

Mafalda Barroso Carvalho

Mecanismos Virais no Cancro da Próstata
(Influência do vírus XMRV no aparecimento da doença)

Porto, Setembro de 2013

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde

Folha em branco

Mafalda Barroso Carvalho

Mecanismos Virais no Cancro da Próstata
(Influência do vírus XMRV no aparecimento da doença)

Porto, Setembro de 2013

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, Setembro de 2013

Mafalda Barroso Carvalho

Mecanismos Virais no Cancro da Próstata
(Influência do vírus XMRV no aparecimento da doença)

O Aluno:

.....

Monografia apresentada à Universidade Fernando Pessoa
como parte de requisitos para a obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Data de aprovação

(Prof. Doutor Rui Medeiros)

Sumário

Introdução – O cancro da próstata tem tido uma enorme prevalência a nível mundial, justificando um elevado número de estudos não só na procura de novos tratamentos mais eficazes como também dos agentes que causam esta patologia, visto ser essencial saber a sua origem para a introdução de estratégias de prevenção. As causas que levam ao seu aparecimento são ainda desconhecidas, embora se saiba já a influência de alguns fatores, tais como a dieta, a idade, os antecedentes familiares, entre outros. Algumas linhas de investigação têm proposto uma hipótese que envolve alguns vírus na etiologia do cancro da próstata, tal como acontece noutros tipos de cancro, tendo como exemplo no cancro do colo do útero com o vírus do papiloma humano.

Objetivos – Esta dissertação visa efetuar uma revisão com atualização do conhecimento científico sobre os mecanismos víricos que possam ser considerados como uma das causas do cancro da próstata.

Material e métodos – Realizou-se uma pesquisa bibliográfica que incidiu na pesquisa eletrónica de numerosos artigos de jornais e revistas científicas e clínicas e principalmente na base de dados Medline, com interface de pesquisa Pubmed. Efetuou-se uma análise quantitativa e qualitativa dos agentes virais relacionados com o cancro da próstata descritos na literatura.

Resultados e discussão – Na literatura, o vírus mais associado ao aparecimento do cancro da próstata é o vírus XMRV. Vários mecanismos de ação foram propostos como forma de infetar os tecidos humanos, principalmente as células da próstata. A presença de mutações no gene RNaseL, tal como uma preferência local por determinados locais de integração levando a uma influência andrógena foram mecanismos defendidos por vários autores. Uma possível transmissão sexual e uma ligação do vírus indireta à tumorigénese apresentam uma menor incidência de citação, mas que não deve ser ignorada. Foram identificados fármacos que poderiam ser utilizados numa terapia contra este vírus, tal como fatores de restrição existentes no humano que impedem a replicação viral por parte de XMRV.

Conclusão – Há um elevado número de artigos que defendem uma relação causal entre o vírus XMRV e o cancro da próstata. Contudo, muitos outros autores sugerem que este vírus em humanos seja encontrado apenas devido a contaminação laboratorial.

Palavras-chave – Cancro da próstata, tumor, RNase, vírus, XMRV.

Abstract

Introduction – Prostate cancer's worldwide prevalence has justified a high number of studies not only seeking new, more effective treatment but also concerning the pathogenesis since it is of utmost importance reconnaissance of its underlying causes in order to apply preventing measures. Those causes are yet unknown even though some factors influence such as diet, age or family history. Some research have set forward a hypothesis where some viruses take part in prostate's cancer etiology, similar to other kinds of cancer like the uterine cancer with the HPV.

Objectives – The dissertation here presented aims to review the scientific updates on viral mechanisms which are considered as a potencial cause for prostate cancer.

Methods and materials – A bibliographical research was conducted with particular focus on online scientific and clinical journals and magazines, using primarily Medline database through Pubmed research interface. A quantitative and qualitative analyses of the prostate cancer related viral agents described in literature was made.

Results and Discussion – Literature shows the XMRV as being the virus most associated with prostate cancer. Several mechanisms were purposed for the infection events of human tissue, particularly prostate cells. The presence of mutation on the RNaseL gene and a local preference by determined integration spots leading to an androgenic influence were mechanisms defended by several authors. A possible sexual transmission and an indirect link of the virus to the tumorigenesis are fewer times presented but its significance should not be ignored. Drugs to be used in therapy against XMRV were identified as well as restriction factor present in humans wich stop its replication.

Conclusion- There is a high number of articles defending a causal relation between XMRV and prostate cancer. Nevertheless, many authors suggest this virus is only found in humans due to laboratorial contamination.

Keywords - Prostate Cancer, tumor, RNase, viruses, XMRV.

Agradecimentos

Este será um espaço muito breve para um longo obrigado que quero fazer chegar a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para terminar esta caminhada.

Em primeiro lugar, ao Professor Doutor Rui Medeiros, meu orientador, pelo apoio, sugestões e prontidão com que sempre esclareceu as minhas dúvidas e ainda pela visão em direcionar a minha investigação para um tema absolutamente recente e ainda muito pouco explorado.

Aos meus pais, um agradecimento muito especial por, ao longo deste tempo, estarem sempre presentes, dando-me o apoio necessário.

À minha irmã, Ana Filipa, pelas palavras de incentivo, paciência e apoio demonstrado ao longo da elaboração deste estudo e em todos os momentos das nossas vidas.

À minha avó, pelo carinho e encorajamento constante.

Às minhas amigas que tiveram um papel importante nesta caminhada, por todos os momentos bons e a ajuda nos momentos menos bons.

A todos o meu muito obrigado!

Índice Geral

Sumário	v
Abstract	vii
Agradecimentos	viii
Índice de Esquemas	xi
Índice de Figuras	xii
Índice de Gráficos	xiii
Índice de Quadros	xiv
Abreviaturas	xv
I – Introdução	1
1. Enquadramento do estudo	1
2. Cancro	1
i. Cancro, História Natural e Patologia	1
i.i. Carcinogénese	3
i.i.i. Epidemiologia	4
i.v. Fatores de risco	4
3. Cancro da próstata	4
i. Epidemiologia	4
i.i. Glândula prostática	5
i.i.i. História Natural, Patologia	6
i.v. Rastreio e deteção precoce	7
v. Métodos de rastreio	8
v.i. Tratamento	10
v.i.i. Fatores de risco	11

4. Vírus e Cancro	13
i. Estrutura Viral	13
i.i. Papiloma vírus e cancro do colo do útero	14
i.i.i. Vírus Epstein-Barr e carcinoma da nasofaringe	15
i.v. Vírus da hepatite B e C e cancro hepatocelular	16
II –Objetivos	17
III – Materiais e métodos	18
IV - Resultados e Discussão de Resultados	19
VI –Conclusão	39
VII –Referências Bibliográficas	41

Índice de Esquemas

Esquema 1 – Representação esquemática das características de uma célula neoplásica _____ 2

Esquema 2 – Representação esquemática do processo de rastreio e tratamento de uma neoplasia prostática _____ 11

Índice de Figuras

Figura 1 – Frequência de integração de XMRV comparando com outros vírus. A) Próximo das ilhas CpG; B) locais hipersensíveis à DNase_____23

Índice de Gráficos

Gráfico 1 – Distribuição relativa dos artigos citando a percentagem de vírus que se associam ao desenvolvimento de cancro da próstata _____ 19

Gráfico 2 – Distribuição relativa dos artigos citando a percentagem de autores que defende que XMRV é apenas um contaminante laboratorial _____ 19

Gráfico nº 3 – Frequência de artigos encontrados relativos aos locais de integração de XMRV e a uma possível influência andrógena por ano em que foram editados _____ 25

Gráfico nº4 – Número de artigos relacionados com os diferentes mecanismos de ação do vírus XMRV associado ao cancro da próstata _____ 33

Gráfico nº 5 - Número de artigos relacionados com os diferentes mecanismos de inibição do vírus XMRV _____ 38

Índice de Quadros

Quadro 1 – Percentagem de homens que desenvolvem cancro da próstata de acordo com o grupo etário _____	12
Quadro 2 – Vírus associados a cancro humano _____	14
Quadro nº3 - Mecanismos de ação do vírus XMRV _____	21
Quadro nº 4 – Estudos que defendem uma relação independente entre RNaseL e cancro da próstata _____	29
Quadro nº5 - Mecanismos de inibição do vírus XMRV _____	34

Abreviaturas

3TC- lamivudina

ABC- abacavir

AZT- zidovudina

D4T- estavudina

Ddl- didarosina

DHT- dihidrotestosterona

DNA- ácido desoxirribonucleico

EBV- Epstein-Barr vírus

EUA- Estados Unidos da América

GFP- greenfluorescent protein

GRE- elemento de resposta a glucocorticoides

HBV- vírus da hepatite B

HCV- vírus da hepatite C

HIV- vírus da imunodeficiência humana

HPV- vírus do papiloma humano

IFI- imunofluorescência indirecta

IFN- interferão

MLV- murine leucemia vírus

PAP- fosfatase ácida prostática

PCR- polymerase chain reaction

PIN- neoplasia intra-epitelial prostática

PSA- prostate specific antigen

RAL- raltegravir

RNA- ácido ribonucleico

RNase- ribonuclease

SEVI- semen-derived enhancer of virus infection

TDF- tenofovir

Vif- fator de infetividade viral

XMRV- xenotropic murine leucemia vírus related

I- Introdução

1.) Enquadramento do estudo

O cancro da próstata é um importante problema de saúde pública. Não há uma causa clara e, apesar das estratégias de diagnóstico serem já bastante evoluídas, proporcionando um aumento do número conhecido de casos, outros fatores são muito importantes como a alimentação, o estilo de vida, ou o meio ambiente.

Este trabalho pretende identificar e avaliar os possíveis mecanismos de ligação de diferentes vírus ao cancro da próstata. Para um melhor enquadramento do estudo, será realizada uma pequena introdução ao cancro, cancro da próstata e aos vírus.

2.) Cancro

i. Cancro, História Natural e Patologia

As doenças oncológicas são atualmente uma das principais causas de morte mundial, sendo caracterizadas para além da sua elevada mortalidade e morbilidade, por um aumento contínuo da sua incidência. O envelhecimento populacional e os avanços tanto ao nível dos métodos de diagnóstico como da eficácia do tratamento não podem ser esquecidos como fatores importantes (Macedo et al., 2008).

Depois de vários anos de investigação, sabe-se agora que o cancro é uma doença que envolve alterações dinâmicas na expressão do genoma que se vão traduzir no aparecimento de uma população de células alteradas, denominadas células tumorais. Apenas uma célula é suficiente para resultar num cancro (Hanahan e Weinberg, 2000).

A atual definição científica de cancro refere-se a um tumor maligno, que se forma através de uma série de mutações somáticas em genes específicos (protooncogenes e genes supressores tumorais) e resulta numa descontrolada proliferação celular (Feller et al., 2010).

Os protooncogenes, que codificam proteínas normalmente funcionais, podem por um qualquer mecanismo de ativação (mutação, deleção, amplificação, etc) formar os oncogenes que serão responsáveis pelos comportamentos anormais que se sucedem. Há um crescimento descontrolado, uma constante multiplicação celular, uma necessidade de novos vasos sanguíneos para a sua nutrição, levando à angiogénese (formação de novos vasos sanguíneos a partir dos já existentes). Esta acumulação de células vai formar o tumor maligno (Bastos et al., 2011; Bruce e Ponder, 2001). Os tumores podem ainda aparecer por mutações nos genes supressores tumorais, o que faz com que a célula não perceba quando está sujeita a erros que deveriam provocar a apoptose ou o bloqueio do ciclo celular (Levitt e Hickson, 2002).

