



Revista de la Facultad de Medicina

ISSN: 2357-3848

ISSN: 0120-0011

Universidad Nacional de Colombia

Guerrero-Fonseca, Carlos Arturo; López-Baquero,
Miguel Andrés; Bedoya-Rodríguez, Angie Andrea

Virus oncolíticos: un arma contra el cáncer

Revista de la Facultad de Medicina, vol. 67, núm. 2, 2019, Abril-Junio, pp. 313-324

Universidad Nacional de Colombia

DOI: 10.15446/revfacmed.v67n2.68347

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=576364238019>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

UNEN
redalyc.org

Sistema de Información Científica Redalyc

Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso
abierto

ARTÍCULO DE REVISIÓN

DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v67n2.68347>

Virus oncolíticos: un arma contra el cáncer

Oncolytic viruses: a weapon against cancer

Recibido: 16/10/2017. Aceptado: 07/01/2018.

Carlos Arturo Guerrero-Fonseca¹ • Miguel Andrés López-Baquero¹ • Angie Andrea Bedoya-Rodríguez¹¹ Universidad Nacional de Colombia - Sede Bogotá - Facultad de Medicina - Departamento de Ciencias Fisiológicas - Unidad de Bioquímica - Laboratorio de Biología Molecular de Virus - Bogotá D.C. - Colombia.

Correspondencia: Carlos Arturo Guerrero-Fonseca. Departamento de ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia. Carrera 30 No. 45-03, edificio 471, oficina: 412. Teléfono: +57 1 3165000, ext.: 15053. Bogotá D.C. Colombia. Correo electrónico: caguerrero@unal.edu.co.

| Resumen |

Introducción. Los virus oncolíticos son virus atenuados, mutados o que por naturaleza se dirigen y matan específicamente células tumorales, sin afectar a las células normales. La administración intratumoral del virus ofrece la oportunidad de tratar el tumor primario pero no focos metastásicos, los cuales pueden ser alcanzados mediante la administración intravenosa. Sin embargo, su eficiencia puede disminuir por la presencia de una respuesta inmunológica preexistente en los sujetos tratados.

Objetivo. Exponer las técnicas utilizadas para envolver y transportar los virus con el fin de eludir el sistema inmunológico antes de que el virus llegue al tumor.

Materiales y métodos. Se realizó una búsqueda narrativa de la literatura original y de revisión en las bases de datos PubMed, JSTOR y EBSCO sobre métodos o técnicas utilizadas para el tratamiento del cáncer mediante el uso de virus oncolíticos.

Resultados. La formación de nanocomplejos entre los virus oncolíticos y biopolímeros —ya sea mediante la unión química o mediante la unión a través de interacciones electrostáticas o el uso de micropartículas, células transportadoras, liposomas, ultrasonido o terapias combinadas— es eficaz para evitar la respuesta inmunológica del huésped contra el virus.

Conclusión. Para evitar la respuesta inmunológica del huésped contra los virus oncolíticos se han desarrollado diversos métodos que permiten la liberación controlada y específica de los mismos. Sin embargo, debido a la diversidad de los virus, se debe tener en cuenta que la eficacia de los métodos de protección y transporte depende de las características bioquímicas tanto del biomaterial como del virus.

Palabras clave: Virus oncolíticos, Viroterapia oncolítica, Neoplasias (DeCS).

| Abstract |

Introduction: Oncolytic viruses are attenuated, mutated, or naturally occurring viruses that specifically kill tumor cells without affecting normal cells. Intratumoral administration of the virus offers the opportunity to treat the primary tumor but not metastatic foci, which can be done through intravenous administration. However, its efficacy may be reduced by the presence of a pre-existing immune response in treated subjects.

Objective: To present the techniques used to wrap and transport viruses in order to bypass the immune system before the virus reaches the tumor.

Materials and methods: A narrative search of original and review literature was conducted in the PubMed, JSTOR and EBSCO databases on methods or techniques used for the treatment of cancer using oncolytic viruses.

Results: The formation of nanocomplexes between oncolytic viruses and biopolymers —either by chemical binding or electrostatic interactions, or cell-derived microparticles, carrier cells, liposomes, ultrasound or combination therapies— is effective in preventing the host's immune response against the virus.

Conclusion: Different methods that depend on the type of oncolytic virus have been developed to increase the efficacy of the therapeutic response. Controlled and specific-release virus delivery systems have been developed to avoid the immune response against them. However, due to the diversity of viruses, it should be borne in mind that the effectiveness of protection and transport methods depends on the biochemical characteristics of both the biomaterial and the virus.

Keywords: Oncolytic Viruses; Oncolytic Virotherapy; Neoplasms (MeSH).

Guerrero-Fonseca CA, López-Baquero MA, Bedoya-Rodríguez AA. Virus oncolíticos: un arma contra el cáncer. Rev. Fac. Med. 2019;67(2):313-24. Spanish. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v67n2.68347>.

Guerrero-Fonseca CA, López-Baquero MA, Bedoya-Rodríguez AA. [Oncolytic viruses: a weapon against cancer]. Rev. Fac. Med. 2019;67(2):313-24. Spanish. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v67n2.68347>.

Introducción

Los virus oncolíticos son partículas que infectan y lisan las células cancerosas, pero no las células normales. Se pueden presentar de forma natural (con genoma RNA) o pueden modificarse en el laboratorio (con genoma DNA); asimismo, pueden facilitar la destrucción de las células tumorales cuando se administran solos o junto con quimioterapia o radioterapia. La mayoría de estos virus matan directamente las células tumorales del hospedero dependiendo de la afinidad por el receptor celular, la replicación viral y la respuesta antiviral de la célula y del hospedero. Este tipo de tratamiento permite que se activen las células dendríticas y las células asesinas naturales (NK, por su sigla en inglés) para promover citotoxicidad en el tumor (1-3).

Los virus oncolíticos se estudian primero *in vitro*, en líneas tumorales, luego *in vivo*, en modelos animales, y por último en pacientes humanos. Cuando el tumor primario es de fácil acceso o susceptible a la inyección puede utilizarse la administración intratumoral (IT), pero esta aplicación se dificulta en los focos metastásicos. Para alcanzar el tumor primario y las metástasis, la alternativa es aplicar el virus por vía intravenosa (IV). No obstante, su eficiencia podría estar limitada, como se ilustra en la Figura 1, por la presencia de una respuesta inmunológica preexistente en los sujetos tratados debido a infecciones virales previas o por anticuerpos emergentes durante el tratamiento con el virus oncolítico; los virus también pueden ser neutralizados por la unión no específica a las proteínas del suero y células circulantes del torrente sanguíneo o por órganos no específicos que eliminan el virus del torrente sanguíneo como el hígado y la matriz pericelular y tumoral que atrapa el virus.

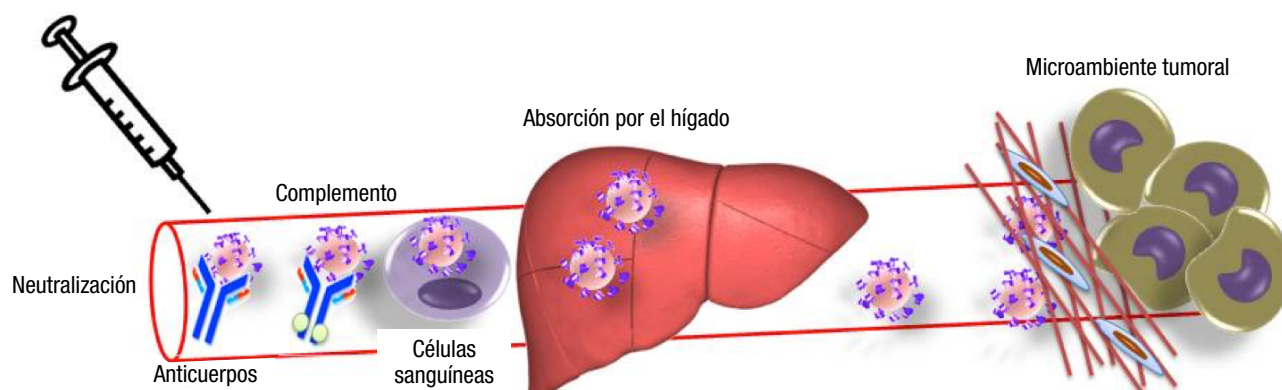


Figura 1. Barreras a las que se enfrenta un virus oncolítico por vía IV.

Fuente: Elaboración con base en Roy & Bell (4).

Debido a lo anterior, se han desarrollado métodos que faciliten la llegada del virus al tumor, y que, a su vez, permitan que el virus pueda reactivar el sistema inmunológico antitumoral mediante la expresión de antígenos virales en las células tumorales o por la liberación de antígenos tumorales luego de la lisis celular.

Los tratamientos convencionales como la radioterapia y la quimioterapia no han mostrado por sí solos resultados óptimos en el tratamiento contra el cáncer, por tal motivo han surgido alternativas de tratamiento como los virus oncolíticos. La comunidad médica y la población en general conocen a los virus como agentes causales de enfermedades, pero saben muy poco sobre su potencial uso contra el cáncer. Por esto, es importante conocer los virus oncolíticos existentes y los diferentes métodos que se emplean para evitar su neutralización antes de que lleguen al tumor para determinar los avances y la seguridad del tratamiento. Por lo tanto, esta revisión busca exponer las técnicas utilizadas para envolver y transportar los virus con el fin de eludir el sistema inmunológico antes de que el virus llegue al tumor. Para entender esto, es necesario hacer un repaso de algunos virus que en la actualidad están siendo utilizados como virus oncolíticos.

Materiales y métodos

Se realizó una búsqueda sistemática de literatura original y de revisión para publicaciones en inglés hechas entre 1990 y 2017. La búsqueda se hizo en las bases de datos PubMed, JSTOR y EBSCO sobre métodos o técnicas utilizadas para el tratamiento del cáncer mediante el uso de virus oncolíticos utilizando las palabras claves "Oncolytic Viruses", "Oncolytic Virotherapy", "Neoplasms", "application oncolytic virus", "tumour targeting", "viral vector cancer therapy".

Los criterios de inclusión en la búsqueda de literatura fueron que el aspecto central de la literatura estuviera representado por el uso de virus silvestres o modificados utilizados para el tratamiento del cáncer, que su tema fuera sobre técnicas utilizadas para envolver el virus y eludir de esta manera el sistema inmunológico antes que el virus llegue al tumor y que hicieran mención sobre los métodos utilizados para aplicar el virus al paciente y hacer que este alcance el tumor; también se incluyeron propuestas de modelos para aplicar los virus oncolíticos en el tratamiento del cáncer. Como criterio de exclusión se tuvo en cuenta la literatura en cuyos modelos experimentales no se realizaron ensayos *in vivo*. La Figura 2 muestra el flujograma de los artículos encontrados en la revisión.

