)
- Pubmed-Medline
- Biomed
- Scopus

2. Palabras clave

- Cáncer
- Virus
- Oncolytic virus
- Virotherapy

3. Recopilación de Artículos

- Artículos encontrados en total: 45 los cuales se clasificaron en:
- Virus Oncolíticos: 13
- Adenovirus: 9
- Herpes Simple: 7
- Reovirus: 2
- Sarampión: 4
- Virus Newcastle: 10

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ADENOVIRUS

Se aislaron por primera vez en 1953 a partir de muestras de tejidos de adenoides humanos. La investigación con adenovirus ha mostrado que tiene la capacidad de acumularse en el hígado generando efectos secundarios posiblemente no deseados, por tal razón se lleva a cabo la administración directamente en el tejido primario del tumor. (Okuno et al 1998), Los adenovirus inyectados de forma intravenosa es decir sistemática se procesan rápidamente por células del sistema inmune innato en el hígado y el bazo generando inflamación aguda local; otra desventaja del suministro sistemático es el reconocimiento de los adenovirus por el sistema inmune generando anticuerpos neutralizantes reduciendo el nivel de expresión del gen terapéutico. (Kwon et al 2013).

Dadas las implicaciones de utilizar los adenovirus de manera sistemática y por esto limitando su administración clínica como vector de terapia génica; se han planteado algunas soluciones para poder usar los adenovirus; una de ellas es la modificación de la superficie del virus usando portadores poliméricos, para que de esta manera se evite la respuesta inmune innata y la actividad esperada del virus se de; los anticuerpos de reconocimiento viral y se pueda suministrar sistemáticamente. Ésta interacción presenta unas características importantes como la replicación y amplificación de los adenovirus en el tejido canceroso después de la infección selectiva, aumentando su efecto; ésta selectividad reduce aún la toxicidad para las células normales. (Kwon et al 2013)

También se ha utilizado una cepa de adenovirus ONYX-015, al cual se le ha eliminado el gen viral para infectar selectivamente las células cancerosas deficientes en p53, pero ONYX-015 tiene ciertas restricciones, una de ellas es que ONYX-015 sólo es eficaz en tumores deficientes de p53 y esta característica sólo se evidencia en el 50% de los cánceres humanos. (Choi et al 2012)

Se ha ido empleando una estrategia para poder superar y manejar con exactitud el potencial terapéutico de los adenovirus oncolíticos con el sistema de entrega de transgenes mediada por virus; el uso de ésta metodología tiene como principal ventaja la inserción de genes terapéuticos de manera estable en el genoma viral. Cuando un adenovirus se replica puede llegar a generar de 1000 a 10000 copias por célula, siendo esto un beneficio de alta importancia ya que la amplificación del gen terapéutico con el virus es de alto impacto porque cada progenie viral con el mismo transgén que ha sido heredado de su progenitor infectará las células cancerosas que se encuentran alrededor generando así una mejora del potencial de la terapia con virus empleada para cáncer. (Choi et al 2012).

Los genes E1 se expresan inmediatamente entra el virus a la célula, pero dos genes específicos E1A y E1B (E1B55K) han sido modificados teniendo como propósito crear virus específicos para el tumor; generalmente estos dos genes inducen a la células para estar en la fase S , fase de síntesis del ADN; la delección de E1A provocará el bloqueo de la transición de la fase G1 de crecimiento celular a la fase S. Mientras que la supresión de E1B permite que p53 (gen encargado de generar la respuesta de la célula ante un estrés celular) actúe; ya que E1B bloquea la terminal de aminoácidos de la p53 responsable de recibir la activación para transcripción, generando apoptosis en las células infectadas, evitando la replicación y propagación del virus. (Jiang et al 2006).

Según lo indica Kwon et al. las contraindicaciones que se evidencian al emplear los adenovirus como terapia, pueden ser anuladas empleado técnicas genéticas de modificación como lo explica Choi et al. en su estudio, una de las soluciones más eficientes presentadas hasta el momento es el uso del adenovirus ONYX-015 que así como lo indican , se crea una especificidad directa del virus para células cancerígenas que tienen características

específicas y únicas con respecto a las células normales , está resultaría una buena alternativa para optimizar el uso de los adenovirus.

Según lo presentado por Jiang et al 2006 al tener una especificidad con respecto a la célula huésped, teóricamente el virus desaparecería solo al instante en que hayan desaparecido completamente las células blanco, es decir las células cancerígenas; siendo está una alternativa que limita la posibilidad de que se presenté acumulación del virus en otros órganos generando patologías.

Los adenovirus no solo pueden estar diseñados para tener como diana las células cancerígenas, sino también pueden apuntar a tipos de células no tumorales en el tejido tumoral; un adenovirus con E1A y E1B con expresión baja o nula y utilizando promotores específicos de células endoteliales se replica en estas células y su papel es fundamental, ya que estas células son esenciales para el desarrollo de tumores sólidos. (Savontaus et al 2002). Incluso resulta aún más efectivo cuando se utilizan dos adenovirus con dianas diferentes una para células cancerígenas y otro para células endoteliales, ya que inhiben de manera eficaz el crecimiento de cáncer de próstata en humano según lo indica (Jin et al 2005); además se ha estudiado un método para dirigir la replicación viral a las células tumorales, la hipoxia, es decir ausencia de oxígeno en los tejidos, dado que los tumores sólidos presentan esta característica común. Los factores inducibles por hipoxia, son factores de transcripción que se activan al presentarse un cambio de oxígeno disponible en el entorno celular, median la respuesta transcripcional a la hipoxia por la unión a HRE (Hypoxia Response Element) en los genes diana. Esto se presenta ya que existe un promotor denominado fetoproteína (AFP) que tiene HREs , lo que genera que el adenovirus reconozca las células cancerígenas, identificando la hipoxia generando la lisis celular, reduciendo el carcinoma. (Choi et al 2012).