Em qualquer uma destas situações vai sempre haver uma alteração no controlo da proliferação celular, da morte celular e na reparação do DNA (Oliveira et al., 2007). O aparecimento de metástases mostra-nos uma fase avançada da doença, implicando o abandono do tumor primário quer através de vasos linfáticos como sanguíneos e o seu transporte para um órgão alvo onde se dá então o crescimento de uma nova lesão tumoral (Wyckoff et al., 2000).



Esquema 1 – Representação esquemática das características de uma célula neoplásica (adaptado de Oliveira *et al.*, 2007)

Existem quase 200 tipos de cancro que correspondem aos vários sistemas de células do corpo, os quais se diferenciam pela capacidade de invadir tecidos e órgãos, vizinhos

ou distantes, havendo ainda muito para estudar em relação a esta patologia e ao seu tratamento (Bastos et al., 2011).

***i.i.* Carcinogénese**

Há vários tipos de modelos relativos ao processo que dá início à carcinogénese.

Este processo, que se trata da formação do cancro, vai incluir três etapas fundamentais denominadas por iniciação, promoção e progressão. Todas elas se vão caracterizar por transformações morfológicas e bioquímicas e vão ser o resultado de alterações genéticas e/ou epigenéticas, como já referido.

Na iniciação as células ainda não são consideradas neoplásicas. Do ponto de vista fenotípico não se verificam grandes alterações em relação às células normais, sendo no genoma que ocorrem alterações mais significativas. As células vão sofrer mutações que induzem a proliferação, mas não a diferenciação. Esta fase é reversível.

A fase da promoção caracteriza-se por um aumento da proliferação celular, por uma sucessão de mutações, um aumento das alterações genéticas, havendo um descontrole do crescimento celular.

Por fim a progressão é a transformação das neoplasias benignas, sendo este o nome dado às lesões que apareceram na fase de iniciação e promoção, em neoplasias malignas. Progressão é caracterizada pela irreversibilidade, a instabilidade genética, um crescimento mais rápido, invasão, metastização, e pelas mudanças nas características bioquímicas, metabólicas e morfológicas de células (Greaves, 2002; Vineis et al., 2010).

A principal característica que diferencia uma neoplasia benigna de uma maligna é a sua capacidade de invadir outros tecidos e formar novos tumores. Uma forma de defesa contra o desenvolvimento do cancro envolve uma série de genes cuja função é metabolizar e excretar compostos potencialmente tóxicos e reparar erros que surgem no DNA (Brennan, 2002).

i.i.i. Epidemiologia

Para o planeamento e avaliação dos programas de controlo do cancro é necessária uma avaliação estatística dos dados de ocorrência da doença. Assim, segundo dados estatísticos, verificamos que na Europa, no ano 2008 apresentou-se uma estimativa de cerca de 3,2 milhões de novos casos de cancro e 1,7 milhões de óbitos, números que não podem ficar indiferentes. Os cancros mais comuns foram os colon-rectais (13,6% do total), cancro da mama (13,1%), pulmão (12,2%) e próstata (11,9%) (Ferlay et al., 2010). Cada caso é sujeito a um tratamento diferente e quanto mais cedo for feito o diagnóstico e iniciado o tratamento, maior sucesso terá a terapêutica (Oliveira et al., 2007).

i.v. Fatores de risco

Parecem ser várias as razões que podem levar ao aparecimento de um cancro. Estudos mostram associações com fatores como excesso de álcool, exposição a químicos, toxinas ambientais, exposição ao sol, obesidade, radiações, vírus, entre outros. A maioria dos casos, (cerca de 80%), parecem estar relacionados com o meio ambiente, onde incluímos o ambiente ocupacional, social e cultural, tal como os hábitos alimentares. Os hábitos de vida de uma pessoa podem ser determinantes (Bastos et al., 2011).

3.) Cancro da próstata

i. Epidemiologia

O cancro da próstata é hoje uma grande preocupação a nível mundial, apresentando uma causa significativa de morbilidade e mortalidade do sexo masculino. É considerado um problema de saúde pública, estimando-se um diagnóstico de cerca de 679.000 novos casos apenas no ano de 2002 (Parkin, 2005). Trata-se do tumor maligno diagnosticado com maior prevalência no mundo ocidental, onde é a segunda causa de morte por cancro nos homens, sendo apenas ultrapassado pelo cancro do pulmão (Rescigno et al., 2012).

Nos homens americanos, em 2009, estimou-se um valor de 192,280 casos diagnosticados desta neoplasia, tal como um número acima de 27,000 mortes foi contabilizado. O cancro da próstata afeta um em cada 6 homens (Brawley et al., 2009). Em 2010, verificou-se um aumento de diagnósticos para 217,730 e de óbitos para 32,050 (Lorenzo et al., 2011). Na Europa, em 2006, apontava-se para valores de incidência de 24,1% e de 10,4% das mortes por neoplasias.

Em Portugal, em 2001 foi o tumor mais frequente nos homens, com 3895 novos casos e 1603 óbitos (Bastos et al., 2011). A sua incidência tem vindo a crescer cerca de 2 a 3% por ano. Cerca de 50% dos casos são diagnosticados num estágio local avançado, e cerca de 30% apresentam metástases ósseas na altura do diagnóstico (Macedo et al., 2006).

i.i. Glândula prostática

Quando se fala na próstata, refere-se a uma glândula apenas presente nos homens, que se encontra por baixo da bexiga e à frente do reto. As suas funções baseiam-se na proteção e nutrição dos espermatozóides, pois vai produzir um fluido alcalino rico em nutrientes e proteases de forma a tornar o ejaculado mais líquido. Vai também interferir no transporte da urina (Silva et al, 2006).

Esta glândula pode ser subdividida em quatro regiões tendo cada uma delas diferente percentagem no que se refere ao aparecimento de tumores malignos. Trata-se da zona periférica, onde 70 % das neoplasias se desenvolvem, zona central, onde se desenvolvem 15-20% das neoplasias, zona de transição com uma percentagem de 10-15% e por fim a zona fibromuscular anterior (De Mazro et al., 2007). Possíveis características biológicas distintas podem estar na base desta diferença de percentagens em cada região (McNeal, 1981).

A próstata vai-se desenvolver antes do nascimento e tem um crescimento contínuo até à idade adulta, regulado pelas hormonas masculinas. Em homens em idade avançada, se a próstata não parar o seu crescimento pode levar ao aparecimento de uma hiperplasia benigna, que leva a problemas como a dificuldade de passagem da urina.

Muitos médicos relacionam o aparecimento do cancro da próstata com a neoplasia intra-epitelial prostática (PIN). Esta traduz-se numa lesão não-invasiva da próstata, apresentando uma alteração histológica e citológica nas células epiteliais. Caracteriza-se por uma atipia celular, uma proliferação de células secretoras, nucléolos proeminentes, perda de controlo das funções celulares, apresentando características fenotípicas similares ao cancro. Esta lesão pode ser considerada de baixo ou alto grau (Gleason, 1996; Rodrigues et al., 2010). Quando esta neoplasia é de alto grau é por vezes considerada um estado pré-canceroso, visto os doentes de PIN terem grande probabilidade de ter cancro da próstata. Parece ser um estado intermediário para o cancro, conclusão fundamentada também em aspetos morfológicos tais como a rutura da camada de células basais, o aumento da capacidade proliferativa epitelial e da densidade microvascular (Laurila et al., 2010).

i.i.i. História Natural, Patologia

Há mais do que um tipo de cancro da próstata, destacando-se o adenocarcinoma que representa mais de 95% dos casos. Podemos também encontrar sarcomas, carcinoma de células transicionais, carcinoma epidermoide, entre outros (Arap e Coelho, 2010). Este carcinoma pode-se apresentar em forma de tumores de elevado grau, que já mostraram sintomas, ou seja, numa forma clínica significativa, ou em forma de tumores de baixo grau, com um crescimento lento, tratando-se de formas latentes (Grilo et al., 2004).

O cancro da próstata apresenta-nos uma história natural altamente variável, sendo uma das poucas relações que podemos obter ser uma maior probabilidade para os tumores de elevado grau formarem metástases comparado com os de baixo grau. Esta patologia pode-se manter em silêncio durante vários anos, tal como pode crescer muito rapidamente, originando metástases para os gânglios linfáticos e nos ossos e levando a uma esperança média de vida de cerca de 24 a 36 meses (Brawley et al., 2009). A progressão do tumor vai ser acompanhada pela desregulação de múltiplos fatores de crescimento, bem como da interrupção dos padrões normais de interações entre células. Os estudos mostram-nos uma acumulação de diversos defeitos genéticos (Ware, 1994).

O aparecimento de metástases pode ser considerado como a transição entre a doença localizada e a doença disseminada, havendo até quem considere que estes doentes são incuráveis (Reis et al., 2004). Mais de 90% dos doentes com cancro morrem devido a efeitos diretos ou indiretos de metástases. O prognóstico do doente vai ser imediatamente ligado ao estágio metastático do carcinoma (Donat et al., 2012). Pacientes com metástases ósseas causadas pelo cancro da próstata estão predispostos a complicações relacionadas com o esqueleto, incluindo compressão da medula espinhal, fratura patológica, cirurgia óssea e radioterapia para os ossos. Vão ser doentes associados a elevados custos hospitalares (Hagiwara et al., 2012). Mesmo quando o cancro aparece clinicamente localizado na próstata, uma fração substancial dos pacientes irá desenvolver tumores disseminados após terapia local com cirurgia ou terapia de radiação. Não existe ainda uma cura eficaz para os tumores metastáticos (Catalona e Biggs, 1990).

Para além da disseminação metastática há outros fatores que nos mostram o estado em que o cancro se encontra. O tamanho do tumor, a extensão do local e o grau histológico (dado pela classificação de Gleason) são as características a analisar. O tamanho do tumor é bastante importante, embora só na cirurgia é que se possa ter uma noção correta (Kato et al., 2008). A classificação de Gleason varia numa pontuação de 2 a 10 e vai-se basear no grau de perda de arquitetura do tecido glandular a partir do qual se desenvolveu o tumor. Quanto maior é o grau de Gleason de um tumor, maior a probabilidade de possuir um comportamento agressivo (Guerry et al., 2001; Humphrey et al., 2004).

***i.v.* Rastreio e deteção precoce**

Os testes de rastreio são utilizados para indivíduos que não apresentam sintomatologia da doença. No caso do cancro da próstata não há um esquema seguro de rastreio, sendo uma questão em debate no que toca aos seus benefícios. Estes testes têm como objetivo ajudar os doentes afetados por este cancro e não prejudicar os que não o têm (Silva, 2005). Por outro lado, um diagnóstico precoce vai ser essencial para manter a qualidade de vida dos pacientes na medida em que se começarmos a fazer um tratamento numa fase prévia os resultados são bastante mais promissores (Kazuto et al.,

2008). Embora as estimativas relativas ao rastreio desta doença mostrem benefícios em relação a quem faz os testes, os efeitos secundários associados também são proporcionalmente maiores (Barry, 2009). Vários falsos positivos aparecem que expõem o paciente a efeitos adversos desnecessários, tais como a morbidez do exame, dor, hematúria, infecções e septicemia. Este diagnóstico leva ainda a efeitos adversos do tratamento, o que inclui a incontinência urinária, disfunção erétil, e efeitos psicológicos (Anónimo, 2012).

O rastreio é aconselhado em homens com pelo menos 10 anos de esperança média de vida a partir dos 40-50 anos, dependendo dos fatores de risco individuais (Schroder et al., 2009).

v. Métodos de rastreio

No cancro da próstata, este rastreio é feito por exames como o PSA, o toque retal, a ecografia prostática trans-retal e por fim por uma biópsia.