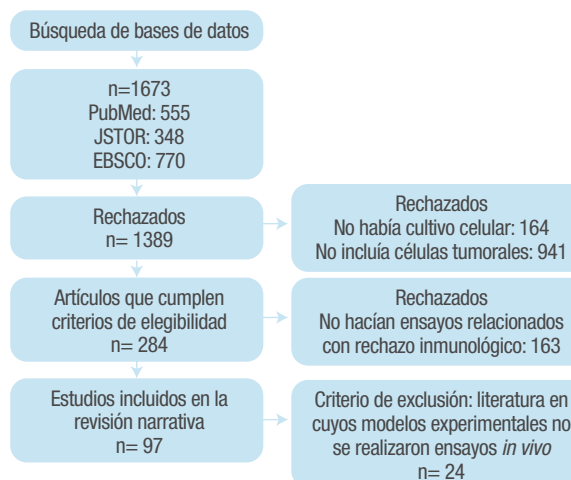


Figura 2. Flujograma de búsqueda.

Fuente: Elaboración propia.

Resultados

Se encontraron 1 673 artículos, de los cuales se eliminaron 1 576 por no cumplir con los criterios de elegibilidad, 163 porque no estaban relacionados con rechazo inmunológico y 24 porque no incluían

experimentos realizados *in vivo*. Esta revisión narrativa contó con un total de 97 estudios, los cuales fueron artículos originales en inglés, realizados en diversas partes del mundo y que utilizaban estrategias para envolver y transportar virus oncolíticos para eludir la respuesta inmunológica (Tabla 1). El virus más estudiado hasta la fecha fue el adenovirus (Ad).

Tabla 1. Estrategias empleadas para envolver y transportar virus oncolíticos.

Estudio	Estrategia utilizada		Tipo de virus	Modelo	Conclusiones
Kim <i>et al.</i> (5), 2013	Polímeros	Metoxi poli (etilenglicol)-b-poli {N-[N-(2-aminoetil) -2-aminoetil] -L-glutamato (PNLG), un polímero catiónico y biodegradable conjugado con polietilenglicol (PEG).	Ad	<i>In vitro</i> e <i>in vivo</i> (murino)	El Ad recubierto con polímero PNLG exhibió una mayor eficiencia de transducción, lo que resultó en un mejor efecto oncolítico y producción viral. El complejo Ad/PNLG mostró una estabilidad relativamente alta a 37°C y formó el tamaño óptimo (aproximadamente 130nm) para la aplicación <i>in vivo</i> . Además, se observó una notable supresión del crecimiento tumoral después de la administración sistémica del complejo Ad/PNLG y logró evadir la respuesta inmunitaria del huésped.
Jung <i>et al.</i> (6), 2015		mPEG-PEI-g-Arg-S-S-Arg-g-PEI-mPEG (PPSA)	Ad	<i>In vitro</i> e <i>in vivo</i> (murino)	El complejo PPSA/Ad le permitió al virus evadir las respuestas inmunitarias tanto innatas como adaptativas contra Ad, lo que implica que el nanocomplejo puede utilizarse para el tratamiento sistémico multidosis. Además, el complejo mostró una mayor eficiencia de transducción en las células cancerosas que no expresaban receptor de adenovirus y coxsackievirus. La formación del complejo Ad/PPSA es un proceso relativamente fácil y simple porque las interacciones electrostáticas estabilizan el complejo.
Price <i>et al.</i> (7), 2016		Polímero de proteína similar a la elastina de seda (SELP), copolímero diseñado genéticamente que consiste en repeticiones peptídicas de unidades tipo seda (GAGAGS) y tipo elastina (GVGVVP).	Virus vaccinia (GLV-1h68)	<i>In vitro</i> e <i>in vivo</i> (murino)	El uso de la matriz SELP para la administración viral oncolítica intraoperatoria protegió a las partículas virales infecciosas de la degradación, facilitó la administración viral sostenida y la expresión del transgen y controló el crecimiento del tumor.
Ran <i>et al.</i> (8), 2016	Micropartículas	Micropartículas (MP) derivadas de tumor (T-MP)	Ad	<i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> (murino)	Las T-MP transportaron y liberaron Ad oncolíticos para atacar y matar de manera eficiente las células cancerosas <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> . Se evadió el reconocimiento por anticuerpos y se midió la entrada del virus en células tumorales independiente del receptor específico del virus, lo que promovió la entrada del Ad en el núcleo de la célula tumoral comparado con el virus libre. Sin embargo, el uso de T-MP como un sistema de administración de virus oncolítico necesita una mayor comprensión del mecanismo por el cual logra los efectos antitumorales.
Raykov <i>et al.</i> (9), 2004	Células transportadoras	Células de cáncer hepático MH3924A de rata	Parvovirus	<i>In vitro</i> e <i>in vivo</i> (murino)	Comparado con la inyección directa del virus, el uso de la célula transportadora del virus condujo a un efecto terapéutico mejorado (supresión de metástasis) y una generación menor de anticuerpos neutralizantes contra virus.
Fujiwara <i>et al.</i> (10), 2011		Células mesoteliales peritoneales humanas (MCs)	Virus del herpes simple (HSV)	<i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> (murino)	Las MCs peritoneales humanas son útiles como células transportadoras del HSV oncolítico en el tratamiento del cáncer de ovario diseminado peritonealmente. Estas células transportadoras infectadas con el virus tienen la capacidad única de replicar y liberar el virus en el momento de la entrega en el sitio del tumor. Además, esta estrategia permitió que el HSV oncolítico escapara de la neutralización por anticuerpos y el complemento, y luego transfiriera el virus a las células tumorales mediante la fusión de células <i>in situ</i> .
Adair <i>et al.</i> (11), 2012		Células mononucleares de sangre periférica (PBMC)	Reovirus	<i>In vivo</i> (humano)	Las células protegieron el reovirus, ya que este pudo acceder y replicarse específicamente en los tumores de pacientes a pesar de la presencia de anticuerpos neutralizantes.
Ong <i>et al.</i> (12), 2013		Células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea (BM-hMSCs)	Virus del sarampión	<i>In vitro</i> e <i>in vivo</i> (murino)	El sistema de administración basado en células BM-hMSCs infectadas con el virus del sarampión proporciona una estrategia factible para eludir la respuesta inmunológica contra el virus.
Martínez-Quintanilla <i>et al.</i> (13), 2015		Células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo humano (MSC) cargadas con el virus y encapsuladas en matriz extracelular sintética (sECM)	Ad de replicación condicional que expresa hialuronidasa soluble (ICOVIR17)	<i>In vitro</i> e <i>in vivo</i> (murino)	Las células transportadoras de ICOVIR17 ejercieron un potente efecto antitumoral en los tumores de glioblastoma multiforme (GBM) establecidos y derivados del paciente. El complejo sECM-MSC-ICOVIR17 exhibió un efecto terapéutico en los GBM resecados, lo que sugiere eficacia terapéutica.
Yang <i>et al.</i> (14), 2010	Liposomas	1,2-distearoil-sn-glicerol-3-fosfoetanolamina-N- [metoxi (polietilenglicol)]-2000 (PEG-PE), liposoma catiónico compuesto de dioleoil-trimetilaminopropano (DOTAP), 1,2-dioleoil-3-fosfatidiletanolamina y PEG-PE	Ad	<i>In vitro</i> e <i>in vivo</i> (murino)	La terapia génica anti-angiogénesis mediada por Ad basada en liposomas PEG-PE se puede utilizar para inhibir el crecimiento del cáncer de ovario y el liposoma puede sinergizarse con la endostatina.

Ad: adenovirus.

Fuente: Elaboración propia.

Discusión

Para desarrollar las distintas estrategias utilizadas para envolver y transportar los virus con el fin de eludir el sistema inmunológico antes de que el virus llegue al tumor, las diferentes investigaciones han conjugado complejos a la superficie de los virus, como anticuerpos, factores de crecimiento y pequeños péptidos. Sin embargo, este tipo de estrategias solo han dado una modesta eficacia antitumoral, en gran parte debido a que no cubren todas las heterogéneas morfologías celulares, fenotipos, propiedades y patrones de expresión de antígeno, propios

de los tejidos tumorales. De esta forma, se han generado diferentes estrategias para evitar la neutralización de los virus oncolíticos por el sistema inmunológico. Sin embargo, previo a la descripción de dichas estrategias, es importante conocer los virus oncolíticos estudiados en la actualidad.

Virus oncolíticos

Existen diferentes tipos de virus modificados o no genéticamente que han sido utilizados en la terapia oncolítica (Tabla 2).

Tabla 2. Virus oncolíticos estudiados en la actualidad.

Virus		Fabricante	Modificación	Numero de ensayos clínicos			Tumores
				Fase I	Fase II	Fase III	
Adenovirus	Onyx-015	Onyx Pharmaceuticals	Tipo 2/5 quimera, delección E1B	6	6	0	Cáncer de cabeza y cuello, de páncreas, de ovario, colorrectal, gliomas, metástasis
	H101	Shanghai Sunwaybio	Delección E1B, delección parcial E3	1	2	1	Carcinoma de células escamosas y cáncer de cabeza y cuello
	DNX-2401	DNAtrix	Inserción Δ 24-RGD	4	0	0	Gliosblastoma, cáncer de ovario
	VCN-01	VCN Biosciences	Inserción hialuronidasa PH20	2	0	0	Cáncer de páncreas
	Colo-Ad1	PsiOxus Therapeutics	Químico Ad11/3 grupo B	1	2	0	Cáncer de colon, NSCLC, cáncer renal, de vejiga, de ovario
	ProstAtak	Advantagene	Inserción TK	4	1	1	Cáncer de páncreas, de pulmón, de mama, mesotelioma y cáncer de próstata
	Oncos-102	Oncos Therapeutics	Inserción Δ 24-RGD-GM-CSF	1	0	0	Cánceres sólidos
	CG0070	Cold Genesys	Delección GM-CSF y E3	1	1	1	Cáncer de vejiga
Vaccinia virus	Pexa-vac (JX-594)	Jennerex Biotherapeutics	Inserción GM-CSF, disrupción TK	7	6	0	Melanoma, cáncer hepático, de mama, colorrectal y carcinoma hepatocelular
	GL-ONC1	Genelux	Disrupción TK, disrupción de hemaglutinina, disrupción F14.5L	4	1	0	Cáncer de pulmón, de cabeza y cuello y mesotelioma
Herpes virus	T-VEC	Amgen	Delección de ICP34.5, delección US11, inserción GM-CSF	2	3	2	Melanoma, cáncer de cabeza y cuello y de páncreas
	G207	Medigene	Delección ICP34.5, disrupción UL39	3	0	0	Glioblastoma, cáncer de ovario
	HF10	Takara Bio	Delección UL56, seleccionado para una copia parcial única de UL52	2	1	0	Cáncer de mama, melanoma y cáncer de páncreas
	SEPREHVIR (HSV1716)	Virttu Biologics	Delección ICP34.5	5	1	0	Carcinoma hepatocelular, glioblastoma, mesotelioma, neuroblastoma
	OrienX010	OrienGene Biotechnology	Delección ICP34.5, delección ICP47 e inserción GM-CSF	1	0	0	Glioblastoma
Reovirus	Reolysin	Oncolytics Biotech	Ninguna	15	9	0	Glioma, sarcomas, cáncer colorrectal, NSCLC, cáncer de ovario, melanoma, cáncer pancreático, de cabeza y cuello, mieloma múltiple
Seneca valley virus	SVV-001	Neotropix	Ninguna	3	1	0	Tumores neuroendocrinos, neuroblastoma y cáncer de pulmón
Coxsackievirus	Cavatak (CVA21)	Viralytics	Ninguna	3	1	0	Melanoma, cáncer de mama y próstata
Poliovirus	PVS-RIPO	Istari Oncology	Reemplazo del sitio de entrada interno del ribosoma (IRES) con un IRES del rinovirus tipo 2 humano (HRV2)	3	1	0	Glioblastoma multiforme (5-7).