Otro método empleado es la estimulación inmune específica por citoquinas, éstas regulan la señalización intracelular importante en la inflamación, inmunidad y tumorigénesis. Algunas citoquinas han demostrado que poseen potencial terapéutico y efectos antitumorales cuando se administran exógenamente; entre éstas se encuentran la citoquina conocida como factor

estimulante de la formación de colonias, GM-CSF (Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor), IL-2, IL-12, IL-18 e IL-24; por ejemplo GM-CSF es un factor de crecimiento hematopoyético, diferenciador de las células T, mediador pro-inflamatorio y neuromodulador (Nieuwenhuijze et al 2013) , IL-2 promueve la proliferación y la citotoxicidad de las células T citotóxicas, IL-24 induce la apoptosis selectiva de las células cancerígenas, inhibe la angiogénesis conocida como el proceso por el cual se forman vasos sanguíneos de los ya existentes y como factor más importante estimula la respuesta antitumoral. El suministro local de citoquinas puede ser empleado con finalidades terapéuticas, la transferencia directa de genes codificantes para citoquinas desde el adenovirus hasta las células cancerígenas inducen la respuesta inmune del organismo para que de tal manera se pueda reducir el tumor favoreciendo el manejo de ésta patología; el fundamento de esta metodología la activación de la replicación de adenovirus en el tejido del tumor induciendo la muerte de las células y la liberación de antígenos tumorales in situ. (Choi et al 2012).

Además se han hecho estudios que buscan mejorar la propagación viral en el tumor específicamente; en un tumor sólido la matriz extracelular (EMC) que está constituida por proteoglicanos formados por ambos estroma neoplásico y normal, y se encuentra relacionado con la regulación de la señal en el ambiente del tumor interrumpe e interfiere en la eficiencia y la actividad de los adenovirus oncolíticos en el tumor. Se está estudiando la relaxina, caracterizada por ser un potente inhibidor de colágeno, y expresada en los adenovirus aumenta la propagación del virus de célula a célula dentro de los tumores, y de igual manera generando apoptosis, una manera para determinar la acción de la relaxina en el tumor es que se presenta una reducción de la expresión de colágeno. Otro proteoglicano empleado es la decorina mejora de manera eficiente la propagación y replicación de los adenovirus , aumentando su efecto antitumoral, inclusive la decorina puede verse implicada en la remodelación de la matriz extracelular. (Choi et al 2012).

Varios tipos de cáncer han sido estudiados empleando adenovirus, incluyendo páncreas, próstata, ovario y glioblastoma multiforme han establecido la tolerabilidad de los

adenovirus, pero como se mencionó anteriormente los ensayos clínicos han evidenciado las falencias que aún presenta el uso de los adenovirus como terapia . (Armstrong et al 2012).

El uso de adenovirus oncolíticos en personas o pacientes inmunocomprometidos como los que han sido expuestos a trasplante de células madre hematopoyéticas (HSTC), pueden generar la propagación de éstos generando complicaciones graves en el paciente que probablemente lo lleve a un desenlace fatal; por esto se ha informado que en los pacientes pediátricos con HSTC la eliminación de la diseminación de los adenovirus se basó en la recuperación de la inmunidad.

Dentro de la primera línea de sistema inmune, las células dendríticas (PDC) son consideradas las principales “detectoras” de patógenos virales, éstas células expresan selectivamente el Toll-like receptor intracelular 9 (TLR9); los receptores toll-like son una familia de proteínas que forman parte del sistema inmune innato, reconociendo patrones moleculares expresados por una gran variedad de agentes infecciosos y de esta manera estimulan respuestas inmunes inflamatorias. Éste TLR9 específicamente identifica y detecta ADN metilado con CpG que se encuentra generalmente en bacterias y virus de cadena doble de ADN. La estimulación de TLR9 resulta en la producción del interferón del tipo I (IFN I), caracterizándose por el efecto antiviral directo, afectando funciones celulares. A pesar de que presenta actividad antiviral, se ha evidenciado que la eliminación de los adenovirus se da principalmente por la presencia de las células NK; es decir, la respuesta inmune que presenta el organismo frente a los adenovirus estimula la activación de las células NK, que reconocen no solo una célula infectada por un virus sino células tumorales malignas generando así una respuesta frente a la patología e induciendo un sistema de respuesta al cáncer. (Pahl et al 2012)

Es evidente que se existen varias metodologías en las cuales se están trabajando para el uso de los adenovirus como terapia, unos más eficientes que otros, pero aún así siguen persistiendo las falencias de replicación, de selectividad, o incluso de acumulación en órganos generando otras patologías, inclusive otra de las soluciones ha sido inducir la respuesta inmune frente a los procesos de formación de tumores. Clínicamente su eficiencia

no es óptima, sus falencias aún impiden obtener resultados adecuados en el tratamiento de diferentes tipos de cáncer, dadas las diferentes opciones que se han empleado, varias de ellas podrían ser utilizadas de forma paralela para poder ampliar el rango de acción y los buenos resultados en cuanto se apliquen en los pacientes.

PARAMYXOVIRUSES VIRUS DE NEWCASTLE

El virus de Newcastle es uno de los principales agentes patógenos que afectan las aves de corral a nivel mundial; este virus pertenece al género Avulavirus de la familia Paramyxoviridae (Seal et al 2000), este virus se caracteriza principalmente por afectar las vías respiratorias y afecciones neuronales, lo que conlleva a la muerte. (Alexander et al 2012).