Descoberto no início de 1970, o primeiro ensaio comercial de PSA foi aprovado em 1986. Trata-se de um método que vai quantificar o antigénio prostático específico ou PSA, que é uma glicoproteína produzida pelas células da glândula prostática. A sua função fisiológica é a liquefação do coágulo seminal após a ejaculação e, assim, permitir o movimento de espermatozóides no trato genital feminino (Jain et al., 2012).

Desde que se começou a utilizar o PSA como método de diagnóstico, a mortalidade do cancro da próstata diminuiu substancialmente. Nos Estados Unidos, de 1994 a 2006 houve um declínio de 4% por ano. Estudos Europeus de triagem verificaram uma redução de 20% na mortalidade e 41% na redução da doença metastática desde que existe este teste de diagnóstico (Loeb et al., 2011; Balk et al., 2003).

O teste, então conhecido como PSA, vai ser obtido a partir de uma amostra de sangue simples e é atualmente a ferramenta líder no rastreio para o cancro da próstata em vários países, sendo por vezes usada indiscriminadamente (Boyle e Brawley, 2009).

O primeiro passo é "apenas um teste de sangue", mas um valor acima do limiar vai abrir a porta para uma série de eventos com riscos de efeitos negativos, como excesso de diagnósticos, tratamento excessivo, falsos resultados positivos e possibilidade de realizar uma biópsia (Korfage et al., 2010). Valores na faixa 4-10 ng/mL podem ser associados à doença (Steuber et al., 2007). Mas apenas cerca de 75 a 80% dos casos em que são encontrados valores acima do normal de PSA estão associados a cancro da próstata, havendo então uma probabilidade entre 20 a 30% de não detetar o tumor. Isto deve-se ao facto de existirem outros fatores a alterar estes índices tais como infeções urinárias e medicamentos (Bradford et al., 2006).

Foram propostas variações do exame para melhorar a deteção dos casos de cancro da próstata. Para aumentar a validade do teste deveriam ser analisados valores como a densidade do PSA, o declive, a velocidade, tempo de duplicação, tal como a razão entre PSA livre e PSA total (U.S. Preventive Services Task Force, 2008).

Outro método de rastreio é o toque retal. Este é o teste de rastreio mais antigo utilizado para o cancro da próstata, embora apresente sérias limitações, visto ter uma taxa de deteção muito baixa. Outra limitação é que os cancros no estágio A (não palpáveis) não são detetáveis por este método. É uma técnica subjetiva que vai depender do médico que a realiza. Uma vantagem é que não apresenta custos. Quando estamos perante uma massa palpável e principalmente se esta se apresentar endurecida temos um sinal para que se sofre da doença (Silva, 2005).

A ecografia prostática trans-retal tem sido cada vez mais usada como teste complementar de diagnóstico. É um método que deteta e regista os ecos produzidos pelos ultra-sons quando estes passam através do reto. Para além da elevada sensibilidade (cerca de 97%), deteta lesões muito pequenas como 5 mm. Tem uma elevada aceitabilidade, visto os baixos custos associados, os baixos tempos de execução e a falta de necessidade de operadores especializados (Sá, 2003). Esta ecografia através de ultra-sons é geralmente reconhecida como o método de escolha para orientar as biópsias prostáticas (Lee et al., 2009). As biópsias traduzem-se num recolher de amostras de tecido prostático através de finas agulhas que penetram o reto. Permite

então o diagnóstico e uma classificação citológica do tumor, com um risco mínimo de complicações (Esposti et al, 1975).

v.i. Tratamento

Podemos classificar os doentes com cancro da próstata em diferentes grupos de risco que influenciam o tratamento a ser efetuado. São descritos como de baixo risco os tumores localizados, com níveis séricos de PSA inferiores a 10 ng/ml e um valor inferior a 6 na classificação de Gleason. Como risco intermediário, são classificados os casos que se apresentam com os valores de PSA entre 10-20 ng/ml e valores na classificação de Gleason maiores que 7. Como alto risco são classificados os pacientes que já acusam um estado avançado de doença, com níveis de PSA acima de 20 ng/ml e valores na classificação de Gleason superiores a 8 (Graefen et al., 1999; Kattan et al., 1998).

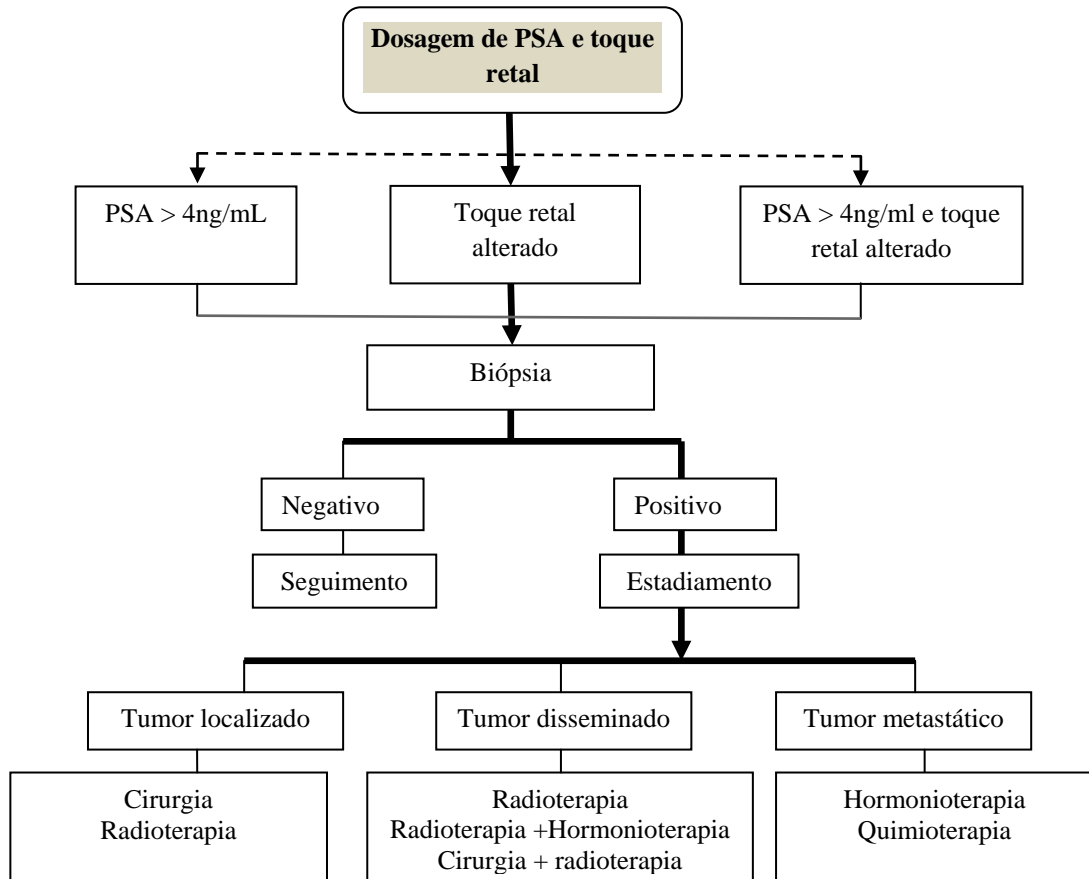
Entre os diferentes tipos de tratamentos que podem ser aplicados temos a prostatectomia, hormonoterapia, a observação vigilante, radioterapia, terapia focal e quimioterapia (Imyanitov, 2009).

A opção mais radical é a cirurgia. É feita uma prostatectomia, sendo removido todo o tecido da próstata. Esta opção de tratamento é utilizada em pacientes com esperança de vida de mais de 10 anos que demonstram uma alta probabilidade de doença confinada ao órgão (Comploj e Pyncha, 2012).

A terapia hormonal está cada vez mais a assumir um papel importante nos tratamentos desta neoplasia. Sabendo que o crescimento das células prostáticas cancerígenas é hormônio-dependente, esta terapia vai incidir na diminuição da produção de androgénios ou na sua função dos recetores. O paciente não fica curado recorrendo a este método, sendo por isso utilizado quando as principais opções falharam ou quando a doença se encontra já num estado muito avançado (Miyamoto et al., 2004).

A vigilância ativa, embora seja defendida por alguns médicos, deixa os pacientes hesitantes, pelo medo de progressão da doença. Vai ter como finalidade retardar um

tratamento curativo, ou, se não houver progressão da doença, evitar tratamentos desnecessários. O doente deve realizar testes de rastreio de 6 em 6 meses (Denberg et al, 2006).



Esquema 2 – Representação esquemática do processo de rastreio e tratamento de uma neoplasia prostática (adaptado de Arap e Coelho, 2010).

v.i.i. Fatores de risco

A etiologia do cancro da próstata permanece em grande parte desconhecida. Sabe-se que os indivíduos de raça negra têm uma probabilidade quatro vezes superior de apresentar esta neoplasia, sendo a mortalidade praticamente o dobro (Nwosu et al., 2001). Os antecedentes familiares também parecem ter influência. Outros fatores são a hiperestimulação androgénica, fatores genéticos, outras doenças associadas à próstata, a prática de exercício físico e exposição ocupacional a cádmio (Pereira, 2009). O risco de apresentar esta patologia também varia de população para população, havendo uma maior prevalência nos países ocidentais como nos EUA, Canadá e Europa do que nos países asiáticos (Greenwald, 2002). Este fato pode-se dever à dieta exercida nesses

países. Um déficit em micronutrientes, desde selénio, a vitaminas (ácido fólico) e antioxidantes verificados na dieta ocidental pode ser a principal causa (Giovannucci, 1999; Drager et al., 2011). Exposições ambientais, uso de produtos químicos e infeções sexualmente transmissíveis podem também estar na origem desta diferença geográfica (Rubin e Marzo, 2004). Investigações relacionadas com a dieta do indivíduo e a sua probabilidade de ter cancro da próstata mostram-nos por exemplo que carnes processadas ou curadas levam a um maior risco de cancro avançado e que a ingestão de peixe está inversamente associada com a mortalidade causada por este cancro. Além disso, a ingestão de gordura saturada pode ser positivamente associada com a mortalidade. Estes resultados suportam a hipótese de que fatores dietéticos podem então afetar a progressão do cancro de próstata. Trata-se de uma doença muito heterogénea (Richman et al., 2010; Park et al., 2007; Rohrmann et al., 2007; Augustsson et al., 2013).

Um fator dado quase como principal é a idade, notando-se um aumento exponencial do número de casos de cancro da próstata em homens com idade superior a 65 anos. Fala-se de uma diferença substancial, em que um recente estudo nos aponta uma subida bastante considerável quando comparados valores aos 40 e aos 70 anos (Delongchamps et al., 2007).

Quadro 1 – Percentagem de homens que desenvolvem cancro da próstata de acordo com o grupo etário
(Adaptado de Sá, 2003).

Percentagem de homens que desenvolvem cancro da próstata de acordo com o grupo etário	
Idade	% de homens com cancro da próstata
0-39 anos	<0.0001%
40-59 anos	1.83%
60-79 anos	14.79%
>80 anos	17.00%

Sabe-se atualmente que diversos cancros são causados por vírus, como é o caso do cancro do colo do útero pelo vírus do papiloma humano. No caso do cancro da próstata tem sido estudada a hipótese de uma origem viral.

Estima-se que cerca de 42% do risco de cancro da próstata pode ser explicado por influências genéticas. Assim esta patologia parece ter uma elevada interação entre fatores ambientais e genéticos na sua origem (Hshing e Chokkalingam, 2006; Schaid, 2004).