GM-CSF: Factor estimulador de colonias monocito-macrófago; NSCLC: cáncer de pulmón de células no pequeñas; RGD: Arg-Gly-Asp motif; TK: timidina quinasa; US11: glicoproteína corta única 11.

Fuente: Elaboración con base en Kaufman *et al.* (15), Buijs *et al.* (16) y Brown *et al.* (17).

En el Laboratorio de Biología Molecular de Virus de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia se han realizado estudios en los cuales se encontró que cepas rotavirales aisladas en el

laboratorio infectan y lisan las líneas celulares Sp2/0-Ag14 cells (mieloma de ratón), U-937 (linfoma histiocítico), REH (leucemia linfocítica aguda), Kato III (carcinoma gástrico), MCF-7 (adenocarcinoma de mama), PC-3

(adenocarcinoma grado IV de próstata) y A549 (carcinoma de pulmón humano), lo que sugiere que las cepas estudiadas son potenciales virus oncolíticos (18).

Adicional a los estudios *in vitro*, se han estudiado los rotavirus en un modelo *in vivo* en tumores generados inoculando subcutáneamente células SP2/O-Ag14 en ratones Balb/c, en lo denominado tumores alogénicos. En este modelo se ha aplicado el virus en forma directa o intratumoral. Los resultados indican que el rotavirus oncolítico infecta, lisa las células tumorales y detiene el crecimiento tumoral. De igual forma se ha demostrado que el rotavirus oncolítico infecta células tumorales extraídas de tumores procedentes de cáncer gástrico, de ovario y de leucemia linfoblástica aguda. La metodología en general está siendo patentada por la Universidad Nacional de Colombia en la actualidad.

Métodos y técnicas utilizadas para envolver los virus con el fin de eludir el sistema inmunológico

El modelo más utilizado para estudiar los virus oncolíticos es el ratón atímico, que permite implantar células tumorales de origen humano para generar el tumor (xenotrasplante) y luego administrar el virus intratumoral o endovenoso.

Se han propuesto dos mecanismos para evitar la neutralización de los virus oncolíticos, uno modificando genéticamente los epítopes inmunogénicos en los virus y otro creando un escudo o blindaje que permita envolver el virus y ocultarlo del sistema inmunológico.

Dentro de la estrategia de envolver los virus están los denominados nanocomplejos. En este punto es importante recordar que se define como nanopartículas aquellas partículas que están entre 1 y 100 nanómetros de tamaño; los de mayor tamaño, en general, se definen como nanocomplejos. Los virus poseen tamaños que van desde los 20nm hasta los 300nm; la mayoría está en el rango de 100nm y, por lo general, cuando se les incorpora diferentes materiales —ya sean proteínas, polímeros, entre otros— sobrepasan su tamaño promedio.

En términos generales, se puede resumir la estrategia de la siguiente manera:

1. Formación de nanocomplejos mediante la unión química o mediante la unión a través de interacciones electrostáticas entre biopolímeros y virus oncolíticos, tales como a) complejos conjugados a la superficie de los virus a través de moléculas de polietilenglicol (PEG), como anticuerpos, factores de crecimiento y pequeños péptidos (19-24) y b) unión, mediante interacciones electrostáticas, entre el virus (específicamente Ad) y polímeros cargados positivamente como polyethylenimine (PEI), poly(disulfide amine) (ABP), poly(amidoamine) (PAMAM), chitosan, methoxy poly(ethylene glycol)-b-poly{N-[N-(2-aminoethyl)-2-aminoethyl]-L-glutamate (PNLG), methoxy poly(ethylene glycol)-b-poly(L-histidine)-poly(L-phenylalanine) (PEGbPHF), mPEG-PEI-g-Arg-S-S-Arg-g-PEI-mPEG (Ad/PPSA), N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide (HPMA), N-(2-Hydroxypropyl)-2-methyl-prop-2-enamide (HPMA) (5-6,25-49).
2. Vesículas subcelulares especializadas, con tamaños entre 0.1µm a 1mm y denominadas micropartículas (MP) (8).
3. Células transportadoras o “carrier cell” (9, 50-66).
4. Liposomas que permitan la encapsulación del virus (41,14).
5. Ultrasonido (40,67-71).

Biopolímeros

Para desarrollar esta estrategia, en términos generales se han conjugado anticuerpos, factores de crecimiento y pequeños péptidos a la superficie de los virus mediante moléculas de PEG (19-24). Sin embargo, este tipo

de estrategia no ha sido muy eficiente y un ejemplo de ello fue la unión de un anticuerpo monoclonal (Herceptin) mediante PEG a la superficie del Ad. El Herceptin se une de manera específica al receptor HER2/neu y se utiliza ampliamente para tratar el cáncer de mama tanto temprano como metastásico. Sin embargo, HER2/neu solo se sobreexpresa en el 20-30% de los pacientes con cáncer de mama (19), por lo que la estrategia basada en Herceptin es ineficaz en muchos casos.

La estrategia para modificar la superficie de los virus oncolíticos mediante interacciones electrostáticas entre el virus y polímeros cargados positivamente —tales como ABP (25), polyethylenimine (26), poly(amido amine) (27), chitosan (28) o methoxy poly(ethylene glycol)-b-poly{N-[N-(2-aminoethyl)-2-aminoethyl]-L-glutamate} (5)— ha sido descrito para Ad, que posee la superficie viral cargada negativamente. Estos complejos generan cargas positivas dadas por el polímero, que permite interaccionar con las membranas celulares cargadas negativamente mejorando la internalización.

El recubrimiento con el polímero catiónico permite disociar con facilidad el material en los endosomas, liberando de manera efectiva los Ad a través del efecto esponja de protones (29). Por ejemplo, el ABP, que tiene enlaces disulfuro reducibles en la cadena principal y mejora en gran medida la eficacia del ingreso del Ad a la célula, aunque reduce la citotoxicidad del virus (25). Un problema es que los complejos Ad/polímero de carga positiva poseen escasa selectividad por el tumor debido a su absorción inespecífica dada por la interacción con las membranas de células no tumorales también cargadas negativamente (30), limitando la eficacia general de estas terapias.

Morrison *et al.* (72) han utilizado el polímero (Poly-(2-hidroxipropil) methacrylamida (pHPMA) unido al virus, junto con un ligando llamado mEGF (factor de crecimiento epidermal murino) para redirigir el virus a células tumorales que sobre expresan el EGFR, receptor de mEGF. Aratones desnudos le fueron implantadas intraperitonealmente 1×10^7 células SKOV-luc (línea celular de cáncer de ovario humano) y 96 horas después fueron tratados con partículas virales Ad5WT, pHPMA-Ad5WT (Ad ligado al polímero) o mEGF-pHPMA-Ad5WT (Ad-polímero-factor de crecimiento epidermal) en 3 dosis, cada una con 5×10^{10} partículas virales, con un intervalo de 72 horas entre dosis. Los resultados mostraron que ratones tratados con Ad5WT presentaron alta frecuencia de adhesiones peritoneales y obstrucciones intestinales subagudas, por lo que se requirió eutanasia en el 20% de los ratones. De otro lado, los tratados con mEGF-pHPMA-Ad5WT presentaron una mejora significativa en eventos como adhesiones peritoneales y obstrucción intestinal; sin embargo, no se observó diferencia en el efecto antitumoral con respecto al Ad5WT (72).

Otro estudio realizado por Kim *et al.* (5) utilizó el polímero metoxipolietilenglicol amino (MPEG-NH₂, Mw 5000) unido al Ad; los investigadores aplicaron este virus a un ratón en el cual se había generado un tumor con células humanas, HT1080 y A549 (fibrosarcoma humano y adenocarcinoma de pulmón, respectivamente). Con este sistema se redujo el atrapamiento del virus en el hígado y se localizó más en el tumor, respecto al Ad no envuelto. Los autores afirmaron que el polímero evade al sistema inmunológico y en especial evita que los anticuerpos séricos interfieran con el Ad.

El estudio de Price *et al.* (7) utilizó el virus vaccinia (VV) atenuado (GLV-1h68) envuelto en un polímero de proteína similar a la elastina de seda: “silk-elastin-like protein polymer” (SELP) aplicado en forma IV a un ratón, al cual se le generó un tumor con una línea de carcinoma anaplásico de tiroides humano (línea celular 85505c). Asimismo, los autores inyectaron 5×10^6 células subcutáneamente en un flanco en ratones atímicos y observaron una mayor expresión viral en el tumor respecto a los ratones que se inyectaron con virus no envueltos (7).

También se han utilizado aptámeros (ácidos nucleicos de cadena sencilla con capacidad de unir anticuerpos) para que unan anticuerpos

y eviten que estos bloqueen la infección viral, lo cual conduce a una mayor infección (73).

El ensayo de Garofalo *et al.* (42) utilizó un compuesto que tiene un efecto anti-proliferativo celular, como es la L-carnosina, la cual unieron electrostáticamente con la cápside de un Ad y lo inyectaron vía IT a ratones que le habían generado tumores suministrando 1×10^6 células de cáncer de pulmón o de colon (A549, HCT-116) en forma subcutánea. Se observó reducción en el crecimiento del tumor por inducción de apoptosis (42).