El virus condifica para 6 proteínas virales en el orden 3'-NP-P-M-F-HN-L-5' (nucleocápside (NP), fosforilación (P), matriz (M), fusión (F), neuraminidasa hemagglutinin- (HN) y ARN polimerasa dependiente de ARN (L)) y de acuerdo a su patogenicidad se divide en 3 patotipos el primero el velogénico, el segundo mesogénico y el tercero lentógena. (Schirmmacher et al 2009)

El virus de la enfermedad de Newcastle exhibe propiedades oncolíticas selectivas, haciendo que sea estudiado de manera puntual ya que afecta muchos tipos de cáncer. Uno de los estudios en los que se empleó el virus fué para tratar un glioma; un tumor canceroso del sistema nervioso central que surge a partir de las células gliales y específicamente un glioma de grado IV que se conoce como glioblastoma multiforme (GBM); se caracteriza por ser un tumor cerebral primario uno de los más comunes en adultos, de los más peligrosos y que aún no se ha identificado la cura, además del alto grado invasivo que presenta esta enfermedad. (Abdubllah et al 2014).

Rac1 es un miembro de la G-proteína monomérica GTPasas , esta proteína está implicada en la regulación de las transcripción génica y la progresión del ciclo celular (Nakada et al 2011), en el glioblastoma multiple, Rac1 es un factor clave para la supervivencia celular ,

muy probablemente a través de múltiples vías de señalización (Karpel et al 2011), regula la migración celular y la invasión (Chan et al 2005) y se ha demostrado que la supresión de Rac1 conduce a la inhibición del glioma (Senger et al 2002). Por lo tanto Rac1 es esencial para la función normal de las células, aunque cuando se inactiva de formas inadecuadas contribuye al crecimiento de las células tumorales y la invasión. (Yoshida et al 2010)

La interacción del virus Newcastle y Rac 1, se basa principalmente en la replicación preferente de NDV en las células activadas por Rac1, además se ha demostrado que Rac1 es un factor clave para la infección por NDV (Puhlmann et al 2010), otro de los métodos de interacción intrínseco ya que NDV induce la pérdida del potencial de membrana mitocondrial y la posterior liberación del citocromo c, que bajo estas condiciones induce un complejo de proteínas llamado apoptosoma, activando la caspasa 9 y de manera directa la cadena de caspasas induciendo la apoptosis. Se describió que NDV induce la activación temprana de la caspasa 9 induciendo la muerte celular.(Elankumaran et al 2006). Esto indica que NDV (lentógena) es un virus prometedor dirigido a la inhibición de la proliferación y la invasión de glioblastoma múltiple a través de su interacción con Rac1.

Dadas las características que toma el virus de Newcastle en este estudio, hay que identificar una ventaja y desventaja clave que se ven referenciados por el autor, según Senger et al. la supresión de Rac1 inhibe el glioma, siendo utilizado como una forma de terapia; pero según lo menciona Puhlmann et al. la interacción del virus de Newcastle y Rac 1 es benéfica ya que permite la infección y proliferación del virus en las células; dadas estas investigaciones resulta contradictorio indicar que el uso de Newcastle dadas estas metodologías es eficiente para el tratamiento de tumores, siendo el caso en que uno de ellos favorece el tratamiento, y por otro lado se necesita de la interacción entre Rac 1 y el virus para volver óptimo el tratamiento; sería posible que una solución oportuna para el uso de Newcastle con esta metodología es el análisis y el estudio de los efectos generados usando Rac 1 en pro del virus y la inhibición de Rac1 para inhibir el glioma, y de esta manera identificar que condición sería adecuada para emplearlo como tratamiento clínico.

Otro de los estudios en los que se ha empleado el uso del virus de Newcastle es el carcinoma hepatocelular (HCC) y el melanoma, son de alta importancia en todo el mundo ya que están situadas entre las diez primeras enfermedades más prevalentes (Markovic et al 2007), mientras el hepatoma va tener más incidencia a través del tiempo por las diferentes tendencias de salud de las personas como la hepatitis B y el aumento del alcohol (Serag et al 2003); en cambio el melanoma resulta menos incidente pero mucho más peligroso constituyendo el 75% de personas que mueren por cánceres de piel, ya que es una enfermedad incurable (Abbou et al 1981). El problema radica en que en las dos enfermedades se presenta una inmunosupresión del huésped a los antígenos de tumores, y la falta de señales co-estimuladoras de la activación de las células T (Zamarin et al 2009).

IL-2 es una citoquina pleiotrópica con importantes efectos sobre las células del sistema inmune innato, entre ellos activación y proliferación de células T y citotoxicidad, influye en la homeostasis de las células T de memoria , generación de células T específicas de antígeno entre otros. (Lippitz 2013, Boytim et al 2000). Éste gen de IL-2 se ha expresado por NDV como nueva estrategia terapéutica y los resultados han demostrado que IL-2 mejora los efectos terapéuticos de NDV estimulando el sistema inmunológico para producir las células específicas del tumor (Zamarin et al 2009), esto indica el potencial que tiene el empleo de IL-2 con el virus para el tratamiento en pacientes de hepatoma y melanoma.

La línea celular WEHI-3B murina se estableció por primera vez en 1969, mostró características semejantes a la leucemia mielomonocítica y se empleó para el estudio de la actividad citolítica in vivo de las cepas del virus de Newcastle AF2240; el efecto del virus en el sistema se midió utilizando sangre periférica, médula ósea, bazo y las poblaciones de células hepáticas. el experimento se basó en utilizar 40 ratones a los que se les fue inyectadas células de leucemia WEHI-3B, aleatoriamente se dividieron estos ratones en grupos, unos a los que se les hizo un tratamiento con una cepa de NDV AF2240, otros a los cuales se les hizo el tratamiento con esta misma cepa pero recibieron dosis de refuerzo, y por último ratones que no tuvieron tratamiento. Después de 30 días hicieron la valuación de mortalidad, evaluaron tejidos del bazo, hígado, corazón, y riñón, y se mostró que

cuando se exponen las células WEHI-3B al NDV pueden disminuir significativamente las células sanguíneas inmaduras en la sangre periférica y médula ósea, también se identificó que entre los ratones que habían recibido una sola dosis, y los que recibieron dosis de refuerzo no tenían ninguna diferencia con respecto a la concentración de células leucémicas, los ratones que no habían sido tratados con la cepa del virus murieron antes de terminar el estudio. Fue notoria que la diferencia con respecto al número de células leucémicas que presentaron los ratones que se habían tratado con el virus fue mucho menor a los ratones que no habían presentado tratamiento, las células se analizaron mediante hemocitometría y microscopía de luz. Dadas otras características adicionales como la no propagación de las células en otros órganos saludables mostraron que la cepas del virus de Newcastle son buenos agentes anti-leucémicos en líneas celulares como WEIH-3B y podrían en estudios preclínicos. (Alabsi et al 2012).