4.) Vírus e Cancro

i. Estrutura Viral

Vírus são agentes infecciosos de pequeno tamanho, estruturas bastante simples, com fácil capacidade de adaptação. Não apresentam potencial para produzirem a sua própria energia, sendo então considerados parasitas celulares obrigatórios. Podem infetar desde humanos, a plantas, bactérias e fungos e classificam-se segundo a sua morfologia, tipo de genoma e modo de replicação. São constituídos por um nucleóide, que vai conter o ácido nucleico viral (DNA ou RNA de fita simples ou dupla) associado a proteínas, uma cápside proteica, tendo uma função protetora e podem ou não conter um invólucro lipídico derivado da membrana celular do hospedeiro. Não possuem uma estrutura celular logo vão controlar o metabolismo da célula hospedeira induzindo síntese de ácido nucleico viral e proteínas (Kutznetsov e McPherson, 2011; Baclayon et al., 2010; Caspar e Klug, 1962).

As primeiras descobertas que demonstravam uma relação entre cancro e vírus datam do século XX, quando se tentava isolar o agente causador da leucemia aviária. Descobriu-se que a doença podia ser transmitida a aves saudáveis através de vírus. Mais recentemente foi descoberto o envolvimento de determinados vírus no aparecimento de alguns cancros humanos. Estima-se que recentemente entre 20 a 25% dos cancros humanos possuem uma etiologia viral. Um dos mecanismos usados pelos vírus para promover o desenvolvimento de um tumor é através da expressão de proteínas virais que alteram as propriedades do crescimento da célula. Noutros casos os vírus podem causar cancro de forma indireta (Fan, 2007).

Quadro 2 – Vírus associados a cancro humano (Adaptado de Fan, 2007)

Vírus	Família	Cancro	Causa estabelecida	Mecanismo
HPV 6, 18, 31, 35, etc.	Papovavirus	Cervical, anogenital, carcinoma da laringe	Sim	Direto
Esptein-Barr	Herpesvirus	Linfoma de Burkitt, carcinoma da nasofaringe, linfoma de Hodgkin's	Sim	Direto
Human T cell leucemia vírus tyne 1	Retrovirus	Leucemia celulas T adultas	Sim	Direto/ Indireto
Hepatite B	Hepadnavirus	Carcinoma hepatocelular	Sim	Indireto
Hepatite C	Flavovirus	Carcinoma hepatocelular	Sim	Indireto
HERK	Retrovirus	Cancro dos testículos, outros	Não	Direto ?
MMTV	Retrovirus	Cancro dos pulmões	Não	?
XMRV	Retrovirus	Cancro da prostata	Não	Indireto?
Sarcoma de Kaposi /HHV-8	Herpesvirus	Sarcoma de Kaposi, linfoma pleural	Sim	Direto

i.i. Papiloma Vírus e Cancro do colo do útero

O cancro do colo do útero está diretamente associado a uma infeção pelo Vírus do Papiloma Humano (HPV), verificando-se a presença do seu DNA em 99.7% dos casos deste tipo de cancro. Apesar de ser uma causa evidente, a infeção por este vírus parece não ser suficiente para o desenvolvimento de cancro do colo do útero, visto haver uma elevada discrepância entre a alta frequência de infeções por HPV e a em comparação reduzida ocorrência de lesões no colo do útero na mesma população (Confortini et al., 2010; Cuzick et al., 2003).

Notando-se que se trata do segundo tipo de cancro que mundialmente mais afeta as mulheres e o mais frequente em países em desenvolvimento, torna-se bastante preocupante, sabendo-se ainda que se detetado tardiamente evolui para estados mais agressivos (Cutts et al., 2007).

Até à data, foram identificados mais de 200 genótipos de HPV, mas nem todos infetam a mucosa em questão. Dentro desses podemos dividir os de baixo ou alto risco de acordo com o seu potencial oncogénico. Os principais genótipos associados ao cancro do colo do útero são então o 16 e o 18. Os tipos 6 e 11 parecem não ter interferência neste tipo de cancro, mas causam papilomas da laringe e verrugas genitais. (Howell-Jones et al., 2010).

Atualmente existem vacinas contra o HPV bastante eficazes na prevenção da infeção e doenças relacionadas com os genótipos do HPV. Existem dois tipos de vacinas: a vacina tetravalente do HPV desenvolvida contra os HPV 16, 18, 6 e 11 e a vacina bivalente, desenvolvida contra os HPV 16 e 18 (Rongo et al, 2006).

i.i.i. Vírus Epstein-Barr e carcinoma da nasofaringe

O vírus Epstein-Barr pertence à família *Herpesviridae* e encontra-se disseminado no ambiente, estando praticamente todos os indivíduos adultos em contacto prévio com o vírus que persiste na forma latente nos linfócitos B do hospedeiro. Estima-se que 90% dos adultos são portadores do vírus (Ehlin-Henriksson, 2003; Young e Murray, 2003).

Este vírus provoca mononucleose infecciosa, patologia com um quadro semelhante ao de uma gripe forte. Foi também relacionado com o desenvolvimento do linfoma de Burkitt, subtipos da doença de Hodgkin's, adenocarcinoma gástrico, entre outras patologias (Baumforth et al., 1999). É sugerido como agente etiológico de um número significativo de neoplasias malignas, sendo associado na maioria dos casos ao carcinoma da nasofaringe (Cohen, 2000). O carcinoma da nasofaringe trata-se de uma doença rara, com uma distribuição geográfica muito particular. No ano de 2000, cerca de 80% dos casos detetados são reportados aos países asiáticos, principalmente a China.

Estudos realizados sobre este tipo de cancro, demonstram que a infeção por EBV ocorre antes da expansão clonal das células tumorais (Breda et al., 2010).

i.v. Vírus da hepatite B e C e cancro hepatocelular

O carcinoma hepatocelular é um problema mundial devido à sua incidência, embora se desenvolva desproporcionalmente nos diversos países. Os países em desenvolvimento sofrem de 80% dos casos deste tipo de cancro (Yang et al, 2010). Este tipo de cancro está associado em elevado número a infeções crónicas pelos vírus da hepatite B (HBV) e C (HCV). Estudos recentes relacionam o aparecimento de 47% dos casos deste tipo de cancro com a presença do vírus da hepatite C, 15% ao vírus HBV e 5% em casos de co-infeção com ambos os vírus (Alison et al, 2005). A inflamação crónica, os efeitos das citocinas no desenvolvimento de fibrose e a proliferação de células do fígado induzidas pelo vírus da hepatite C são considerados os principais mecanismos patogénicos (Levrero, 2006). Em relação ao vírus da hepatite B, já existe uma vacina disponível que deve ser tomada por qualquer membro da população tendo uma elevada eficácia. Mas esta vacina não atua quando o vírus já se encontra instalado (Fwu et al., 2009).

Nos últimos anos tem sido retomada a hipótese de uma etiologia viral na origem de algumas neoplasias para as quais não existem ainda fatores etiológicos reconhecidamente aceites. Entre estas neoplasias temos os casos do cancro da mama e do cancro da próstata.

II. Objetivos

Esta dissertação visa efetuar uma atualização do conhecimento científico sobre os mecanismos víricos que possam ser considerados uma das causas do cancro da próstata, em particular o vírus XMRV.

Assim, tem como objetivo geral, concluir sobre a evidência científica existente demonstrativa da associação o referido vírus e o desenvolvimento de cancro da próstata.

Como objetivos específicos tem:

- Identificar na literatura os vírus que possam estar relacionados com esta patologia;
- Identificar na literatura que mecanismos são propostos para atuação do vírus XMRV na carcinogénese da próstata;
- Identificar na literatura que mecanismos inibem a propagação do vírus XMRV em humanos;
- Quantificar os estudos publicados.

II. Material e Métodos

Para a recolha de dados, foi utilizada a base de dados *MEDLINE*, com interface de pesquisa Pubmed (<http://www.pubmed.gov>), tal como jornais e revistas científicas onde foram pesquisados artigos de revisão publicados sobre este tema. A procura delimitou-se a todos os artigos entre o ano de 2006 e 2012 referentes aos vírus associados ao cancro da próstata.

De modo a cumprir o objetivo geral deste trabalho, foi realizada uma pesquisa bibliográfica para a qual foram considerados apenas artigos que permitissem responder aos objetivos específicos definidos. Como tal, identificou-se, na literatura, as referências bibliográficas relativas aos vírus associados ao cancro da próstata para uma posterior análise. Foi realizada uma comparação do número de artigos encontrados para cada vírus, calculando a respetiva percentagem. Foi definido dedicar este trabalho apenas ao vírus XMRV devido à maior afluência de dados encontrados.

Para realizar o estudo, analisou-se todos os mecanismos de ação observados pelo vírus tal como os mecanismos de inibição.

Finalmente comparou-se os dados obtidos e respondeu-se ao objetivo proposto inicialmente.

Os termos de pesquisa utilizados foram: *Prostate cancer, prostate cancer and vírus, XMRV associated with prostate cancer, action mechanism of XMRV, inhibition mechanism of XMRV.*

IV) Resultados e Discussão

1.) Identificar na literatura os vírus que possam estar relacionados com esta patologia

A relação entre vírus e o cancro da próstata tem despertado o interesse de muitos investigadores. Na pesquisa bibliográfica realizada foram encontrados 40 artigos, escritos maioritariamente em inglês, referentes a três vírus que podem influenciar no aparecimento desta patologia. Dentro destes, 30 (73%) referem-se ao vírus XMRV, 8 (20%) ao vírus Herpes e 3 (7%) ao HPV (Gráfico 1).

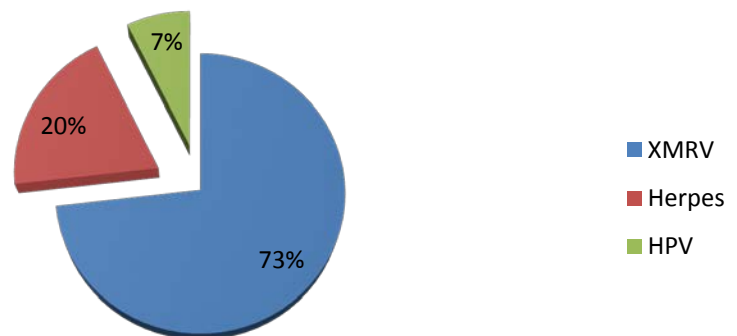


Gráfico 1 – Distribuição relativa dos artigos citando a percentagem de vírus que se associam ao desenvolvimento de cancro da próstata.

Dentro dos artigos que se referem ao vírus XMRV, 7 (23%) defendem que o seu aparecimento em amostras de cancro da próstata é apenas como um contaminante laboratorial (Gráfico 2).

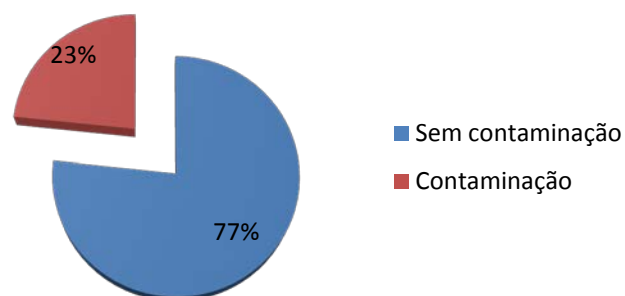


Gráfico 2 – Distribuição relativa dos artigos citando a percentagem de autores que defende que XMRV é apenas um contaminante laboratorial.