Otro método para aumentar la eficiencia en la llegada del Ad a los tumores ha sido aprovechar que los tejidos tumorales son a menudo hipóxicos (que carecen de oxígeno adecuado) y están caracterizados por un pH inferior con relación a los tejidos no tumorales (31). La hipoxia se considera un factor que contribuye a la quimio resistencia y la metástasis; así, se han explorado Ad recubiertos con un polímero que contiene methoxy poly(ethylene glycol)-b-poly(L-histidine)-poly(L-phenylalanine) (3.3 K, PHF; H:F = 23:1) (abreviado como PEGbPHF) (32), utilizando las interacciones electrostáticas entre el polímero catiónico cargado positivamente y la superficie cargada negativamente de los Ad. El complejo Ad recubierto de polímero sensible al pH aumenta significativamente la carga neta positiva al exponerse al microambiente tumoral hipóxico, lo que permite la orientación pasiva al tejido tumoral (74-78).

En resumen, el uso de interacciones electrostáticas para unirse a polímeros cargados positivamente, como ha sido descrito para Ad, elude la respuesta inmunológica pero reduce la capacidad citotóxica del virus en el tumor. Además, los complejos Ad/polímero de carga positiva poseen escasa selectividad por el tumor debido a su absorción no específica y la interacción con las membranas de células no tumorales, también cargadas negativamente, limitando la eficacia general de estas terapias. Sin embargo, para evitar daños en células no tumorales, los Ad han sido modificados para que no se repliquen en estas células. A pesar de los avances, se necesitan más estudios respecto a la seguridad de los materiales, puesto que las nanopartículas sintetizadas que contienen componentes no propios del hospedero no tienen estudios concluyentes que descarten toxicidad o provoquen rechazo inmunológico (74-78).

Micropartículas

Esta es una estrategia reciente que se basa en que las células, en respuesta a diversos estímulos, son capaces de generar varias vesículas con diferentes tamaños. Las células cambian su citoesqueleto y encapsulan el contenido citosólico dentro de la membrana celular para formar vesículas y su posterior liberación a los espacios extracelulares. Tales vesículas subcelulares especializadas que tienen tamaños entre 0.1 μm y 1 μm se denominan micropartículas y estas MP contienen enzimas, RNA e incluso DNA y son capaces de transferir moléculas bioactivas de una célula a otra. También pueden servir para entregar fármacos quimioterapéuticos a células tumorales.

Para utilizar la estrategia de MP, Ran *et al.* (8) infectaron cultivos celulares tumorales con Ad para que se liberaran MP cargadas con Ad al sobrenadante (8). Con estas MP, que tenían incorporados Ad, se pudo infectar otras células tumorales. Aunque se evidenció un éxito en la entrega del Ad a la célula tumoral, evitando el reconocimiento del virus por los anticuerpos, estos autores no excluyeron si también facilitaba la entrada del Ad a células no tumorales, dado que la entrada del Ad a la célula es independiente de su receptor celular. Es decir, los investigadores no aclaran el mecanismo por el cual los Ad cargados en las MP infectan y matan las células tumorales. No se analizó la cantidad de material no viral, propio de la célula tumoral de donde proceden las MP; es decir, qué portan las MP y su efecto en las nuevas células tumorales a donde llegan (8).

De igual forma, la estrategia para transportar virus oncolítico o fármacos quimioterapéuticos a células tumorales, utilizando MP, puede contener enzimas, RNA e incluso DNA y otros componentes citoplasmáticos. No se ha estudiado la repercusión en la célula tumoral o en células no tumorales, puesto que las MP pueden ingresar a los dos tipos de células. Transfectar mediante electroporación tanto *in vitro* como *in vivo* plásmidos que contienen proteínas virales con efecto citopático para las células tumorales tiene la limitante que el método no es eficiente, por ahora, para transfectar el plásmido dentro de tumores sólidos con baja accesibilidad.

Células transportadoras

Las dos anteriores estrategias han sido muy estudiadas para Ad. En cambio, esta estrategia, la de células transportadoras o “carrier cell”, en la actualidad es la más estudiada y más aplicada a la gran variedad de virus candidatos a oncolíticos; asimismo ha sido desarrollada y estudiada para infectar cultivos celulares tumorales *in vitro* en modelos animales y en pacientes (9,50-66). Cumple con los requisitos de evitar que los anticuerpos reconozcan el virus oncolítico, permite la llegada al tumor y la liberación del virus y puede utilizar células del propio paciente para transportar el virus, lo que evita rechazos inmunológicos o efectos colaterales por el material exógeno, como ocurre con otras estrategias.

Otras ventajas de este método incluyen que se protege al virus de la respuesta del sistema inmunológico, lo cual permite que haya una mayor biodisponibilidad del virus, y que según el tipo de célula transportadora puede presentarse replicación viral, lo cual posibilita que haya más partículas virales que la cantidad original incorporada en dichas células transportadoras (59,79).

El tipo de célula transportadora puede variar según la etiología del tumor —epitelial, mesenquimal o células del sistema inmunológico (células T, dendríticas)— y según el tipo de tumor —si es sólido o de tipo hematopoyético—. Para esta estrategia se han utilizado células normales, células tumorales o células madre (55,80-82). Por ejemplo, los macrófagos se han utilizado como células transportadoras: estos fueron infectados con Ad e inyectados a ratones xenotransplantados con tumor de próstata 48 horas después de ser tratados con docetaxel o irradiados. En este caso no se observó proliferación tumoral pero sí mayor supervivencia post tratamiento en los ratones, comparado a los que no se les aplicaron macrófagos infectados pero sí recibieron el fármaco o fueron irradiados (83).

También se han utilizado macrófagos como “transportadores” de Ad para inhibir el crecimiento tumoral prostático y metástasis pulmonar en ratones atímicos xenotransplantados. En este caso se evidencia infiltración en zonas hipóxicas del tumor por parte de los macrófagos con Ad. Se considera que esto ocurre por tres mecanismos: la afinidad propia de los macrófagos a regiones hipóxicas, el constructo insertado en los Ad que utiliza un promotor inducible por hipoxia —lo cual induce la replicación viral en el macrófago— y la afinidad del Ad por las células tumorales prostáticas, también generado por promotores específicos de próstata (84).

Asimismo, se han utilizado células madre neuronales (NSCs), las cuales han sido infectadas con un Ad de replicación condicional (CRAd-S-pk7). Al inyectar estas células intracranalmente a ratones atímicos, con gliomas de origen humano, se presentó disminución en el crecimiento tumoral y mayor supervivencia en comparación al grupo con aplicación de Ad libre (56). El estudio de Raykov *et al.* (9) utilizó ratones con metástasis pulmonares y nodulares generados con una línea celular de hepatocarcinoma de rata. La misma línea celular fue utilizada como célula transportadora de parvovirus H-1. Los resultados mostraron que las ratas tratadas con virus transportados dentro de la

célula presentaron menor generación de anticuerpos neutralizantes y supresión de eventos metastásicos con respecto a las tratadas con virus libres (9).

De otro lado, también se ha explorado de forma positiva la generación de anticuerpos contra los virus. Para esto, primero se inoculan virus en el ratón con el propósito de generar anticuerpos, luego se generan tumores en los ratones y por último se administran células que transportan virus. Por ejemplo, se generaron tumores con células de hepatocarcinoma humano a ratones con elevados niveles de anticuerpos contra el virus del sarampión. Luego, se les aplicó células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea (BM-hMSCs) de pacientes con hepatocarcinoma, e infectadas con virus del sarampión. Se observó que a pesar de que los ratones tenían anticuerpos neutralizantes antisarampión, presentaron una buena respuesta antitumoral respecto a los ratones con tumores que no tenían anticuerpos y fueron infectados con virus libres. Esto sugiere que los anticuerpos contribuyen de manera positiva a la respuesta antitumoral, pues estimulan el sistema inmunológico al reconocer el virus en la célula tumoral (12).

El ensayo de Fujiwara *et al.* (10) utilizó células mesoteliales humanas como transportadoras del virus del herpes simple (HSV-1) que administraron a ratones con tumores subcutáneos e intraperitoneales, generados con células tumorales de ovario; allí los ratones que con anterioridad tenían anticuerpos anti-HSV-1 presentaron un mayor efecto oncolítico respecto a los ratones que no tenían anticuerpos y fueron infectados con virus libres. Por su parte, Coukos *et al.* (85) en su estudio utilizaron la línea de teratocarcinoma humano (Pa-1) como célula transportadora de HSV-1, presentando mayor infección en regiones tumorales de ovario con respecto al HSV-1 libre (85).

En el estudio clínico de Adair *et al.* (11) fueron reclutados 10 pacientes que presentaban metástasis hepáticas por cáncer colorectal primario, se administró un único ciclo de monoterapia con reovirus IV a una concentración de 1×10^{10} TCID₅₀ (concentración mínima con la cual se infecta el 50% de las células de un cultivo: “minimum titre 10^{10} Tissue culture infective dose at the 50% end point, TCID₅₀ ml-1”). El virus se aplicó cinco días antes de la resección de la metástasis hepática por cáncer colorectal y como células transportadoras se usaron las mononucleares de sangre periférica (PBMC). Al comparar muestras de sangre, tejido tumoral resecado y tejido normal, se observó la presencia selectiva del reovirus en el tumor, sugiriendo que la célula transportadora brindó protección al reovirus en la circulación (11).

Por su parte, la investigación de Martínez-Quintanilla *et al.* (13) utilizó un Ad de replicación condicional que expresa hialuronidasa soluble (ICOVIR17). Para esto, a los ratones les implantaron, en forma intracraneal, células de glioblastoma multiforme (GBM) nodular humano (U87). Luego, se utilizaron células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo humano (MSC) como células transportadoras del Ad ICOVIR17. A la vez, se encapsularon dichas MSC en matrix extracelular sintética biocompatible (sECM). Los experimentos mostraron una regresión en el crecimiento tumoral y un aumento de la supervivencia en el grupo inyectado con MSC-sECM-ICOVIR17 con respecto a los grupos inyectados solo con MSC-sECM, ICOVIR17 o PBS (13).

Liposomas

Esta estrategia busca que los virus oncolíticos no sean retirados de circulación demasiado rápido, disminuya la interacción con componentes sanguíneos (anticuerpos neutralizantes, complemento, etc.) y se permita mayor biodisponibilidad del virus en tumores. A ratones con tumores generados con la línea celular SKOV-3 (cistocarcinoma de ovario humano) les aplicaron vía endovenosa Ad recombinante (Ad-hEndo, 1×10^8 p.f.u.) encapsulado en micelas poliméricas hechas de conjugados

de polietilenglicol y fosfatidiletanolamina (PEG-PE-micelas). Se observó una disminución en el tamaño tumoral con aumento de eventos apoptóticos y tiempos de supervivencia mayores en los ratones que se les inyectó Ad dentro de liposomas respecto a los grupos control. En este caso, no se indujo una respuesta considerable de anticuerpos (14).