Unas las características presentadas por los pacientes que presentan patologías oncológicas es la inmunosupresión; dicho factor podría ser clave para generar una alternativa de inducción del sistema inmune del paciente, en donde el mismo organismo pudiera generar un método de defensa frente a dicha enfermedad, sin necesidad de interferir o aplicar un método mas invasivo que genere consecuencias secundarias a futuro.

Dado que el cáncer de pulmón presenta una de las tasas de mortalidad más altas del mundo y los modelos de tratamiento actualmente empleados no responden de manera efectiva y satisfactoria a los indicadores como respuestas antitumorales y supervivencia del paciente, surge la necesidad de buscar otro tipo de terapias para su manejo, estudiando el uso del virus de Newcastle específicamente ya que su tropismo natural es el tracto respiratorio (aves), entre otras características mencionadas anteriormente. Además varios estudios han demostrado que tanto en las vías extrínsecas como intrínsecas se activa la apoptosis inducida por NDV; aunque aún no es claro que si éste virus oncolítico tiene un efecto citotóxico sobre las células tumorales de pulmón con resistencia a diferentes medicamentos en este caso específico al cisplatino. En este estudio se identifico que NDV cepa FMW desencadena la apoptosis en células cancerígenas de pulmón humano (A549) resistentes a cisplatino, pero dependiente de caspasa-8 , identificada como una proteína mediadora del

proceso de apoptosis. Concluyendo de esta manera un aporte sobre el mecanismo y función de virus de Newcastle como agente atitumoral (Meng et al 2012).

En otro estudio donde se empleo también el virus de Newcastle, destacan la capacidad de generar o multiplicarse 3 horas después de las infección, a las 18 horas es posible identificar zonas macroscópicas de citólisis en monocapas de células tumorales. (Phuangsab et al 2001)

La capacidad de replicación del virus de Newcastle hace de éste un virus llamativo para el tratamiento, según lo que informa Phuangsab et al. en su estudio al evidenciarse un proceso de replicación a las 3 horas de la infección, indicaría intrínsecamente que de igual manera afectaría a las células cancerígenas rápidamente, disminuyendo la concentración de estas en el sistema del humano siendo una opción de tratamiento prometedora para su uso clínico, resulta claro indicar que tan eficiente podría ser el uso de este virus en cánceres de pulmón en donde aún manejando un protocolo de quimioterapia y radioterapia para su tratamiento siga siendo tan mortal y resistente como lo menciona Meng et al.

El ácido siálico es el receptor celular para el virus de Newcastle, ésta acido se encuentra en diversos tipos de células dentro de las cuales se puede encontrar las células cancerígenas de neuroectodermo, mesenquimatoso, y de origen epitelial; además la infección con un virus de replicación competente tiene como resultado la destrucción masiva de las células cancerígenas a las 48 y 72 horas aproximadamente. Para determinar la eficacia de NDV como agente citolítico tumoral, utilizaron xenoinjertos de tumores humanos crecidos en ratones teniendo como resultando que con una única inyección local de la cepa DNV- T causó la regresión completa y permanente de xenoinjertos de neuroblastoma y fibroblastoma; llegando a la conclusión que resulta aún más eficiente una sola inyección de mayor dosis para optimizar el proceso de citólisis (Phuangsab et al 2001)

VIRUS HERPES SIMPLE (HSV)

El virus del herpes simple tipo 1 (HSV), posee un ciclo corto de replicación, alta citopatogenicidad y neurotropismo; su acción empieza causando lesiones en los sitios mucocutáneos, oral o genital, seguido a los ganglios de la raíz dorsal donde se establece la latencia de por vida. No solo se presenta cuando hay inmunosupresión sino también se presenta en individuos inmunocompetentes, en donde la infección primaria y la reactivación pueden causar secuelas graves como encefalitis, necrosis retiniana aguda o enfermedad sistémica. Uno de los parámetros más importantes que se debe manejar cuando se realice el manejo de esta enfermedad es la producción de IFN de tipo I y de señalización para el control inmune innato de estos virus; uno de estos controles son las células dendríticas como control de HSV; aparte de estas células también se encuentran las células NK, quienes inducen la respuesta inmune innata ante HSV, sin necesidad de activación previa (Vogel et al 2014)

El virus del herpes simple al igual que los otros virus oncolíticos también presenta selectividad con respecto a las células cancerígenas, se replica, lisa las células y se propaga a las células cancerígenas adicionales. (Fulci et al 2003). Uno de los aspectos que favorece el uso de este virus es la intervención de un conjunto de toxicidades potenciales que difiere de los agentes anticancerosos estándar y lo hace especialmente útil para tratamientos combinados. (Liu et al 2008). Además el virus del herpes simple no se integra en el genoma del huésped, por lo que elimina cualquier posibilidad de que se presente mutaciones de inserción, además la replicación viral no deseada puede ser también controlada usando agentes anti-herpéticos uno de ellos es Aciclovir y ganciclovir. (Nawa et al 2003).

El uso del virus de herpes simple (HSV) en el tratamiento de tumores cerebrales en donde la esperanza de vida media es de aproximadamente 15 meses y aún no hay algún tratamiento que erradique totalmente, se ha limitado; ya que por la acción de los macrófagos y microglías se evita la replicación y la propagación del virus dentro del sistema y por tal razón evita su acción. (Friedman et al 2006).