O presente trabalho vai debruçar-se apenas no vírus XMRV pois pela pesquisa realizada parece ser o vírus mais intensamente estudado quando se fala desta patologia. Tem sido postulada a hipótese de uma forte associação entre este vírus e o aparecimento de cancro da próstata.

O vírus XMRV é um Gammaretrovírus recentemente descoberto com um elevado grau de homologia com o vírus da leucemia murina (MLV), sendo por isso designado vírus da leucemia murina xenotrópico (Yang *et al.*, 2011). Os retrovírus são vírus de RNA capazes de realizar a transcriptase reversa, ou seja, vão gerar moléculas de DNA a partir do RNA, pela ação de uma enzima designada transcriptase reversa (Aloia *et al.*, 2011).

Uma ligação direta ou indireta envolvida na carcinogénese por XMRV tem sido sugerida, dependendo se o vírus foi encontrado no epitélio ou no estroma maligno. Uma forte ligação com mutações na RNase também tem sido proposta. A replicação viral na próstata pode ser afetada por andrógenos que estimulam XMRV. Em contraste, alguns fatores de restrição, como APOBEC3 e Tetherin, inibem a replicação do vírus. Estudos recentes mostram ainda que algumas drogas anti-retrovirais existentes podem suprimir infeções por XMRV e ensaios de diagnóstico estão em desenvolvimento (Silverman *et al.*, 2010).

A associação deste vírus com o cancro da próstata pode ter importantes implicações na deteção, prevenção e tratamento desta patologia. Os métodos mais utilizados para detetar o vírus incluem hibridação de ácidos nucleicos; PCR; hibridação *in situ* fluorescente, imuno-histoquímica, cultura do vírus, entre outros. A aplicação de várias técnicas independentes para determinar a presença do vírus assume uma elevada importância. Os resultados obtidos não mostram ainda uma conclusão clara, havendo quem defenda uma relação causal entre o vírus e este tipo de cancro e quem não encontre nenhuma associação (Aloia *et al.*, 2011).

2.) Identificar na literatura que mecanismos são propostos para atuação do vírus XMRV na carcinogênese da próstata

Nos artigos encontrados referentes a este vírus foram citados os seguintes mecanismos de ação do vírus:

Quadro nº3 - Mecanismos de ação do vírus XMRV

Mecanismo	Nº de artigos nos quais foram referidos	Referências
Preferência por determinados locais de integração. Influência andrógena	7	Rodriguez e Goff, 2010; Dong e Silverman, 2010; Kang et al., 2011; Dong et al., 2006; Silverman, 2008; Garson et al, 2011; Kim et al., 2008
RNaseL	7	Kim et al., 2008; Fan, 2007; Knouf et al., 2009; Urismas et al., 2006; Silverman, 2008; Reza et al., 2012); Hong et al., 2009)
Sem influência da RNaseL	2	Danielson et al., 2009; Schlager et al., 2009
Transmissão sexual	2	Sharma et al., 2011; Kang et al., 2011
SEVI * semen-derived enhancer of virus infection	2	Kang et al., 2011; Hong et al., 2009
Ligação Indireta à tumorigênese	5	Silverman, 2008; Urismas et al., 2006; Garson et al, 2011; Knouf et al., 2009; Danielson et al., 2009

i.) **Locais de integração**

Há um elevado número de potenciais mecanismos pelos quais um retrovírus pode causar cancro da próstata, desde a transformação de células por ativação insercional de um oncogene, a transdução de um oncogene derivado do hospedeiro ou oncogénese por uma proteína viral. Os retrovírus que não carregam oncogenes, normalmente induzem tumores nos seus animais hospedeiros suscetíveis por mutagénese insercional proviral, em que protooncogenes são ativados através de inserção de um promotor ou potenciador, que aparece como consequência da integração do genoma de DNA viral no cromossoma da célula hospedeira. A escolha do local de destino não é aleatória, portanto, essa preferência pelo local de integração pode ter um significado importante para o potencial impacto de um retrovírus no seu hospedeiro (Kim et al., 2008).

Para determinar os locais de integração preferidos pelo XMRV e o potencial risco de mutagénese proviral, Kim e seus colaboradores realizaram uma análise de todos os locais de integração do genoma para a linhagem celular DU145 específica para o cancro da próstata, após uma infeção com XMRV. Compararam os padrões locais de integração de XMRV com os encontrados para outros retrovírus que infetam humanos. Entre os retrovírus analisados, o vírus XMRV apresentou maior preferência por locais de início de transcrição, tais como ilhas CpG, regiões densas e locais de hipersensibilidade da DNase. Além disso, os locais de integração de XMRV em tecidos de cancro da próstata foram associados a locais frágeis comuns, microRNA e genes relacionados com cancro, sugerindo um processo de seleção que favorece determinados locais de integração cromossómica. Estes resultados são consistentes com um modelo em que o XMRV pode contribuir para tumorigenicidade por um mecanismo parácrino.

Uma outra conclusão obtida foi a necessidade de expressão do recetor de superfície da célula humana XPR1 para a infeção pelo XMRV, implicando-o como o seu recetor (Kim et al., 2008).

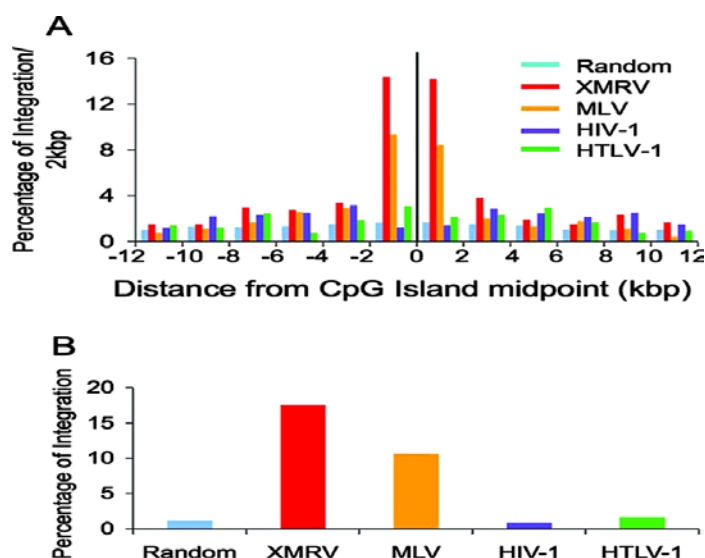


Figura 1 – Frequência de integração de XMRV comparando com outros vírus. A) Próximo das ilhas CpG; B) locais hipersensíveis à DNase. (Adaptado de Kim, *et al.*, 2008).

Um outro estudo foi realizado para determinar o tropismo de XMRV em culturas de células. Foi testada a capacidade de XMRV se espalhar e replicar na próstata e em linhas celulares prostáticas. Concluíram que, embora a expressão das proteínas virais de XMRV e a propagação do vírus infeccioso fossem mínimas para uma variedade de linhas de células, este vírus exibiu uma expressão robusta na infecção de células de tumor da próstata LNCaP. Mostraram que XMRV pode replicar eficientemente em células LNCaP da próstata e induzir a libertação de níveis elevados de vírus. Isto pode em parte dever-se a um melhor ambiente de transcrição nas células LNCaP que permite a produção de mais proteínas virais e subsequente aparecimento das partículas virais. Os dados apresentados indicam ainda que a transcrição de XMRV pode ser reforçada por esteróides, sugerindo que o vírus XMRV pode mostrar seletividade para os tipos de células que respondem a hormonas, incluindo a próstata. Isolamento e sequenciação do vírus a partir de três pacientes com cancro da próstata revelaram similaridades diferentes de nucleótidos para os vírus MLV, e o vírus XMRV. A estrutura do genoma de XMRV é típico dos retrovírus gama. O gene *env* codifica a glicoproteína homóloga à proteína do envelope de MLV que medeia a ligação do vírus ao recetor XPR1 na superfície de células. Em contraste com os retrovírus mais complexos, tais como lentivírus, XMRV não codifica quaisquer genes acessórios. Assim, este estudo analisou principalmente o tropismo do XMRV em diferentes linhagens celulares de cultura,

concluindo que as células LNCaP são a linha celular hospedeira mais eficaz para a propagação do XMRV (Garson et al, 2011).

Silverman, ao montar um clone molecular viral da replicação de XMRV, reforçou as ideias anteriores ao verificar que XMRV se replica de forma mais eficiente em células de cancro da próstata LNCaP quando se encontra um silenciamento epigenético de JAK1 e uma mutação em apenas um alelo de RNASEL, do que em células de cancro da próstata DU145 heterozigóticas para RNase L (Silverman, 2008).

Um outro estudo realizado utilizou células CHO e LNCaP para testar a infeção por XMRV e para comprovar se XPR1 seria necessário para essa infeção. Os resultados obtidos mostraram que as células CHO infetadas produziram baixos níveis de XMRV, em contraste com as células LNCaP. A linha celular LNCaP não possui JAK1, que é necessário para a sinalização do IFN I devido a um silenciamento epigenético. Para além disso, estas células são parcialmente deficientes em RNase L por causa de uma deleção de um alelo. No entanto, em ambos os testes, a expressão de XPR1 foi sempre necessária e possivelmente funciona como um recetor de XMRV (Dong et al., 2006).

Estudos que analisam o tropismo de células cultivadas sugerem um papel para o recetor de androgénio como promotor da replicação de XMRV. Para chegar a esta conclusão, os autores basearam-se na facilidade que o vírus demonstra de se espalhar e replicar em células LNCaP positivas para recetores andrógenos, mas não em diversas outras linhas celular sem esses recetores (Kang et al., 2011).

Dong e Silverman também realizaram estudos sobre este tema. A transcrição do genoma de XMRV é mediada por elementos da região U3 da extremidade 5' do terminal longo, um segmento de 390 nucleótidos, que inclui o promotor do núcleo e potenciadores. Muitos retrovírus, incluindo o XMRV contêm um elemento de resposta de glucocorticóides (GRE) na região U3. GREs virais são estimulados em resposta a vários esteróides, incluindo glucocorticóides, mineralocorticóides, progesterona e androgénio. Para testar se o vírus XMRV era estimulado por andrógenos, estes investigadores estudaram os efeitos de dihidrotestosterona (DHT) na transcrição e replicação do vírus. Concluíram que a transcrição de XMRV a partir da região U3 foi

estimulada até duas vezes por DHT, mas apenas em células que continham um recetor de androgénio funcional. Mutações no elemento de resposta a glucocorticóides (GRE) de XMRV prejudicaram a transcrição basal. Em contraste, os inibidores de andrógenos (Casodex e flutamida) suprimiram o crescimento viral até 3 vezes. Os resultados sugerem que a integração de XMRV no hospedeiro pode decorrer de estímulos andrógenos em genes celulares (Dong e Silverman, 2010).

Rodriguez e Goff concluíram que apesar da expressão de proteínas virais XMRV e da propagação do vírus infeccioso serem mínimas numa variedade de linhas celulares, XMRV exibiu elevada expressão e infeção nas células de tumor de próstata LNCaP. O promotor de U3 XMRV e um elemento de resposta a glucocorticóides (GRE) foram necessários para a atividade de transcrição em células LNCaP. A co-expressão do recetor androgénico e a estimulação com dihidrotestosterona aumentaram a transcrição de XMRV em células 293T, sendo GRE necessário para esta atividade. Estes dados sugerem que o XMRV se pode replicar de forma mais eficiente em células de LNCaP, provavelmente devido ao ambiente de transcrição que estas células proporcionam (Rodriguez e Goff, 2010).