Ultrasonido

El ultrasonido (US) es un método bastante aplicado en imagenología médica para el diagnóstico de patologías. Los agentes de contraste por ultrasonido (UCA) o microburbujas (MB) se utilizan como portadores potenciales de ácidos nucleicos, RNA de interferencia, fármacos, proteínas y, recientemente, virus oncolíticos (67,68).

A la interacción de ondas ultrasónicas con burbujas (esferas de gas generadas en el medio) en una fase líquida o similar se le denomina cavitación. Estas son microesferas llenas de gas con un diámetro de 1-10 μm encapsuladas por una membrana estabilizada y biocompatible. Para el gas del interior se emplean gases inertes que favorecen la vida media de la microburbuja. El US inicia a una frecuencia mayor a la del rango audible humano, que está entre 20Hz y 20kHz. Las ondas ultrasónicas viajan a mayor velocidad en un medio sólido (como el tejido óseo) que en un medio gaseoso. La microburbuja es dirigida hacia la membrana celular de determinada célula por efecto de las ondas de ultrasonido, esto genera un efecto de “empuje y hale” de la microburbuja con la membrana; por cizallamiento se generan poros en la membrana celular y la microburbuja libera su contenido. Existen microburbujas comerciales como SonoVue (SV) y Artison microbubble que están formadas por una suspensión acuosa y en su interior tienen un gas inerte. La dosis de MB aprobada por la Food and Drug Administration para un paciente está entre 109MB y 1010MB y en 1-2mL para inyección en bolo endovenoso (68).

Un estudio empleó US para favorecer la internalización del virus oncolítico HSV-1, deficiente para el gen neurovirulento $\gamma 134.5$ (HSV-1 RH2), en células de carcinoma escamoso oral (SCC), observándose mayor número de virus cuando se utilizó el US respecto al control (69). De igual forma, se generó un tumor con células de carcinoma escamoso oral (SCC) en un ratón cuando los tumores alcanzaron 5mm de diámetro, se aplicó HSV-1 RH2 en presencia (mezcla de 1×10^6 PFU+ 5×10^6 MB) o ausencia de MB. El US se aplicó por 10 segundos y se observó supresión del crecimiento tumoral en el grupo de ratones tratados con HSV-1 RH2+US+MB respecto a los grupos control (70). Myers *et al.* (71) utilizaron una “copa polimérica (cups)” diseñada como alternativa a las MB comerciales para inducir fenómenos de cavitación entre virus y células tumorales al aplicar US.

Luego de generar el tumor en ratones con líneas celulares de cáncer de ovario humano (SKOV 5x106) o de carcinoma hepático humano (HepG2 5x106), se co-inyectaron “cups” vía IV en la vena de la cola (50 μL a 25 mg/mL) y vaccinia virus (1×10^5 en 50 μL). Cuando los tumores alcanzaron un volumen de 40-100 mm³, se expusieron a US. Se observó que la expresión de VV en los tumores generados por SKOV-3 y HepG2 aumentó en más de tres órdenes de magnitud y se presentó disminución en el tamaño tumoral en comparación al grupo control no tratado con cups ni US (71).

Plásmidos con proteínas virales

Una estrategia menos desarrollada, diferente a los nanocomplejos, consiste en transfectar mediante electroporación, tanto *in vitro* como *in vivo*, plásmidos que contienen proteínas virales con efecto citopático para las células tumorales (86). En este caso, por ahora, la limitante es el método para transfectar el plásmido de manera eficiente dentro del tumor, en especial para tumores sólidos en un modelo animal.

Además de los enfoques antes mencionados, para evitar la neutralización de los virus por el sistema inmunológico han surgido alternativas para mejorar la eficacia del tratamiento y permitir la llegada del virus al sitio del tumor. Dentro de estas alternativas se encuentra la terapia combinada entre virus oncolíticos con radioterapia o quimioterapia y la terapia fotodinámica.

Terapias combinadas con virus oncolíticos

Los virus oncolíticos se han utilizado como coadyuvantes a tratamientos convencionales como cirugía, quimioterapia, inmunoterapia y radioterapia. Igualmente, se han aplicado de forma simultánea con medicamentos inmunomoduladores que disminuyen la respuesta inmunológica; con medicamentos que generan disrupción de la matriz extracelular del tumor, facilitando la entrada del virus; con medicamentos que saturan receptores en el huésped encargados de la internalización del virus (87-90), o con terapia combinada oncolítica viral y antiangiogénica, que sinergizan en la regresión y eliminación del tumor (91). Otro método es el uso de dos tipos de virus que mejoran la actividad oncolítica (92-96).

En ratones C57BL/6 se generó un tumor inyectando intraperitonealmente 3×10^6 células ID8 (tumor ovárico de origen epitelial murino). Luego, se aplicó el fármaco gemcitabina y se administró reovirus. Se encontró que esta terapia combinada retardaba la aparición de carcinomatosis peritoneal y se prolongaba la supervivencia respecto a los ratones tratados solo con gemcitabina o con reovirus (97).

En otros experimentos en ratas inmunocompetentes se implantaron intracranalmente células de glioma de rata (D74/HveC) para generar gliomas. Luego, un grupo fue tratado con un péptido angiostático cRGD $30 \mu\text{g}$ por cuatro días, antes del tratamiento con virus herpes simple atenuado (1×10^7 PFU (hrR3)), el cual se realizó siete días post-implantación. En el grupo de tratamiento con cRGD-hrR3 se observó una disminución de la infiltración leucocitaria en la permeabilidad vascular del tumor y un aumento en la supervivencia de las ratas (98).

Francis *et al.* (99) generaron carcinomatosis peritoneal en ratones (células MC38-luc de cáncer de colon murino); luego, los trataron con un coctel modulador de quimioquinas (CKM) $200 \mu\text{L}$ (IFN- α , poli i:c inhibidor de Cox-2), aplicaron el virus atenuado vaccinia (vv) y expresaron la quimioquina CXCL11 (vvDD-CXCL11). En los ratones tratados con vvDD-CXCL11+CKM observó mayor respuesta inmunológica contra el tumor, disminución de la carcinomatosis peritoneal y aumento en la supervivencia, dada por el aumento en la concentración de células NK (linfocitos T CD8) con respecto a los grupos tratados solo con vvDD-CXCL11, CKM o PBS (99).

Antes de llegar el virus oncolítico a la célula tumoral, se encuentra con la barrera del microambiente del tumor, el cual está compuesto por células estromales, infiltración de leucocitos y matriz extracelular. Dicha matriz suele presentar una densidad aumentada, convirtiéndose en una barrera mecánica para el virus antes de interactuar con la célula tumoral, pues el virus queda atrapado en la matriz.

Se generaron tumores aplicando células de Sarcoma de tejido blando humano (HSTS26T) o de melanoma humano (Mu89) en las patas y en la región dorsal de ratones inmunodeficientes (SCID) o células de adenocarcinoma de páncreas humano (L3.6pl) en el páncreas de ratones SCID. Cuando los tumores alcanzaron 4-6mm de diámetro se aplicó una dosis diaria intraperitoneal del fármaco losartán por 2 semanas (20 mg/kg/día). De manera simultánea se inyectaron por la vena de la cola $10 \mu\text{L}$ (3.6×10^{13} nanopartículas/mL) de HSV-1. Se observó reducción en el colágeno estromal tumoral, al igual que menor volumen tumoral y mayor tasa de infección viral en los tumores de los ratones tratados con losartán (100).

Estudios de terapia combinada con diversos virus oncolíticos en ratones a los cuales se les generó tumores con células humanas muestran el aumento de la respuesta antitumoral generada tanto por el virus como por el sistema inmunológico; sin embargo, el efecto dual del sistema inmunológico como barrera para los virus oncolíticos o de sinergia terapéutica depende del tipo de virus utilizado, las modificaciones genéticas realizadas y los coadyuvantes empleados (101,102).

Terapia fotodinámica

La terapia fotodinámica es un tipo de tratamiento antitumoral poco invasivo. Se necesita un fotosensibilizador captado por el tejido tumoral y la aplicación de luz a una determinada longitud de onda; la activación del fotosensibilizador genera la producción de radicales libres de oxígeno (ROS). Esto permite que donde se localice el fotosensibilizador y se active, se genere una considerable producción de ROS que en el caso de encontrarse en una región tumoral puede inducir mecanismos de muerte celular (103,104).

El estudio de Gil *et al.* (105) empleó terapia fotodinámica (PDT) en ratones con tumores generados con la línea celular NXS2 2×10^6 (neuroblastoma) y carcinoma escamoso de cabeza y cuello (generados con 5×10^6 células FaDu). Luego, los investigadores aplicaron el virus oncolítico vaccinia (10^8 PFU). Por su parte, el fotosensibilizador 2-[1-Hexyloxyethyl]-2-devinyl pyropheophorbide-a ($0.45 \mu\text{mol/kg}$) fue aplicado endovenosamente y a las 24 horas los tumores fueron estimulados con luz a una longitud de onda de 665nm. La combinación de PDT y terapia oncolítica viral evidenció inhibición del crecimiento tumoral, mayor número de partículas virales en el tumor y disminución del flujo vascular al interior del tumor con respecto a los grupos control tratados con monoterapia (105).

Por su parte, Takehara *et al.* (106) utilizaron un Ad (Ad-GFP) y lo modificaron genéticamente para que expresara un fotosensibilizador KillerRed®, el cual es una proteína roja fluorescente que genera radicales libres de oxígeno (ROS) a la irradiación con luz verde, esto utilizando como promotor la transcriptasa reversa de la telomerasa humana (ad+KillerRed=Telomekiller). Los autores evaluaron el efecto *w* en un ratón con metástasis en nodo linfático, para esto implantaron 3×10^6 células HCT116 en $25 \mu\text{L}$ de PBS con $25 \mu\text{L}$ de matrigel en la capa submucosa del recto; a los 10 días inyectaron $10^8 \text{ pfu/50} \mu\text{L}$ de Telomekiller directamente en los tumores rectales. Tres días después se realizó laparotomía y los nódulos para-aórticos y para-iliares que expresaron GFP (proteína verde fluorescente) fueron irradiados con láser a 300 mW/cm^2 . Se observó una respuesta sinérgica entre los Ad y la producción de ROS para eliminar el tumor. Las micrometástasis en los nódulos fueron eliminadas posterior al tratamiento de irradiación con láser (106).