En un estudio realizado por Zhang et al. se utilizó el HSV para el manejo e identificación de su efecto en glioblastomas (tumores cerebrales); en este tipo de enfermedad la hipervascularidad es una característica común patológica, siendo esta una diana terapéutica que puede generar soluciones, además el uso de HSV presenta actividad antiangiogénicos, favorece la extravasación de los macrófagos y el incremento de lisis celular. Dicho estudio se fundamentó en la prueba de un tratamiento basado en la combinación de oHSV con expresión de angiostatina, polipéptido antiangiogénico en dos modelos de GBM. (Zhang et al 2013).

Se evaluó la eficacia de HSV como vector para terapia antiangiogénica, una de las terapias más nuevas para el tratamiento de GBM. La teoría sugiere que armar HSV con factores antiangiogénicos mejoraría los tratamientos, ya que relacionan dos actividades la primera es la oncolítica y la segunda antiangiogénica. Dichas características se ven también fundamentadas en los datos obtenidos en otros estudios en que evidencian que los tratamientos antiangiogénicos pueden disminuir los macrófagos periféricos, aumentando la replicación y la propagación de los virus oncolíticos. Como resultado de este estudio se demostró que la combinación de dos agentes angiogénicos con diferentes mecanismos de acción producidos a través de un vector de oHSV, ofrece resultados más óptimos y eficientes que cuando solo se emplea un agente antiangiogénico. (Zhang et al 2013).

En uno de los estudios realizados con HSV-1 se aisló una cepa HF10 que se replica de manera eficiente y extensa, esta cepa carece de la capacidad invasiva neuronal y es por lo menos 10.000 veces menos virulenta comparada con la cepa salvaje de HSV-1. (Nishiyama et al 1991)

Un estudio realizado por Lambright et al 1999 propuso un método por el cual las células que están infectadas con el virus del herpes servirían como células portadoras del factor oncolítico; de esta manera se podría proteger “teóricamente” el vector viral de los efectos de anticuerpos neutralizantes. Además, estas líneas celulares podrían ser diseñadas para

mejorar la eliminación de tumores e inducir una respuesta inmune específica del tumor y como último beneficio la presencia de estas células por si solas puede tener un efecto positivo en el tumor generando una respuesta inmune infamatoria. (Lambricht et al 1999).

REOVIRUS

Este tipo de virus se caracteriza por generar en los humanos problemas en el tracto respiratorio superior y del tracto gastrointestinal, siendo asintomáticos generalmente. El ciclo de infección de los reovirus se completa con la unión viral, captación endocítica y el paso por la transmembrana y luego se produce la replicación viral (Nirbert et al 1996)

Los viriones están compuestos por cápside sin envoltura, icosaédrica con doble caparazón de proteínas, el genoma se divide en 10 segmentos de tres tamaños L,M, y S dependiendo del tamaño; esta estructura genómica ha sido uno de los factores que no ha permitido generar reovirus modificados genéticamente. (Vidal et al 2008)

La infección reoviral de las células normales conduce a la activación de la proteína quinasa R , una proteína serina / treonina quinasa que requiere la unión de ARN de doble cadena y la fosforilación para activarse, la función principal de la quinasa R es actuar como un mecanismo de defensa contra la infección viral; pero en las células diana la proteína quinasa R, sigue siendo fosforilada, esto permite la síntesis de las proteínas reoviral para continuar libremente, teniendo como resultado final la replicación del virus y la inducción de la lisis celular. (Harrington et al 2010)

El uso de los reovirus con modificaciones genéticas, como lo menciona Vidal et al 2008, no ha sido posible, pero las búsqueda de otras características a las cuales pueda responder el virus identificándose con las células diana podría ser una solución para su uso, un ejemplo claro de eso es la hipoxia, como el estudio que se realizo con los adenovirus.

VIRUS DEL SARAMPION

El virus del sarampión (MV) pertenece a la familia de Paramyxoviridae, es un virus altamente competente en la replicación y manejo del cáncer. Se ha demostrado que varias cepas tienen una actividad oncolítica eficaz, poseen efectos secundarios menores o en el mejor de los casos no presenta éstos efectos en todas las líneas celulares de cáncer, varios modelos tumorales y neoplasias, tales como cáncer de ovario, glioblastoma multiforme, meduloblastoma, cáncer de próstata, carcinoma hepatocelular , cáncer de mama, mieloma múltiple y linfoma. (Zhou et al 2012)

Se han empleado estudios de proteómica de alto rendimiento y han acelerado la exploración de los diversos procesos biológicos de las células , lo que facilita una descripción de un perfil de alteraciones en la expresión de proteínas durante la relación virus-huesped. En un estudio se realizó un análisis empleando espectrofotometría de masas (MS) que tiene como beneficio cuantificar las proteínas expresadas cuando el virus del sarampión infecta las células, además permite controlar los cambios en los niveles de proteínas estructurales del sarampión. (Zhou et al 2012). En este estudio se observó que la vacuna viva atenuada podría causar apoptosis de manera masiva en células cancerígenas de ovario, evidenciando una alteración en todo el proteoma de las células del cáncer de ovario, como por ejemplo las proteínas asociadas al estrés oxidativo (Zhou et al 2012).