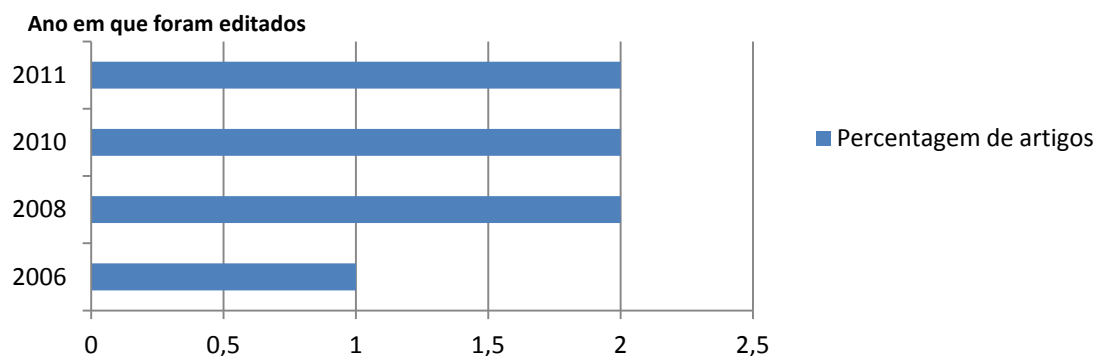


Gráfico nº 3 – Frequência de artigos encontrados relativos aos locais de integração de XMRV e a uma possível influência andrógena por ano em que foram editados

i.i. RNase L

A RNase L é uma endoribonuclease que funciona em resposta à atividade antiviral do interferão (IFN). Quando ativa, destrói o RNA que se encontra dentro da

célula, tanto o viral, como o celular e induz a apoptose. RNase L está presente em quantidades muito pequenas durante o ciclo celular normal. Quando o interferão se liga a recetores de células virais vai ativar a transcrição de cerca de 300 genes para produzir o estado antiviral. Entre as enzimas produzidas está a RNase L, inicialmente numa forma inativa. A ativação ocorre a partir do dsRNA existente no citoplasma que estimula 2'-5' oligo (A) para a síntese de 2'-5' ácido adenílico, que por sua vez ativa a RNase L. Esta faz parte da defesa inata do organismo imune, ou seja, promove a defesa da célula (Fan, 2007).

Segundo o investigador Sanggu Kim e seus colaboradores, o vírus XMRV foi identificado no tecido de pacientes com cancro da próstata e com uma mutação na enzima RNase L. Construiu-se um clone molecular de XMRV capaz de infetar o tecido da próstata humano e linhas celulares prostáticas. A replicação do vírus clonado é sensível ao IFN- β , sendo a RNase L requerida para uma eficaz resposta antiviral pelo IFN. Concluiu-se que indivíduos que apresentam uma mutação que os torna homozigóticos para R462Q têm um risco aumentado de vir a sofrer de cancro da próstata, visto que a associação desta mutação com este tipo de cancro sugere que defeitos hereditários de RNase L podem aumentar a suscetibilidade a agentes infecciosos, levando a tumorigénese (Kim et al., 2008)

Hugh Fan também se dedicou à investigação desta temática. Concluiu que em famílias HPC1, uma única substituição de aminoácido, R462Q, na RNase L conduz a uma atividade enzimática reduzida. Grupos de pesquisa na Clínica de Cleveland e da Universidade da Califórnia em San Francisco colaboraram para testar esta hipótese. cDNAs foram amplificados por PCR de pacientes QQ RNase L ou controles. Foram hibridados com o ViroChip que contém sequências conservadas a partir de uma grande variedade de vírus eucarióticos. Foi surpreendente que 40% dos pacientes QQ com cancro da próstata hibridaram com as sequências no ViroChip correspondentes ao XMRV. Os indivíduos com o genótipo QQ foram relatados como apresentando um risco duas vezes mais elevado para o desenvolvimento de cancro da próstata. O polimorfismo R462Q é bastante comum, apresentando uma frequência do gene 35%, e os indivíduos com o genótipo QQ compõem \approx 11% da população (Fan, 2007).

Knouf e seus colegas realizaram uma análise de cDNA a partir de tumores da próstata, utilizando um Virochip que continha sequências de DNA conservadas de todas as famílias de vírus conhecidas. Os resultados indicaram a presença deste novo Gammaretrovirus em 40% dos pacientes com cancro da próstata analisados e com mutações homozigóticas R462Q em RNase L (Knouf et al., 2009).

Como já referido, a ribonuclease L (RNase L) é um efetor importante da resposta inata antiviral. As mutações ou variantes que prejudicam a função de RNase L, particularmente R462Q, têm sido propostas como fatores de suscetibilidade para o cancro da próstata. Urismas e seus colaboradores centraram a sua investigação no uso de um microarray de deteção de DNA viral constituído por oligonucleótidos correspondentes às sequências mais conservadas de todos os vírus conhecidos. Identificaram a presença de sequências de gammaretrovirus em amostras de cDNA em sete de onze casos estudados R462Q-homozigóticos (QQ), e em um dos oito heterozigotos (RQ) e homozigóticos tipo selvagem (RR). A análise de 86 tumores utilizando a metodologia de RT-PCR com primers específicos detetou o vírus em oito dos 20 casos R462Q-homozigóticos QQ (40%), em comparação com apenas uma amostra (1,5%) detetada nos restantes 66 casos com genotipo RQ e RR (Urismas et al., 2006).

Nos estudos realizados por Silverman e colegas os trabalhos foram focalizados na biologia e bioquímica do sistema L 2-5A/RNase. Este autor caracterizou a RNase L como uma enzima fascinante, com um arranjo interessante de domínios estruturais e funcionais e um modo intrigante de ação. Inicialmente esta enzima foi proposta pelo investigador como um gene supressor tumoral. No entanto, várias mutações da linha germinativa ou de variantes de HPC1/RNASEL foram observadas no cancro da próstata. Em colaboração com Graham Casey, realizaram um estudo controlado onde verificaram que numa cópia do gene mutante havia um risco aumentado em 50% de vir a sofrer de cancro da próstata. A variante “Q” da RNase apresentava uma redução de três vezes na atividade catalítica em comparação com a enzima não mutada. A RNase L é também um mediador principal na ação antiviral do IFN. Para testar a hipótese referida, Silverman, em colaboração com Don Ganem, Joseph DeRisi e Eric Klein, analisou tumores de próstata por hibridização utilizando um microarray de DNA. Estes

autores observaram a presença do genoma do XMRV em 40% (8 de 20) de todos os tumores homozigóticos para o alelo R462Q (Silverman, 2008).

Estudos posteriores realizados por Reza e seus colaboradores dedicaram-se a investigar a prevalência deste vírus em pacientes iranianos com cancro da próstata e a sua associação, mais uma vez, com o polimorfismo R462Q RNASEL. Assim, realizaram um estudo em Kerman, sudoeste do Irão, onde procuraram verificar esta associação usando um PCR de tempo real. Foram selecionados duzentos doentes com cancro da próstata durante dois anos (2010-2012), nos quais se realizou uma biópsia. Diferentes grupos etários foram selecionados, agrupando-se por menores de 40 anos, entre 40-50, entre 50-60 e maiores de 60. No total, a frequência de alelos para R462Q era QQ= 45 (22.5%), RQ= 77 (38,5%), RR= 78 (39%). 192 dos 200 pacientes deram um resultado negativo para XMRV, sendo apenas 8 positivos. Dos doentes com resultados positivos, 5 pacientes eram homozigóticos QQ e os outros 3 eram heterozigóticos RQ. Concluindo, os resultados deste estudo mostram que o XMRV apenas foi encontrado em pacientes com alelos QQ e RQ. Nos doentes portadores do genótipo RR não foi encontrado o vírus. Neste caso, o vírus XMRV mostrou envolvimento nos pacientes com tumores na próstata. Os resultados apresentados identificam a infeção pelo vírus utilizando um PCR de tempo real com primers específicos para XMRV e mostrou-se ainda uma forte ligação com a atividade de RNase (Reza et al., 2012).

Outro estudo, realizado por Hong e colaboradores defende que a presença de XMRV em tecidos da próstata a partir de casos de cancro da próstata foi fortemente associada a uma variante da RNase L homozigótica (QQ) com atividade reduzida. No estudo destes autores, apenas um dos cinco pacientes QQ (20%) teve um resultado positivo para XMRV, em comparação com 3 de 27 pacientes com pelo menos uma variante R (11%). Por conseguinte, a correlação entre o genótipo QQ e a presença de XMRV permanece elevada ($P < 0,0001$), embora os pacientes RR e RQ possam, em alguns casos, também ser XMRV positivos em frequências mais baixas. Não se sabe se estes pacientes têm outras mutações RNaseL ou nos genes responsáveis pela síntese do ativador de RNase L (Hong et al., 2009).

Por outro lado, vários investigadores defendem uma possível ligação entre XMRV e cancro da próstata, independentemente do genótipo R462Q. Um exemplo decorre de um estudo realizado nos Estados Unidos onde foram utilizadas amostras de tecido de próstata de 144 doentes com cancro da próstata, que foram genotipados para R462Q por PCR em tempo real. Estes, também por PCR, foram rastreados para a presença de DNA proviral de XMRV. Os resultados revelaram que o polimorfismo R462Q foi encontrado com uma frequência alélica de 0,33 e o vírus XMRV foi detetado em 32 dos 144 pacientes, ou seja, 22%. Um resultado positivo para XMRV não foi clinicamente correlacionado com o polimorfismo R462Q ou parâmetros clínicos patológicos de cancro da próstata, incluindo com a escala de Gleason (Danielson et al., 2009).

Schlaberg et al., também realizaram uma pesquisa na qual foram analisadas 334 amostras de tecidos de próstata, entre os quais 233 casos com cancro da próstata e 101 com hiperplasia benigna da próstata. Usou-se um ensaio de PCR quantitativo e métodos de imuno-histoquímica (IHQ) com um anti-soro anti-XMRV específico. Foi encontrado DNA de XMRV em 6% dos casos malignos estudados e verificou-se a expressão de proteínas XMRV em 23% dos casos de cancro de próstata. Conclui-se a partir deste estudo que a infeção por XMRV poderá estar associada com o cancro da próstata, especialmente em casos de elevado grau, mas em contraste com outros trabalhos realizados, verifica-se que esta infeção é independente de um polimorfismo no gene RNaseL. Esta constatação aumenta a população em risco, já que até aí só estariam em perigo os indivíduos homozigotos para a variante RNaseL (Schlaberg et al., 2009).

Quadro nº 4 – Estudos que defendem uma relação independente entre RNaseL e cancro da próstata

Método	Resultados	Referência
PCR de tempo real	Infeção associada com cancro da próstata mas não com RNaseL	Danielson et al., 2009
PCR quantitativo e Imunohistoquímica	Infeção associada com cancro da próstata mas não com RNaseL	Schlaberg et al., 2009

i.i.i. Transmissão sexual e Influência de SEVI

Uma das questões associadas ao vírus XMRV é a sua via de transmissão.

Um estudo realizado criou um modelo animal de infecção por XMRV com macacos rhesus. Apesar da inoculação intravenosa, todos os macacos infetados exibiram sinais facilmente detetáveis no trato reprodutivo, tanto dos 4 machos como da fêmea testados, durante as fases de infecções agudas e crônicas. XMRV mostrou um crescimento explosivo nos ácinos da próstata durante a infecção aguda mas não crônica. A produção de proteínas XMRV foi detetada nas vesículas seminais, epidídimo e testículos. Na fêmea, as células epiteliais do colo do útero e da vagina também foram positivas para XMRV. Este estudo demonstra inequivocamente que XMRV é contagioso para os primatas, induzindo a uma infecção persistente que, dado o contexto certo, pode ser reativado in vivo. Durante as análises histológicas dos animais testados, percebeu-se que, apesar da infecção generalizada, XMRV pareceu mostrar uma preferência por tecidos e órgãos do trato reprodutivo, sugerindo a possibilidade de transmissão sexual (Sharma et al., 2011).