A juicio de los autores de esta revisión, el uso de células transportadoras es la estrategia más aplicada a la gran variedad de virus candidatos a oncolíticos; esta ha sido desarrollada y estudiada para infectar cultivos celulares tumorales *in vitro* en modelos animales y en pacientes y cumple con los requisitos de evitar que los anticuerpos reconozcan el virus oncolítico, permitiendo su llegada y liberación en el sitio del tumor. Además, pueden utilizarse células del propio paciente para transportar el virus, de esta manera se evitan rechazos inmunológicos o efectos colaterales al paciente, como ocurre con otras estrategias (polímeros) debido al uso de materiales exógenos (9,50-66). Sin embargo, es importante tener en cuenta que el uso de células transportadoras no se limita a un solo tipo de virus o a un solo tipo de célula. Al momento de elegir una célula transportadora se debe tener en cuenta la susceptibilidad de la célula al virus, la cinética de replicación viral y la facilidad de aislamiento. Estas estrategias, en combinación con los métodos

tradicionales de cirugía, quimioterapia y radioterapia, dan esperanzas para lograr mejores condiciones de sobrevivencia del paciente y una reducción en la cantidad de fármacos o radiación actualmente utilizadas.

Conclusiones

Los sistemas de protección y transporte, tales como biopolímeros, micropartículas, células transportadoras y liposomas, son eficaces para evitar la respuesta inmunológica del huésped contra el virus. Sin embargo, debido a la diversidad de los virus, se debe tener en cuenta que la eficacia de los métodos de protección y transporte depende de las características bioquímicas tanto del biomaterial como del virus. Por otro lado, la combinación de varias metodologías es lo que ha mostrado mayor respuesta terapéutica con virus oncolíticos.

Conflicto de intereses

Ninguno declarado por los autores

Financiación

Este estudio fue apoyado por una subvención (No. 110165843297, 658-014) otorgada por el Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Investigación-COLCIENCIAS a través del programa Patrimonio Autónomo Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación, Francisco José de Caldas.

Agradecimientos

A Colciencias por su apoyo.

Referencias

- Cassady KA, Haworth KB, Jackson J, Markert JM, Cripe TP. To Infection and Beyond: The Multi-Pronged Anti-Cancer Mechanisms of Oncolytic Viruses. *Viruses*. 2016;8(2). <http://doi.org/f8pq9h>.
- Singh PK, Doley J, Kumar GR, Sahoo AP, Tiwari AK. Oncolytic viruses & their specific targeting to tumour cells. *Indian J Med Res*. 2012;136(4):571-84.
- Ruf B, Lauer UM. Assessment of current virotherapeutic application schemes: "hit hard and early" versus "killing softly"? *Mol Ther Oncolytics*. 2015;2:15018. <http://doi.org/czs5>.
- Roy DG, Bell JC. Cell carriers for oncolytic viruses: current challenges and future directions. *Oncolytic virotherapy*. 2013;2:47-56. <http://doi.org/czs6>.
- Kim J, Li Y, Kim SW, Lee DS, Yun CO. Therapeutic efficacy of a systemically delivered oncolytic adenovirus - biodegradable polymer complex. *Biomaterials*. 2013;34(19):4622-31. <http://doi.org/f4sm5c>.
- Jung SJ, Kasala D, Choi JW, Lee SH, Hwang JK, Kim SW, et al. Safety profiles and antitumor efficacy of oncolytic adenovirus coated with bioreducible polymer in the treatment of a CAR negative tumor model. *Biomacromolecules*. 2015;16(1):87-96. <http://doi.org/f6wrrh>.
- Price DL, Li P, Chen CH, Wong D, Yu Z, Chen NG, et al. Silk-elastin-like protein polymer matrix for intraoperative delivery of an oncolytic vaccinia virus. *Head Neck*. 2016;38(2):237-46. <http://doi.org/czv2>.
- Ran L, Tan X, Li Y, Zhang H, Ma R, Ji T, et al. Delivery of oncolytic adenovirus into the nucleus of tumorigenic cells by tumor microparticles for virotherapy. *Biomaterials*. 2016;89:56-66. <http://doi.org/f8h227>.
- Raykov Z, Balboni G, Aprahamian M, Rommelaere J. Carrier cell-mediated delivery of oncolytic parvoviruses for targeting metastases. *Int J cancer*. 2004;109(5):742-9. <http://doi.org/fqxewg>.
- Fujiwara S, Nawa A, Luo C, Kamakura M, Goshima F, Kondo C, et al. Carrier cell-based delivery of replication-competent HSV-1 mutants enhances antitumor effect for ovarian cancer. *Cancer Gene Ther*. 2011;18(2):77-86. <http://doi.org/cjs3dj>.
- Adair RA, Roulstone V, Scott KJ, Morgan R, Nuovo GJ, Fuller M, et al. Cell carriage, delivery, and selective replication of an oncolytic virus in tumor in patients. *Sci Transl Med*. 2012;4(138):138ra77. <http://doi.org/f99697>.
- Ong HT, Federspiel MJ, Guo CM, Ooi LL, Russell SJ, Peng KW, et al. Systemically delivered measles virus-infected mesenchymal stem cells can evade host immunity to inhibit liver cancer growth. *J Hepatol*. 2013;59(5):999-1006. <http://doi.org/f2mfx>.
- Martínez-Quintanilla J, He D, Wakimoto H, Alemany R, Shah K. Encapsulated stem cells loaded with hyaluronidase-expressing oncolytic virus for brain tumor therapy. *Mol Ther*. 2015;23(1):108-18. <http://doi.org/f6vh7q>.
- Yang L, Wang L, Su X, Wang L, Chen X, Li D, et al. Suppression of ovarian cancer growth via systemic administration with liposome-encapsulated adenovirus-encoding endostatin. *Cancer Gene Ther*. 2010;17(1):49-57. <http://doi.org/fgd9gd>.
- Kaufman HL, Kohlhapp FJ, Zloza A. Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs. *Nat Rev Drug Discov*. 2015;14(9):642-62. <http://doi.org/f7qtp>.
- Buijs PR, Verhagen JH, van Eijck CH, van den Hoogen BG. Oncolytic viruses: From bench to bedside with a focus on safety. *Hum Vaccin Immunother*. 2015;11(7):1573-84. <http://doi.org/czs7>.
- Brown MC, Dobrikova EY, Dobrikov MI, Walton RW, Gemberling SL, Nair SK, et al. Oncolytic polio virotherapy of cancer. *Cancer*. 2014;120(21):3277-86. <http://doi.org/czs8>.
- Guerrero CA, Guerrero RA, Silva E, Acosta O, Barreto E. Experimental Adaptation of Rotaviruses to Tumor Cell Lines. *PLoS One*. 2016;11(2):e0147666. <http://doi.org/f8q2n3>.
- Kim PH, Sohn JH, Choi JW, Jung Y, Kim SW, Haam S, et al. Active targeting and safety profile of PEG-modified adenovirus conjugated with herceptin. *Biomaterials*. 2011;32(9):2314-26. <http://doi.org/dtr49f>.
- Eto Y, Gao JQ, Sekiguchi F, Kurachi S, Katayama K, Maeda M, et al. PEGylated adenovirus vectors containing RGD peptides on the tip of PEG show high transduction efficiency and antibody evasion ability. *J Gene Med*. 2005;7(5):604-12. <http://doi.org/fp62rk>.
- Maeda M, Kida S, Hojo K, Eto Y, Gao JQ, Kurachi S, et al. Design and synthesis of a peptide-PEG transporter tool for carrying adenovirus vector into cells. *Bioorg Med Chem Lett*. 2005;15(3):621-4. <http://doi.org/dtf9c7>.
- Lanciotti J, Song A, Doukas J, Sosnowski B, Pierce G, Gregory R, et al. Targeting adenoviral vectors using heterofunctional polyethylene glycol FGF2 conjugates. *Mol Ther*. 2003;8(1):99-107. <http://doi.org/c9cnsx>.
- Green NK, Morrison J, Hale S, Briggs SS, Stevenson M, Subr V, et al. Retargeting polymer-coated adenovirus to the FGF receptor allows productive infection and mediates efficacy in a peritoneal model of human ovarian cancer. *J Gene Med*. 2008;10(3):280-9. <http://doi.org/c37w36>.
- Kwon OJ, Kang E, Choi JW, Kim SW, Yun CO. Therapeutic targeting of chitosan-PEG-folate-complexed oncolytic adenovirus for active and systemic cancer gene therapy. *J Control Release*. 2013;169(3):257-65. <http://doi.org/f43brv>.
- Kim PH, Kim TI, Yockman JW, Kim SW, Yun CO. The effect of surface modification of adenovirus with an arginine-grafted bioreducible polymer on transduction efficiency and immunogenicity in cancer gene therapy. *Biomaterials*. 2010;31(7):1865-74. <http://doi.org/fsxjbc>.
- Baker A, Saltik M, Lehrmann H, Killisch I, Mautner V, Lamm G, et al. Polyethylenimine (PEI) is a simple, inexpensive and effective reagent for condensing and linking plasmid DNA to adenovirus for gene delivery. *Gene Ther*. 1997;4(8):773-82. <http://doi.org/b7twp5>.
- Vetter A, Viridi KS, Espenlaub S, Rödl W, Wagner E, Holm PS, et al. Adenoviral vectors coated with PAMAM dendrimer conjugates allow