En otro estudio realizado por Zhang et al. Se planteó la posibilidad de emplear varios tipos de virus con fines oncolíticos al mismo tiempo para que de esta manera la células cancerígenas se volvieran más susceptibles al ataque de varios virus de manera simultánea, haciendo aún mas efectiva la técnica. Utilizaron el virus del sarampión (MeV) , el virus paperas (MuV) y el virus de la rubeola (RV). El virus del sarampión es caracterizado por su capacidad de infectar diversos tipos de células cancerígenas a causa de la sobre-expresión de CD46, éste gen es el receptor principal utilizado para infectar varias líneas celulares de cáncer. Y el virus de las paperas tiene la capacidad de suprimir el crecimiento de varios tipos de cáncer sin causar complicaciones graves; esta combinación se denominó

MM, y tuvo como resultado del experimento que MM provocó efectos más potentes y sinérgicos in vitro, indujo el aumento del procesos de apoptosis en las células tumorales – cancerígenas mejorando de esta manera su actividad anti-tumoral, además otros experimentos mostraron que MM podría matar células leucémicas de pacientes con leucemia mieloide aguda (MLA) y que en coadministración con Arar-C un fármaco empleado para el tratamiento de leucemias producen una mayor destrucción de las células comparando con el empleo del fármaco solo. Éstos resultados indican y sugieren que MM es un candidato para el tratamiento de MLA. (Zhang et al 2014)

Otro estudio en el que se empleó el virus del Sarampión fue en los neuroblastomas (NB), tumor extracraneal sólido más común en niños, éste tipo de tumor se encuentra relacionado con los tejidos en desarrollo es decir se diagnostica durante la infancia, es un tumor del sistema nervioso; mientras que en algunos pacientes el neuroblastoma presenta un reducción de forma espontanea, aquellos que presentan metástasis no poseen un pronóstico muy positivo. Por esta razón la búsqueda de soluciones o tratamientos de alta eficiencia que permitan tratar esta enfermedad que presenta una incidencia de 10,2 / 10.000 durante 1975-2000. El uso del virus del Sarampión (MV) resulta ser una salida a considerar, éste virus entra en las células a través de la interacción de la H- glicoproteína con los receptores MT, CD150 que es una molécula de señalización de activación (SLAM) de linfocitos y CD46.

El virus del sarampión de tipo salvaje entra de manera mucho mas eficiente a través del receptor SLAM , mientras que el virus del sarampión de Edmonston entran predominantemente a la célula por medio de CD46 es una proteína cofactor de membrana que favorece específicamente a la célula como un mecanismo de protección contra la lisis; normalmente las células tumorales sobre-expresan CD46.

Se ha encontrado un receptor del virus del sarampión, nectin 4 que se ubica en las células epiteliales, dada esta carateristica éste puede ser empleado como un medio de entrada piral para cualquiera de los dos tipos de virus ya sea el salvaje o el de Edmonston.

EL virus del sarampión también posee como ventaja que puede modificarse por ingeniería genética para que tenga la capacidad de expresar eficazmente marcadores como péptidos CEA y beta HCG. El nivel de CEA en el suero ha sido empleado como un sustituto eficaz que se puede correlacionar directamente con las expresión génica viral, en otras palabras, haciendo una medición de CEA se puede determinar la expresión génica viral después del tratamiento. (Zhang et al 2012).

El uso del virus del Sarampión como el uso de otros virus tiene como ventaja el uso de varios de estos de manera simultánea con diferentes funciones al momento de replicarse en las células huésped, al ser un direccionamiento algo específico a ciertas condiciones y características diferentes resulta aún más competente la implementación de varios tipos. A veces no resulta suficiente que los virus tengan como células diana únicamente las células cancerígenas, sino que existen otro tipo de células que favorecen o sirven de promotores para la reproducción y crecimiento del tumor y proliferación de las células cancerígenas. Aunque éste resulta no ser el único método por el cual resulta favorable en uso de virus, hay otros aspectos importantes que sirven de blanco, como por ejemplo condiciones en la membrana o expresión de genes; y como último procedimiento la inducción del sistema inmune propio del organismo, resulta un método menos invasivo en donde el sistema pueda generar una respuesta a un agente patógeno y que este tenga “memoria” hacia los patógenos a los cuales está expuesto, sirviendo así como prevención a una reaparición o metástasis de la enfermedad.

CONCLUSIÓN:

Se identificaron 5 virus diferentes empleados para el tratamiento de varios tipos de cáncer, los cuales son: Adenovirus, por medio de la inducción de la respuesta del sistema inmune e implementación de ingeniería genética obteniendo resultados favorables, Herpes Simple usando ingeniería genética con expresión de factores inducibles de apoptosis teniendo como ventaja que no se integra en el genoma del huésped, Sarampión uno de los más utilizados en ingeniería genética por la capacidad de expresar eficazmente las modificaciones, Reovirus el único de los 5 estudiados que no es posible modificar genéticamente por su estructura genómica y virus de Newcastle que tiene como principal ventaja su velocidad de replicación y su uso de manera eficiente como inmunoestimulador.