A fosfatase ácida prostática (PAP) é uma proteína não específica, produzida na próstata e secretada no sémen em grandes quantidades que forma fragmentos carregados positivamente, as fibrilas amiloides, que aumentam significativamente a infecciosidade de alguns vírus já estudados como é o caso do HIV-1. Estas fibrilas, ou “potenciadoras da infecção viral derivadas do sémen” (SEVI- semen-derived enhancer of virus infection) atuam pela captura de viriões e aumentam a sua fixação e a sua entrada pelos recetores de superfície celular. Esta capacidade é independente da glicoproteína viral, não sendo portanto restrita ao HIV-1.

O mecanismo envolvendo SEVI também tem sido estudado em relação ao vírus XMRV. Um aumento da fixação e fusão do vírus e uma infetividade de XMRV em culturas de células reforçada pelo sémen humano são as conclusões verificadas. Na opinião de Kang e colaboradores, estes resultados, tal como a presença de RNA de XMRV nas secreções da próstata, sugerem a transmissão sexual como um mecanismo biológico para a propagação viral (Kang et al., 2011).

Hong e colaboradores testaram esta hipótese. Sabendo que SEVI é originado na próstata, órgão no qual a infecção por XMRV foi descoberta e promove a ligação viral de um modo não específico, procurou-se determinar o seu efeito sobre a infecção por XMRV. Estes autores demonstram que a infetividade de XMRV é grandemente aumentada por SEVI e que o RNA de XMRV é detetável em portadores de tumores humanos. Chegam à conclusão que fibras amiloides SEVI promovem a infecção por XMRV em tipos de células prostáticas e não prostáticas humanas. Para investigar este efeito, XMRV foi incubado com SEVI durante 5 minutos antes de infetar as células DU145 a 1 TCID₅₀ por 10³ células. Os níveis de RNA de XMRV nas células foram medidos após 3 dias por PCR-qRT. O tratamento com SEVI resultou num aumento de 77 vezes de infecção em comparação com as células infetadas por vírus não tratados. Este aumento verifica-se em todos os tipos de células examinadas. Houve um aumento de RNA viral de 90 a 44 vezes respetivamente em células epiteliais prostáticas e células do estroma, sendo os alvos mais prováveis para a replicação e propagação de XMRV. Para determinar se a proteína SEVI aumenta a proporção de células que infetadas foram realizados ensaios de imunofluorescência indireta (IFI). Verificou-se que a fração de células infetadas é maior. Para além disso, diminui o limiar da infecção. O carácter catiónico de SEVI (P_i=10,2) é crucial para o reforço da infetividade, visto neutralizar interações entre viriões aniónicos e a célula. O sémen também aumentou grandemente a infetividade de XMRV, presumivelmente devido à presença de SEVI endógeno, o que confirma os resultados obtidos com um outro retrovírus, o HIV-1, apesar de outros componentes que afetam a infeciosidade poderem estar presentes no esperma (Hong et al., 2009).

i.v. Ligação indireta à tumorigénese

Apesar dos estudos realizados encontrarem uma forte ligação entre o vírus XMRV e o cancro da próstata e o vírus parecer competente para replicação, muitas vezes a infecção pode não estar ligada de forma direta ao aparecimento do cancro. A infecção viral em células do estroma pode levar a uma alteração do microambiente, conduzindo indiretamente a uma transformação neoplásica. Células estromais infetadas

podem induzir citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento que favoreçam a carcinogénese (Kang et al., 2011).

Um dos autores a propor esta hipótese foi Danielson, et al., que defende que a presença de XMRV no tecido normal sugere que a infeção pode preceder o início do cancro. Para chegar a esta conclusão, o investigador utilizou amostras de tecido de próstata de 144 doentes com cancro da próstata, que foram genotipados para R462Q por PCR em tempo real. (Danielson et al., 2009).

Knouf et al., através dos seus estudos conclui que é possível que XMRV tenha outras funções no cancro da próstata, tais como a modificação de células de estroma para facilitar o desenvolvimento do cancro ou a geração de células aneuplóides geneticamente instáveis mediadas por fusão celular (Knouf et al., 2009).

Através de métodos de hibridização fluorescente in situ e imuno-histoquímica, Garson et al., revelaram que um pequeno número de células do estroma em torno do tumor, mas não próprias células tumorais, foram positivas para sequências de nucleótidos e de proteínas XMRV virais, sugerindo também que XMRV mantém um baixo nível de infeção nestes tumores e que oncogénese direta por XMRV não deve desempenhar um papel na tumorigénese da próstata. (Garson et al, 2011).

Uma outra análise dos tecidos da próstata a partir de XMRV-positivos por hibridação in situ e imuno-histoquímica mostrou que os ácidos nucleicos e as proteínas de XMRV podem ser detetados em cerca de 1% das células do estroma, predominantemente nos fibroblastos e os elementos hematopoiéticos em regiões adjacentes ao carcinoma. Estes dados demonstram mais uma vez que XMRV pode produzir uma infeção humana, mas que o seu papel pode não estar diretamente ligado ao cancro (Urismas et al., 2006).

Silverman concluiu com os seus estudos que as células que se encontravam infetadas por XMRV se tratavam de elementos estromais, fibroblastos e elementos hematopoiéticos, em vez de células cancerosas epiteliais. Isto leva a entender que

qualquer efeito de XMRV no desenvolvimento do cancro da próstata parece ser de forma indireta, envolvendo alterações no microambiente tumoral (Silverman, 2008).

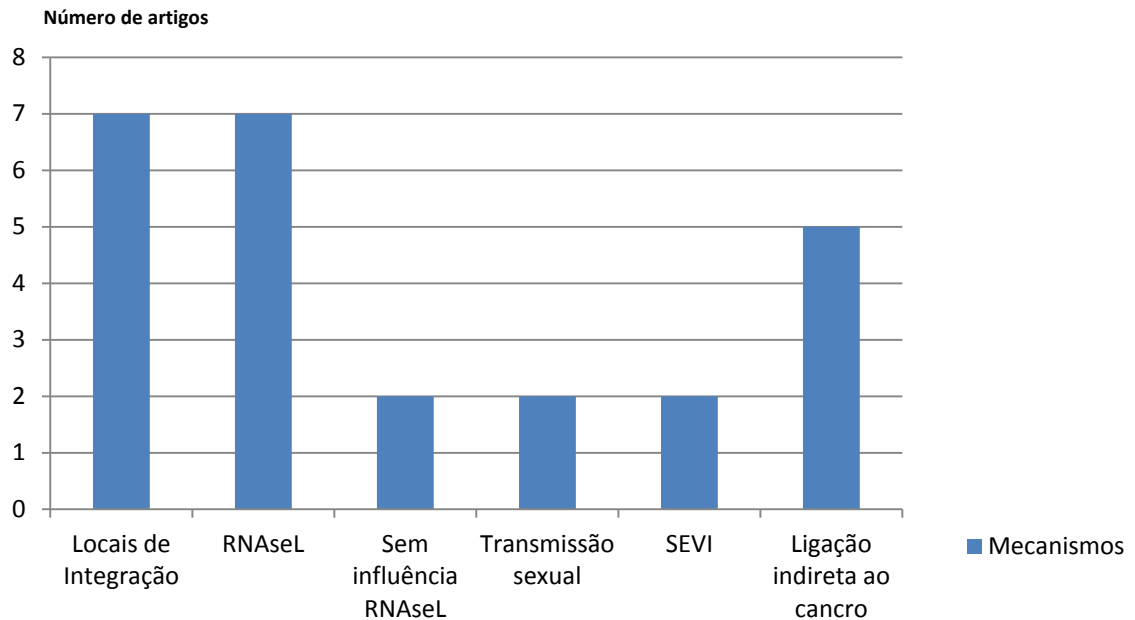


Gráfico n°4 – Número de artigos relacionados com os diferentes mecanismos de ação do vírus XMRV associado ao cancro da próstata

Concluindo sobre os mecanismos de ação do vírus XMRV propostos, observa-se uma acentuada predominância de citações referentes a dois mecanismos. Por um lado, as mutações em RNAseL são defendidas por uma elevada quantidade de artigos, defendendo a sua influência no aparecimento de cancro da próstata devido a uma elevada suscetibilidade a agentes infecciosos. Este mecanismo não tem ainda informação suficiente para ser provado, embora bastantes estudos defendam a mesma evidência. Por outro lado, uma influência andrógena é também defendida por muitos investigadores, dada a diferença na replicação e transcrição do vírus estudado em apenas algumas linhas celulares, o que leva a concluir que o microambiente encontrado nessas células estimula o vírus. Ainda que menos citados, outros mecanismos foram também propostos. Muitos investigadores defendem ainda que apesar de demonstrada a influência do vírus XMRV, a sua ligação ao cancro da próstata não seja de forma direta, conclusão obtida a partir de estudos que encontravam o vírus em células localizadas à volta do tumor.

3.) Identificar na literatura que mecanismos inibem a propagação do vírus XMRV em humanos

Para responder ao objetivo sobre a inibição do vírus XMRV, foram encontrados artigos que referem os seguintes mecanismos:

Quadro nº5 - Mecanismos de inibição do vírus XMRV

Mecanismo	Nº de artigos	Referências
APOBEC3	4	Cullen, 2006; Dey et al., 2011; Paprotka et al., 2010; Bogerd et al., 2011
Tetherin	2	Groom et al., 2010; Cocka e Bates, 2012
Fármacos anti-HIV1	2	Paprotka et al., 2010; Singh et al., 2010

i. Inibição por APOBEC3

Os genomas dos seres humanos tal como de outros primatas, podem codificar, pelo menos, cinco, e, possivelmente, até sete, proteínas APOBEC3, as quais são codificadas por um único agrupamento de genes no cromossoma 22. Esta família de proteínas, trata-se de desaminases citidinas e têm sido sugeridas para desempenhar um papel importante na imunidade anti-viral inata, pois interferem com a replicação do vírus. No entanto, alguns vírus possuem um fator de infetividade viral (Vif) que contraria este efeito. Vif interage com APOBEC3 e degrada-a de forma proteolítica (Cullen, 2006). Dado que XMRV é um retrovírus simples e não codifica proteínas acessórias conhecidas para contrariar A3G/A3F, estas observações sugerem que a infecção por XMRV não pode sobreviver à restrição da imunidade inata em seres humanos (Dey et al., 2011).

Um estudo realizado neste âmbito começou por isolar o retrovírus XMRV a partir de tecidos de cancro da próstata.

Visto que APOBEC3G (A3G) e APOBEC3F (A3F) são potentes inibidores de alguns vírus conhecidos, estes investigadores procuraram determinar de que forma era influenciada a replicação de XMRV por APOBEC3. Os resultados indicaram que a expressão de A3G e de A3F em células produtoras de vírus levam a uma inibição da replicação do XMRV e a uma hipermutação do DNA viral. Para além disso, ao quantificar o mRNA de A3F e de A3G verificaram que, em comparação com as linhagens humanas de células T CEM e H9, as linhagens de células da próstata LNCaP e DU145 exibiram níveis de mRNA de A3F 50% mais baixos, enquanto a expressão de A3G em 22Rv1, LNCaP e DU145 foi quase indetetável. Com os dados obtidos concluíram que o estabelecimento da infeção por XMRV em pacientes pode depender de uma deficiência de A3G/A3F nas células, sendo as células de cancro de próstata por expressarem níveis baixos destas proteínas ideais para uma infeção por este vírus (Paprotka et al., 2010).