- CAR independent virus uptake and targeting to the EGF receptor. *Mol Pharm.* 2013;10(2):606-18. <http://doi.org/f4n3pj>.
28. Kawamata Y, Nagayama Y, Nakao K, Mizuguchi H, Hayakawa T, Sato T, *et al.* Receptor-independent augmentation of adenovirus-mediated gene transfer with chitosan in vitro. *Biomaterials.* 2002;23(23):4573-9. <http://doi.org/cq6549>.
 29. Varkouhi AK, Scholte M, Storm G, Haisma HJ. Endosomal escape pathways for delivery of biologicals. *J Control Release.* 2011;151(3):220-8. <http://doi.org/c5w57w>.
 30. Verma A, Stellacci F. Effect of surface properties on nanoparticle-cell interactions. *Small.* 2010;6(1):12-21. <http://doi.org/b9fjif>.
 31. Lee ES, Na K, Bae YH. Polymeric micelle for tumor pH and folate-mediated targeting. *J Control Release.* 2003;91(1-2):103-13. <http://doi.org/bthnfd>.
 32. Kim GM, Bae YH, Jo WH. pH-induced micelle formation of poly(histidine-co-phenylalanine)-block-poly(ethylene glycol) in aqueous media. *Macromol Biosci.* 2005;5(11):1118-24. <http://doi.org/c5txnp>.
 33. Kim PH, Kim J, Kim TI, Nam HY, Yockman JW, Kim M, *et al.* Bioreducible polymer-conjugated oncolytic adenovirus for hepatoma-specific therapy via systemic administration. *Biomaterials.* 2011;32(35):9328-42. <http://doi.org/cv9h7g>.
 34. Kim TI, Ou M, Lee M, Kim SW. Arginine-grafted bioreducible poly(disulfide amine) for gene delivery systems. *Biomaterials.* 2009;30(4):658-64. <http://doi.org/bcrztn>.
 35. Moon CY, Choi JW, Kasala D, Jung SJ, Kim SW, Yun CO. Dual tumor targeting with pH-sensitive and bioreducible polymer-complexed oncolytic adenovirus. *Biomaterials.* 2015;41:53-68. <http://doi.org/f6xcn8>.
 36. Choi JW, Jung SJ, Kasala D, Hwang JK, Hu J, Bae YH, *et al.* pH-sensitive oncolytic adenovirus hybrid targeting acidic tumor microenvironment and angiogenesis. *J Control Release.* 2015;205:134-43. <http://doi.org/f7fmqf>.
 37. Kreppel F, Kochanek S. Modification of adenovirus gene transfer vectors with synthetic polymers: a scientific review and technical guide. *Mol Ther.* 2008;16(1):16-29. <http://doi.org/cv82z4>.
 38. Green NK, Herbert CW, Hale SJ, Hale AB, Mautner V, Harkins R, *et al.* Extended plasma circulation time and decreased toxicity of polymer-coated adenovirus. *Gene Ther.* 2004;11(16):1256-63. <http://doi.org/cfig5q>.
 39. Choi JW, Kang E, Kwon OJ, Yun TJ, Park HK, Kim PH, *et al.* Local sustained delivery of oncolytic adenovirus with injectable alginate gel for cancer virotherapy. *Gene Ther.* 2013;20(9):880-92. <http://doi.org/f48829>.
 40. Mo S, Carlisle R, Laga R, Myers R, Graham S, Cawood R, *et al.* Increasing the density of nanomedicines improves their ultrasound-mediated delivery to tumours. *J Control Release.* 2015;210:10-8. <http://doi.org/f7gfv6>.
 41. Mendez N, Herrera V, Zhang L, Hedjran F, Feuer R, Blair SL, *et al.* Encapsulation of adenovirus serotype 5 in anionic lecithin liposomes using a bead-based immunoprecipitation technique enhances transfection efficiency. *Biomaterials.* 2014;35(35):9554-61. <http://doi.org/f6jrrv>.
 42. Garofalo M, Iovine B, Kuryk L, Capasso C, Hirvinen M, Vitale A, *et al.* Oncolytic Adenovirus Loaded with L-carnosine as Novel Strategy to Enhance the Antitumor Activity. *Mol Cancer Ther.* 2016;15(4):651-60. <http://doi.org/f8gz5m>.
 43. Park Y, Kang E, Kwon OJ, Hwang T, Park H, Lee JM, *et al.* Ionically crosslinked Ad/chitosan nanocomplexes processed by electrospinning for targeted cancer gene therapy. *J Control Release.* 2010;148(1):75-82. <http://doi.org/bjqhzt>.
 44. Kangasniemi L, Koskinen M, Jokinen M, Toriseva M, Ala-Aho R, Kähäri VM, *et al.* Extended release of adenovirus from silica implants in vitro and in vivo. *Gene Ther.* 2009;16(1):103-10. <http://doi.org/bpt39j>.
 45. Kangasniemi L, Parviainen S, Pisto T, Koskinen M, Jokinen M, Kiviluoto T, *et al.* Effects of capsid-modified oncolytic adenoviruses and their combinations with gemcitabine or silica gel on pancreatic cancer. *Int J cancer.* 2012;131(1):253-63. <http://doi.org/btdf5r>.
 46. Shukla S, Ablack AL, Wen AM, Lee KL, Lewis JD, Steinmetz NF. Increased tumor homing and tissue penetration of the filamentous plant viral nanoparticle Potato virus X. *Mol Pharm.* 2013;10(1):33-42. <http://doi.org/f4hnhq>.
 47. Tesfay MZ, Kirk AC, Hadac EM, Griesmann GE, Federspiel MJ, Barber GN, *et al.* PEGylation of vesicular stomatitis virus extends virus persistence in blood circulation of passively immunized mice. *J Virol.* 2013;87(7):3752-9. <http://doi.org/f4pnjd>.
 48. Green NK, Hale A, Cawood R, Illingworth S, Herbert C, Hermiston T, *et al.* Tropism ablation and stealthing of oncolytic adenovirus enhances systemic delivery to tumors and improves virotherapy of cancer. *Nano-medicine (Lond).* 2012;7(11):1683-95. <http://doi.org/czvzv>.
 49. Subr V, Konák C, Laga R, Ulbrich K. Coating of DNA/poly(L-lysine) complexes by covalent attachment of poly[N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide]. *Biomacromolecules.* 2006;7(1):122-30. <http://doi.org/bsb9zq>.
 50. Kim J, Hall RR, Lesniak MS, Ahmed AU. Stem Cell-Based Cell Carrier for Targeted Oncolytic Virotherapy: Translational Opportunity and Open Questions. *Viruses.* 2015;7(12):6200-17. <http://doi.org/f8drk7>.
 51. Young JS, Morshed RA, Kim JW, Balyasnikova IV, Ahmed AU, Lesniak MS. Advances in stem cells, induced pluripotent stem cells, and engineered cells: delivery vehicles for anti-glioma therapy. *Expert Opin Drug Deliv.* 2014;11(11):1733-46. <http://doi.org/czvzv>.
 52. Eisenstein S, Chen SH, Pan PY. Immune cells: more than simple carriers for systemic delivery of oncolytic viruses. *Oncolytic virotherapy.* 2014;3:83-91. <http://doi.org/czvzv>.
 53. Castleton A, Dey A, Beaton B, Patel B, Aucher A, Davis DM, *et al.* Human mesenchymal stromal cells deliver systemic oncolytic measles virus to treat acute lymphoblastic leukemia in the presence of humoral immunity. *Blood.* 2014;123(9):1327-35. <http://doi.org/f53bff>.
 54. Choi JW, Lee JS, Kim SW, Yun CO. Evolution of oncolytic adenovirus for cancer treatment. *Adv Drug Deliv Rev.* 2012;64(8):720-9. <http://doi.org/fzmq6c>.
 55. Ahmed AU, Tyler MA, Thaci B, Alexiades NG, Han Y, Ulasov IV, *et al.* A comparative study of neural and mesenchymal stem cell-based carriers for oncolytic adenovirus in a model of malignant glioma. *Mol Pharm.* 2011;8(5):1559-72. <http://doi.org/d6p5gw>.
 56. Ahmed AU, Thaci B, Alexiades NG, Han Y, Qian S, Liu F, *et al.* Neural stem cell-based cell carriers enhance therapeutic efficacy of an oncolytic adenovirus in an orthotopic mouse model of human glioblastoma. *Mol Ther.* 2011;19(9):1714-26. <http://doi.org/ck4mff>.
 57. Ilett EJ, Bárcena M, Errington-Mais F, Griffin S, Harrington KJ, Pandha HS, *et al.* Internalization of oncolytic reovirus by human dendritic cell carriers protects the virus from neutralization. *Clin Cancer Res.* 2011;17(9):2767-76. <http://doi.org/cwtjzk>.
 58. Mader EK, Maeyama Y, Lin Y, Butler GW, Russell HM, Galanis E, *et al.* Mesenchymal stem cell carriers protect oncolytic measles viruses from antibody neutralization in an orthotopic ovarian cancer therapy model. *Clin Cancer Res.* 2009;15(23):7246-55. <http://doi.org/bz3pqx>.
 59. Willmon C, Harrington K, Kottke T, Prestwich R, Melcher A, Vile R. Cell carriers for oncolytic viruses: Fed Ex for cancer therapy. *Mol Ther.* 2009;17(10):1667-76. <http://doi.org/cwrwv2>.
 60. Peng KW, Dogan A, Vrana J, Liu C, Ong HT, Kumar S, *et al.* Tumor-associated macrophages infiltrate plasmacytomas and can serve as cell carriers for oncolytic measles virotherapy of disseminated myeloma. *Am J Hematol.* 2009;84(7):401-7. <http://doi.org/cvzb4m>.
 61. Ilett EJ, Prestwich RJ, Kottke T, Errington F, Thompson JM, Harrington KJ, *et al.* Dendritic cells and T cells deliver oncolytic reovirus for tumour killing despite pre-existing anti-viral immunity. *Gene Ther.* 2009;16(5):689-99. <http://doi.org/dv5ftx>.