A pesar de su gran variabilidad todos presentan falencias que evitan de una u otra manera que la respuesta al tratamiento de viroterapia no sea 100% efectiva, varias fueron las metodologías empleadas para optimizarlos en conjugados con el mismo virus pero con células huésped diferentes, recubrimiento del virus por proteoglicanos que evadieran la respuesta inmune, inserción directa sobre el tejido tumoral y coadyuvantes para el proceso de replicación, fueron las metodologías empleadas para facilitar los procesos terapéuticos pero ninguno de ellos ha resultado tan eficiente como para manejarlo con total prioridad frente a patologías oncológicas; es claro que la acción puede favorecer el tratamiento pero no implica un uso exclusivo aún. Por tal razón es de gran importancia el estudio constante de diversos mecanismos que permitan que el virus sea tan eficiente como para poder generar en los pacientes respuestas favorables con respecto a su enfermedad y les eviten estar expuestos a procedimientos comunes y estándar que aunque posean ciertos beneficios frente a la enfermedad son muy invasivos y generan consecuencias negativas a futuro.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbou C, Moretti J, Chopin D, Sanabria E, Msallag M, Nebout T, et al. (1981) Scintigraphy with technetium dimercaptosuccinic acid (99 m TC DMSA). Contribution to the functional assessment of individual kidneys (author's transl). *Nouv Presse Med* 10:1475–8.
- Abdullah J, Mustafa Z, Ideris A (2014) Newcastle Disease Virus Interaction in Targeted Therapy against Proliferation and Invasion Pathways of Glioblastoma Multiforme. *Hindawi Publishing Corporation* 214: 1-11
- Aghi M, Rabkin S, and Martuza RL (2006). Effect of chemotherapy-induced DNA repair on oncolytic herpes simplex viral replication. *J Natl Cancer Inst* 98:38–50.
- Alabsi A, Ali R, Ideris A, Rahman A, Hair M, Yusoff K, Manaf A (2012). Anti-leukemic activity of Newcastle disease virus strains AF2240 and V4-UPM in murine myelomonocytic leukemia in vivo. *Leukemia Research* 36: 634-645
- Alexander D, Aldous E, Fuller C (2012) The long view: a selective review of 40 years of Newcastle disease research. *Avian Pathol* 41:329–335.
- Armstrong L, Arrington A, Han J, Gavrikova T, Brown E, Yamamoto M, Vickers S, Davydova J (2012) Generation of a novel, cyclooxygenase-2–targeted, interferon-expressing, conditionally replicative adenovirus for pancreatic cancer therapy. *The American Journal of Surgery* 204:741-750.
- Boytim M, Lilly P, Drouvalakis K, Lyu SC, Jung R, Krensky A, et al. (2000) A human class II MHC-derived peptide antagonizes phosphatidylinositol 3-kinase to block IL-2 signaling. *J Clin* 105:1447–53.

- Chan Y, Coniglio S, Chuang Y et al (2005) Roles of the Rac1 and Rac3 GTPases in human tumor cell invasion. *Oncogene* 24:7821–7829.
- Choi J, Lee J, Wan S, Yun C (2012) Evolution of oncolytic adenovirus for cancer treatment. *Advance Drug Delivery Reviews* 64:720-729.
- Cokkinides V, Siegel R, Jemal A (2012) Datos y estadísticas sobre el cáncer entre los Hispanos / Latinos 2012- 2014 <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@epidemiologysurveillance/documents/document/acspc-036792.pdf> Consultado 15 de Noviembre de 2014
- Elankumaran S, Rockemann D, Samal S (2006) Newcastle disease virus exerts oncolysis by both intrinsic and extrinsic caspase-dependent pathways of cell death. *Journal of Virology* 80: 7522–7534.
- Folberg R, Arbieva Z, Moses J, Hayee A, Sandal T, Kadkol S, Lin A, ValyiNagy K, Setty S, Leach L, Chavez P, Larsen P, Mujamdar D, Pe'er J, Maniotis J (2006) Tumor cell plasticity in uveal melanoma: microenvironment directed dampening of the invasive and metastatic genotype and phenotype accompanies the generation of vasculogenic mimicry patterns. *Am. J. Pathol.* 169:1376- 1389.
- Fulci G and Chiocca EA (2003). Oncolytic viruses for the therapy of brain tumors and other solid malignancies: a review. *Front Biosci* 8: 346–360.
- Friedman A, Tian J, Fulci G, Chiocca E, Wang J (2006). Glioma viro- therapy: effects of innate immune suppression and increased viral replication capacity. *Cancer Res* 66: 2314–2319.
- Harrington K, Vile R, Melcher A, Chester J, Pandha H (2010) Clinical trials with oncolytic reovirus: Moving beyond phase i into combinations with standard therapeutics. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 21:91-98

- Jiang H, McCormick F, Lang F, Gomez C, Fueyo J (2006) Oncolytic adenoviruses as antiangioma agents, *Expert. Rev. Anticancer Ther.* 6: 697–708.
- Jin F, Xie Z, Kuo C, Chung L, Hsieh C (2005) Cotargeting tumor and tumor endothelium effectively inhibits the growth of human prostate cancer in adenovirus-mediated antiangiogenesis and oncolysis combination therapy. *Cancer Gene Ther* 12 :257–267.
- Karpel G, Halatsch M (2011) The molecular basis of resistance to the antiproliferative effect of EGFR inhibition in human glioblastoma multiforme cell lines. *Current and Emerging Therapeutic Strategies* 245–252
- Koskela J, Haikkilä J, Hinkkanen A (2007) Oncolytic viruses in cancer therapy. *Cancer Letters* 254:178-216
- Kwon O, Kang E, Choi J, Kim S, Yun C (2013) Therapeutic targeting of chitosan–PEG–folate-complexed oncolytic adenovirus for active and systemic cancer gene therapy. *Journal of Controlled Release* 169:257-265
- Lippitz B (2013) Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review. *Lancet Oncol* 14:218–28.
- Liu TC, Castelo P, Rabkin S, Martuza R (2008). Trichostatin A and oncolytic HSV combination therapy shows enhanced antitumoral and antiangiogenic effects. *Mol Ther* 16:1041–1047.
- Markovic S, Erickson L, Rao R, Weenig R, Pockaj B, Bardia A, et al. (2007) Malignant melanoma in the 21st century, part 1: epidemiology, risk factors, screening, prevention, and diagnosis. *Mayo Clin Proc* 82:364–80