62. Power AT, Bell JC. Taming the Trojan horse: optimizing dynamic carrier cell/oncolytic virus systems for cancer biotherapy. *Gene Ther*. 2008;15(10):772-9. <http://doi.org/cztkm5>.
63. Power AT, Wang J, Falls TJ, Paterson JM, Parato KA, Lichty BD, *et al*. Carrier cell-based delivery of an oncolytic virus circumvents antiviral immunity. *Mol Ther*. 2007;15(1):123-30. <http://doi.org/b82p4h>.
64. Iankov ID, Blechacz B, Liu C, Schmeckpeper JD, Tarara JE, Federspiel MJ, *et al*. Infected cell carriers: a new strategy for systemic delivery of oncolytic measles viruses in cancer virotherapy. *Mol Ther*. 2007;15(1):114-22. <http://doi.org/cj7h9c>.
65. Ong HT, Hasegawa K, Dietz AB, Russell SJ, Peng KW. Evaluation of T cells as carriers for systemic measles virotherapy in the presence of antiviral antibodies. *Gene Ther*. 2007;14(4):324-33. <http://doi.org/d7c6cc>.
66. Komarova S, Kawakami Y, Stoff-Khalili MA, Curiel DT, Pereboeva L. Mesenchymal progenitor cells as cellular vehicles for delivery of oncolytic adenoviruses. *Mol Cancer Ther*. 2006;5(3):755-66. <http://doi.org/fdf8t9>.
67. Bazan-Peregrino M, Arvanitis CD, Rifai B, Seymour LW, Coussios CC. Ultrasound-induced cavitation enhances the delivery and therapeutic efficacy of an oncolytic virus in an in vitro model. *J Control Release*. 2012;157(2):235-42. <http://doi.org/cck5xp>.
68. Nande R, Howard CM, Claudio PP. Ultrasound-mediated oncolytic virus delivery and uptake for increased therapeutic efficacy: state of art. *Oncolytic Virother*. 2015;4:193-205. <http://doi.org/czvvz>.
69. Okunaga S, Takasu A, Meshii N, Imai T, Hamada M, Iwai S, *et al*. Entry of Oncolytic Herpes Simplex Virus into Human Squamous Cell Carcinoma Cells by Ultrasound. *Viruses*. 2015;7(10):5610-8. <http://doi.org/f75x96>.
70. Okunaga S, Takasu A, Meshii N, Imai T, Hamada M, Iwai S, *et al*. Ultrasound as a method to enhance antitumor ability of oncolytic herpes simplex virus for head and neck cancer. *Cancer Gene Ther*. 2015;22(3):163-8. <http://doi.org/f67kvt>.
71. Myers R, Coviello C, Erbs P, Foloppe J, Rowe C, Kwan J, *et al*. Polymeric Cups for Cavitation-mediated Delivery of Oncolytic Vaccinia Virus. *Mol Ther*. 2016;24(9):1627-33. <http://doi.org/f865q4>.
72. Morrison J, Briggs SS, Green N, Fisher K, Subr V, Ulbrich K, *et al*. Virotherapy of ovarian cancer with polymer-cloaked adenovirus retargeted to the epidermal growth factor receptor. *Mol Ther*. 2008;16(2):244-51. <http://doi.org/d95mn8>.
73. Muharemagic D, Zamay A, Ghobadloo SM, Evgin L, Savitskaya A, Bell JC, *et al*. Aptamer-facilitated Protection of Oncolytic Virus from Neutralizing Antibodies. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2014;3:e167. <http://doi.org/czvv3>.
74. Yildirim L, Thanh NT, Loizidou M, Seifalian AM. Toxicology and clinical potential of nanoparticles. *Nano Today*. 2011;6(6):585-607. <http://doi.org/d5fr5j>.
75. Thomas CR, George S, Horst AM, Ji Z, Miller RJ, Peralta-Videa JR, *et al*. Nanomaterials in the environment: from materials to high-throughput screening to organisms. *ACS Nano*. 2011;5(1):13-20. <http://doi.org/fmz5dw>.
76. Schug TT, Johnson AF, Balshaw DM, Garantzios S, Walker NJ, Weis C, *et al*. ONE Nano: NIEHS's strategic initiative on the health and safety effects of engineered nanomaterials. *Environ Health Perspect*. 2013;121(4):410-4. <http://doi.org/gbdpps>.
77. Song Y, Li X, Du X. Exposure to nanoparticles is related to pleural effusion, pulmonary fibrosis and granuloma. *Eur Respir J*. 2009;34(3):559. <http://doi.org/d7pvp4>.
78. Li C, Liu H, Sun Y, Wang H, Guo F, Rao S, *et al*. PAMAM nanoparticles promote acute lung injury by inducing autophagic cell death through the Akt-TSC2-mTOR signaling pathway. *J Mol Cell Biol*. 2009;1(1):37-45. <http://doi.org/bmsf7x>.
79. Tong Y, Qian W. Targeting cancer stem cells with oncolytic virus. *Stem Cell Invest*. 2014;1:20. <http://doi.org/czvv4>.
80. Raykov Z, Rommelaere J. Potential of tumour cells for delivering oncolytic viruses. *Gene Ther*. 2008;15(10):704-10. <http://doi.org/bsxfsq>.
81. Kim Y, Clements DR, Sterea AM, Jang HW, Gujar SA, Lee PW. Dendritic Cells in Oncolytic Virus-Based Anti-Cancer Therapy. *Viruses*. 2015;7(12):6506-25. <http://doi.org/f8dsn5>.
82. Jakeman PG, Hills TE, Fisher KD, Seymour LW. Macrophages and their interactions with oncolytic viruses. *Curr Opin Pharmacol*. 2015;24:23-9. <http://doi.org/czvv5>.
83. Muthana M, Rodrigues S, Chen YY, Welford A, Hughes R, Tazzyman S, *et al*. Macrophage delivery of an oncolytic virus abolishes tumor regrowth and metastasis after chemotherapy or irradiation. *Cancer Res*. 2013;73(2):490-5. <http://doi.org/f237jz>.
84. Muthana M, Giannoudis A, Scott SD, Fang H-Y, Coffelt SB, Morrow FJ, *et al*. Use of macrophages to target therapeutic adenovirus to human prostate tumors. *Cancer Res*. 2011;71(5):1805-15. <http://doi.org/fgvvgz8>.
85. Coukos G, Makrigiannakis A, Kang EH, Caparelli D, Benjamin I, Kaiser LR, *et al*. Use of carrier cells to deliver a replication-selective herpes simplex virus-1 mutant for the intraperitoneal therapy of epithelial ovarian cancer. *Clin Cancer Res*. 1999;5(6):1523-37.
86. Forde PF, Hall LJ, Sadacharam M, de Kruijf M, O' Sullivan GC, Soden DM. Development and characterization of an enhanced nonviral expression vector for electroporation cancer treatment. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2014;1:14012. <http://doi.org/czvv6>.
87. Rommelfanger DM, Compte M, Diaz RM, Ilett E, Álvarez-Vallina L, Thompson JM, *et al*. The efficacy versus toxicity profile of combination virotherapy and TLR immunotherapy highlights the danger of administering TLR agonists to oncolytic virus-treated mice. *Mol Ther*. 2013;21(2):348-57. <http://doi.org/f4ptxb>.
88. Kottke T, Galivo F, Wongthida P, Diaz RM, Thompson J, Jevremovic D, *et al*. Treg depletion-enhanced IL-2 treatment facilitates therapy of established tumors using systemically delivered oncolytic virus. *Mol Ther*. 2008;16(7):1217-26. <http://doi.org/cxjtjc>.
89. Ottolino-Perry K, Diallo JS, Lichty BD, Bell JC, Andrea McCart JA. Intelligent Design: Combination Therapy With Oncolytic Viruses. *Mol Ther*. 2010;18(2):251-63. <http://doi.org/d5thk4>.
90. Currier MA, Gillespie RA, Sawtell NM, Mahller YY, Stroup G, Collins MH, *et al*. Efficacy and Safety of the Oncolytic Herpes Simplex Virus rRp450 Alone and Combined With Cyclophosphamide. *Mol Ther*. 2008;16(5):879-85. <http://doi.org/dn662b>.
91. Ashshi AM, El-Shemi AG, Dmitriev IP, Kashentseva EA, Curiel DT. Combinatorial strategies based on CRAd-IL24 and CRAd-ING4 virotherapy with anti-angiogenesis treatment for ovarian cancer. *J Ovarian Res*. 2016;9(1):38. <http://doi.org/czvv7>.
92. Bridle BW, Stephenson KB, Boudreau JE, Koshy S, Kazhdan N, Pullenayegum E, *et al*. Potentiating cancer immunotherapy using an oncolytic virus. *Mol Ther*. 2010;18(8):1430-9. <http://doi.org/fd98n4>.
93. Liu YP, Tong C, Dispenzieri A, Federspiel MJ, Russell SJ, Peng K-W. Polyinosinic acid decreases sequestration and improves systemic therapy of measles virus. *Cancer Gene Ther*. 2012;19(3):202-11. <http://doi.org/cf8n75>.
94. Lemay CG, Rintoul JL, Kus A, Paterson JM, Garcia V, Falls TJ, *et al*. Harnessing oncolytic virus-mediated antitumor immunity in an infected cell vaccine. *Mol Ther*. 2012;20(9):1791-9. <http://doi.org/f38drn>.
95. Ilett E, Kottke T, Donnelly O, Thompson J, Willmon C, Diaz R, *et al*. Cytokine conditioning enhances systemic delivery and therapy of an oncolytic virus. *Mol Ther*. 2014;22(10):1851-63. <http://doi.org/f6j2c3>.
96. Qiao J, Kottke T, Willmon C, Galivo F, Wongthida P, Diaz RM, *et al*. Purging metastases in lymphoid organs using a combination of antigen-nonspecific adoptive T cell therapy, oncolytic virotherapy and immunotherapy. *Nat Med*. 2008;14(1):37-44. <http://doi.org/czvv32>.
97. Gujar SA, Clements D, Dielschneider R, Helson E, Marcato P, Lee PW. Gemcitabine enhances the efficacy of reovirus-based oncotherapy through anti-tumour immunological mechanisms. *Br J Cancer*. 2014;110(1):83-93. <http://doi.org/f5m2r3>.

98. Kurozumi K, Hardcastle J, Thakur R, Yang M, Christoforidis G, Fulci G, *et al.* Effect of tumor microenvironment modulation on the efficacy of oncolytic virus therapy. *J Natl Cancer Inst.* 2007;99(23):1768-81. <http://doi.org/d3dnh2>.
99. Francis L, Guo ZS, Liu Z, Ravindranathan R, Urban JA, Sathiaiah M, *et al.* Modulation of chemokines in the tumor microenvironment enhances oncolytic virotherapy for colorectal cancer. *Oncotarget.* 2016;7(16):22174-85. <http://doi.org/f9q5hv>.
100. Diop-Frimpong B, Chauhan VP, Krane S, Boucher Y, Jain RK. Losartan inhibits collagen I synthesis and improves the distribution and efficacy of nanotherapeutics in tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(7):2909-14. <http://doi.org/c9jdg7>.
101. Pencavel TD, Wilkinson MJ, Mansfield DC, Khan AA, Seth R, Karapanagiotou EM, *et al.* Isolated limb perfusion with melphalan, tumour necrosis factor-alpha and oncolytic vaccinia virus improves tumour targeting and prolongs survival in a rat model of advanced extremity sarcoma. *Int J cancer.* 2015;136(4):965-76. <http://doi.org/czv8>.
102. Dobson CC, Naing T, Beug ST, Faye MD, Chabot J, St-Jean M, *et al.* Oncolytic virus synergizes with Smac mimetic compounds to induce rhabdomyosarcoma cell death in a syngeneic murine model. *Oncotarget.* 2017;8(2):3495-508. <http://doi.org/f9f9s5>.
103. Vandenberg L, Belmans J, Van Woensel M, Riva M, Van Gool SW. Exploiting the Immunogenic Potential of Cancer Cells for Improved Dendritic Cell Vaccines. *Front Immunol.* 2015;6:663. <http://doi.org/gccwpn>.
104. Al-Shammari AM, Lech PJ, Russell SJ. Photosensitizing Oncolytic Measles Virus for Cancer Viro-Photodynamic Therapy. *Mol Ther.* 2014;22(Suppl 1):S65.
105. Gil M, Bieniasz M, Seshadri M, Fisher D, Ciesielski MJ, Chen Y, *et al.* Photodynamic therapy augments the efficacy of oncolytic vaccinia virus against primary and metastatic tumours in mice. *Br J Cancer.* 2011;105(10):1512-21. <http://doi.org/dxr2s6>.
106. Takehara K, Tazawa H, Okada N, Hashimoto Y, Kikuchi S, Kuroda S, *et al.* Targeted Photodynamic Virotherapy Armed with a Genetically Encoded Photosensitizer. *Mol Cancer Ther.* 2016;15(1):199-208. <http://doi.org/f8fqwf>.