- Meng S, Zhou Z, Chen F, Xiangang K, Liu H, Jiang K, Liu W, Hu M, Zhang X, Ding C, Wu Y (2012). Newcastle disease virus induces apoptosis in cisplatin-resistant human lung adenocarcinoma A549 cells in vitro and in vivo. *Cancer letters*. 317:56-64
- Nagano S, Perentes J, Jain R, Boucher Y (2008) *Cancer Res.* 68 :3795– 3802.
- Nakada M, Kita D, Watanabe T et al (2011) Aberrant signaling pathways in Glioma *Cancers* 3:3242–3278.
- Nawa A, Nozawa N, Goshima F, Nagasaka T, Kikkawa F, Niwa Y, et al. (2003) Oncolytic viral therapy for human ovarian cancer using a novel replication-competent herpes simplex virus type I mutant in a mouse model. *Gynecol Oncol* 91:81- 8.
- Nieuwenhuijze A, Koenders M, Roeleveld D, Sleeman M, Berg W, Wicks I. (2013) GM-CSF as a therapeutic target in inflammatory diseases. *Molecular Immunology* 56: 675-682
- Nirbert M, Schiff L , Fields B (1996) Reoviruses and their replication, in: B.N. Fields, D.M. Knipe, P.M. Howley (Eds.), *Fundamental Virology*, third ed., *Lippincott-Raven Publishers*.
- Nishiyama Y, Kimura H, Daikoku T (1991) Complementary lethal invasion of the central nervous system by non-neuroinvasive herpes simplex virus types 1 and 2. *J. Viron* 65 : 4520-4524.
- Okuno Y, Asada T, Yamanishi K, Otsuka T, Takahashi M, Tanioka T, Aoyama H, Fukui O, Matsumoto K, Uemura F, Wada A (1998), Studies on the use of mumps virus for treatment of human cancer. *Biken* 21:37–49

- Pahl J, Verhoeven D, Kwappenberg K, Vellinga J, Lankester A, Van M, Schilham M . (2012) Adenovirus type 35, but not type 5, stimulates NK cell activation via plasmacytoid dendritic cells and TLR9 signaling. *Molecular Immunology* 51:91-100
- Organización Panamericana de la Salud (2014) http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=category&layout=blog&id=1866&Itemid=3904&lang=es 15 de Noviembre de 2014
- Phuangsab A, Lorence R, Reichard K, Peeples M, Walter R (2001). Newcastle disease virus therapy of human tumor xenografts: antitumor effects of local or systemic administration. *Cancer Letters*. 172:27-36
- Puhlmann F, Puehler D, Mumberg P, Boukamp, Beier R. (2010) Rac1 is required for oncolytic NDV replication in human cancer cells and establishes a link between tumorigenesis and sensitivity to oncolytic virus. *Oncogene* 29: 2205–2216.
- Roizman B, Gu H, Mandel G (2005) The first 30 min in the life of a virus: unrest in the nucleus. *Cell Cycle* 4, 8.
- Romero R (2007). Microbiología y parasitología humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. (ed) Médica Panamericana Pp 197
- Savontaus M, Sauter B, Huang T, Woo S (2002) Transcriptional targeting of conditionally replicating adenovirus to dividing endothelial cells. *Gene Ther.* 9 : 972–979.
- Seal B, King D, Meinersmann R (2000) Molecular evolution of the Newcastle disease virus matrix protein gene and phylogenetic relationships among the paramyxoviridae. *Virus Research* 66: 1–11

- Senger D, Tudan C, Guiot M et al.(2002) Suppression of Rac activity induces apoptosis of human glioma cells but not normal human astrocytes. *Cancer Research*. 62:2131–2140
- Serag H, Davila J, Petersen N, McGlynn K. (2003) The continuing increase in the incidence of hepatocellular carcinoma in the United States: an update. *Ann Intern Med* 139:817–23
- Schirmacher V, Fournier P (2009) Newcastle disease virus: a promising vector for viral therapy, immune therapy, and gene therapy of cáncer. *Methods in Molecular Biology* 542:565–605
- Shors T (2009) Virus: Estudio molecular con orientación clínica: 1ra Edición. Médica Panamericana. Buenos Aires.
- Vidal L, Pandha H, Yap T, White C, et al (2008) Clin Cancer Res. 14: 7127–7137
- Vogel K, Thomann S, Vogel B, Schuster P, Schmidt B (2014) Both plasmacytoid dendritic cells and monocytes stimulate natural killer cells early during human HSV-1 infections.
- Yoshida T, Zhang Y, Rosado L et al (2010) Blockade of Rac1 activity induces G1 cell cycle arrest or apoptosis in breast cancer cells through downregulation of cyclin D1, survivin, and X-linked inhibitor of apoptosis protein. *Molecular Cancer Therapeutics* 9:1657–1668.
- Zamarin D, Vigil A, Kelly K, Garcia-Sastre A, Fong Y. (2009) Genetically engineered Newcastle disease virus for malignant melanoma therapy. *Gene Ther* 16:796–804.

- Zhang L, Cheng D, Jeyasekharan A, Son W, Son A, Ichiyama K, Ye M, Pang B, Ohba K, Liu X, Mel S, Cuong B, Joo W, Ryo A, Suzuki Y, Yeoh K, Toan N, Yamamoto N (2014). Combination of vaccine-strain measles and mumps virus synergistically kills a wide range of human hematological cancer cells: Special focus on acute myeloid leukemia. *Cancer letters* 354:272-280
- Zhang S, cai W, Zhang Y, Jiang K, Zhang Ke, Wang W (2012). Engineered measles virus Edmonston strain used as a novel oncolytic viral system against human neuroblastoma through a CD46 and nectin 4-independent pathway. *Cancer letters* 325:227-237
- Zhang W, Fulci G, Wakimoto H, Cheema T, Buhrman J, Jeyaretna D, Stemmer A, Rabkin S, Martuza R (2013). Combination of Oncolytic Herpes Simplex Viruses Armed with Angiostatin and IL-12 Enhances Antitumor Efficacy in Human Glioblastoma Models. *Neoplasia*. 15:591-599
- Zhou S, Li Y, Huang F, Zhang B, Yi T, Li Z, Luo H, He X, Zhong Q, Bian C, Lin X, Qi X, Liu P, Huang C, Zhao X, Wei Y (2012) Live-attenuated measles virus vaccine confers cell contact loss and apoptosis of ovarian cancer cells via ROS-induced silencing of E-cadherin by methylation. *Cancer letters*. 318:14-25