Visto que XMRV se consegue replicar em humanos, Bogerd e colaboradores concluíram que este vírus deveria ter desenvolvido alguma resistência aos fatores de resistência inata antivirais, tais como APOBEC3G (A3G). Nesse propósito realizaram estudos em que os resultados defendiam que de facto XMRV é altamente sensível a A3G, sendo inibida a replicação do vírus na sua presença. Estes autores defendem que as infeções por este vírus são essencialmente zoonóticas sendo as infeções em humanos raras, mas dado que XMRV tem sido encontrado em humanos a sua replicação deve limitar-se a tecidos que não possuem expressão de A3G ou que a sua expressão seja escassa. Um exemplo seriam as células da próstata (Bogerd et al., 2011).

i.i. Inibição por Tetherin

Tetherin é uma proteína transmembranar humana induzida pelo interferão. Foi recentemente reconhecida como uma potente molécula anti-viral que restringe a libertação de uma larga gama de retrovírus através da restrição de partículas retrovirais por cross-linking para a superfície celular. Foram já descobertos vários antagonistas

virais para tetherin, exercendo diferentes mecanismos, sendo como exemplo o HIV-1 Vpu (Cocka e Bates, 2012).

Ao estudar o vírus XMRV, Groom et al., conseguiram recuperá-lo através de células mononucleares do sangue periférico de pacientes. Estas células expressam vários fatores de restrição antivirais capazes de inibir a replicação de uma grande variedade de retrovírus. Com isto, questionaram-se se, tal como o vírus HIV, XMRV teria adquirido resistência à restrição. Visto que XMRV foi encontrado em células positivas para Tetherin, estudaram se o vírus conseguiria antagonizar a ação antiviral da proteína. Utilizaram células 293T que foram transfetadas com pro-vírus XMRV em combinação com um GFP que codifica vetores virais. Os resultados indicaram que com o aumento da expressão de tetherin há uma profunda diminuição de XMRV. Para além disso, não houve evidência de que o XMRV expressasse contramedidas para superar restrição (Groom et al., 2010).

Para explicar de que forma XMRV consegue infectar humanos visto ser suscetível a estes fatores de restrição foram propostas três teorias. Primeiramente, propôs-se que os níveis de A3G e tetherin sejam demasiado baixos para inibir a infeção por XMRV *in vivo*. Estes autores concluíram que tanto hA3G como tetherin são amplamente expressos em células hematopoiéticas a níveis que restringem a infeção pelo HIV-1. Isto implicaria que níveis significativamente mais elevados destas proteínas seriam necessárias para superar XMRV em comparação com outros retrovírus.

A segunda possibilidade é que XMRV infeta uma subpopulação específica de linfócitos que não expressam esses fatores de restrição. A3G e tetherin são expressos em células T ativadas, células B, células dendríticas e macrófagos, variando no entanto os níveis de expressão. Por outro lado, o principal objetivo de XMRV não parece ser uma célula linfática, visto várias investigações sobre o cancro da próstata implicam que este vírus ataque o tecido prostático. A terceira hipótese proposta é a de que XMRV possa ter contramedidas específicas para superar o efeito da hA3G e da tetherin (Groom et al., 2010).

i.i.i. Fármacos anti-HIV1

Foram descobertos medicamentos utilizados na terapia da infecção pelo HIV que podem inibir o vírus XMRV.

Pathak e seus colegas procuraram identificar fármacos que inibissem a replicação de XMRV em seres humanos. Desenvolveram um ensaio de cultura de células e testaram a capacidade de oito anti-HIV-1, entre os quais, zidovudina [AZT], lamivudina [3TC], didanosina [ddl], estavudina [d4T], abacavir [ABC], tenofovir [TDF], raltegravir [RAL], e foscarneto, para inibir a replicação do XMRV. Os resultados obtidos mostraram que o AZT, o tenofovir e o raltegravir inibiram a replicação de XMRV quando usados em concentrações semelhantes às que inibem a replicação do HIV-1. No caso do raltegravir, o vírus XMRV foi cerca de 2,5 vezes mais sensível do que o HIV-1. As terapias de combinação com três ou mais medicamentos têm sido uma ferramenta eficaz para controlar a replicação do HIV-1 e suprimir o aparecimento de fármaco resistente HIV-1 em pacientes. Uma estratégia semelhante pode provar eficaz contra a replicação do XMRV (Paprotka et al., 2010).

Num outro estudo realizado foram testados 45 componentes anti-HIV e outros componentes antivirais contra o XMRV em culturas celulares. O medicamento mais potente contra XMRV foi o raltegravir, que representa uma nova classe de antirretrovirais, uma vez que inibe a enzima da integrase, evitando que o HIV integre o seu material genético ao núcleo celular. Para além do raltegravir, outros compostos (outro inibidor da integrase, o AZT e o tenofovir DF, dois inibidores da transcriptase reversa) também inibem a replicação do XMRV. Verificou-se que quando utilizados em terapia, a concentração utilizada é menor. Assim, se for provado que XMRV seja uma causa para o cancro da próstata, poderia ser tratável com estes medicamentos (Singh et al., 2010).

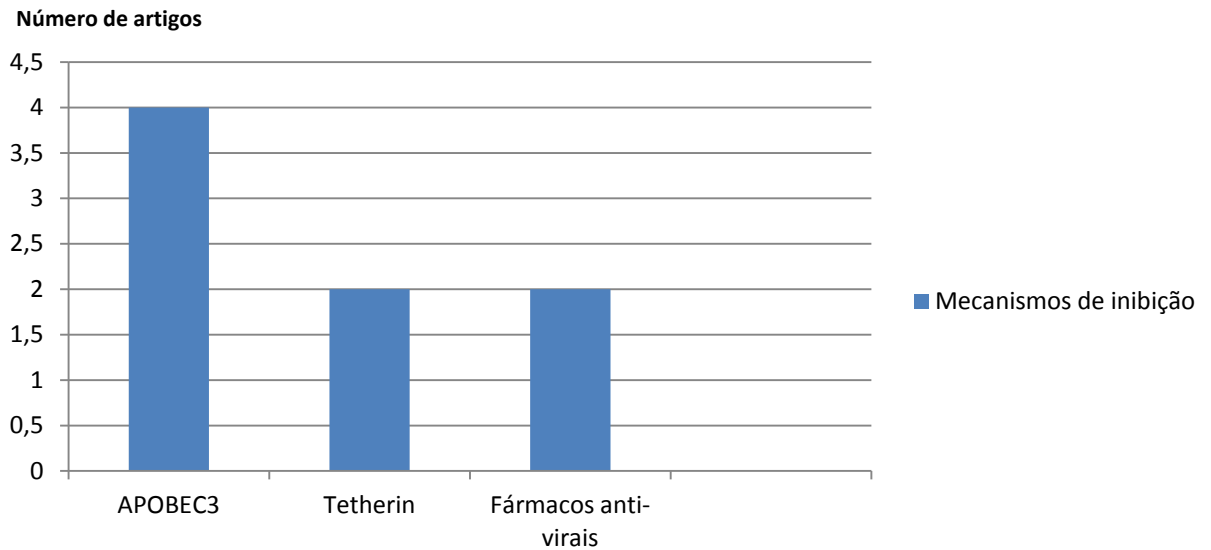


Gráfico nº 5 - Número de artigos relacionados com os diferentes mecanismos de inibição do vírus XMRV

Concluindo sobre os mecanismos de inibição do vírus XMRV propostos, verifica-se que a replicação de XMRV pode estar condicionada pela existência de fatores de restrição, tais como APOBEC3 e Tetherin. Está ainda por esclarecer de que forma o vírus consegue infetar tecidos humanos, visto que não foi descoberta nenhuma medida que combata estes fatores. Uma possível teoria é uma baixa ou nula expressão destas proteínas no tecido da próstata.

Por outro lado, se XMRV estiver associado ao cancro da próstata foram já encontrados fármacos que poderiam ajudar no seu tratamento, sendo o mais potente até ao momento, o raltegravir.

V) Conclusão

A complexidade da história natural associada ao cancro da próstata é uma das suas principais características.

O objetivo principal deste trabalho centrou-se na conclusão sobre uma possível influência do vírus XMRV no aparecimento do cancro da próstata. Foi possível responder a este objetivo através da análise dos mecanismos tanto de ação como de inibição propostos para este vírus na literatura encontrada.

Um elevado número de mecanismos de ação do vírus são propostos na atualidade, existindo vários artigos entre o ano de 2006 e de 2012 relativos a esta temática. Salientam-se dois mecanismos de ação, comprovados por vários estudos, sendo eles uma influência andrógena que estimula a replicação de XMRV e uma mutação na RNaseL que aumenta a replicação viral. Outros mecanismos são também propostos, entre eles uma possível transmissão sexual e uma ligação indireta na tumorigénese.

Mecanismos de inibição são também defendidos, tais como a existência de fatores de restrição humanos, como APOBEC3 e Tetherin, que inibem a replicação viral. Como potencial tratamento, foram já relacionadas com o vírus XMRV algumas drogas anti-virais utilizadas em outras patologias. AZT, tenofovir e raltegravir são alguns fármacos utilizados na terapia para o vírus HIV e que recentemente foram associados ao vírus XMRV. As conclusões de vários estudos defendem uma forte ação destes fármacos na inibição do vírus, sendo no caso do raltegravir mais sensível o vírus XMRV que o HIV onde é atualmente utilizado.

Por outro lado, muitas investigações concluem que a infeção obtida nos estudos realizados pode ser apenas uma contaminação laboratorial. Vários autores defendem que se trata de um vírus zoófilo, não conseguindo infetar humanos.

A investigação acerca deste tema deve ser continuada, visto não haver ainda uma certeza associada, mas sim a existência de diversos potenciais mecanismos que poderão ser comprovados. A descoberta de um agente patológico para este cancro poderia levar a estratégias de prevenção mais eficazes e a um decréscimo na mortalidade relativa à doença assim como a um tratamento mais fácil e eficaz.

VI) Referências Bibliográficas

Aloia, A.L., *et al.* (2010). XMRV: A New Virus in Prostate Cancer? *Cancer Res*, 70 (24), pp. 10028-10033.

Anónimo (2012). PSA-based screening for prostate cancer. Too many adverse effects. *Prescrire Int.*, 21(130), pp. 215-217.

Arap, M. e Coelho, R. (2010). Câncer da próstata. *Medicina Net*, (51), pp. 3093-3131.

Augustsson K., *et al.* (2003). A prospective study of intake of fish and marine fatty acids and prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers*, 12, pp. 64–67.

Baclayon, M., *et al.* (2010). Imaging and manipulation of single viroes by atomic force microscopy. *RSC Publishing*, 6(21), pp. 1-14.

Balk, S.P., *et al.* (2003) Biology of prostate-specific antigen. *J. Clin. Oncol*, 21, pp. 383–391.

Barry, J. M. (2009). Screening for Prostate Cancer — The Controversy That Refuses to Die. *N. English Journal Medicine*, 360 (13), pp. 1351-1353.

Bastos, J., *et al.* (2011). Evolução da mortalidade por cancro da próstata em Portugal. *Acta Med Port*, 24(4), pp. 499-504.

Baumforth, K.R. *et al.* (1999). The Epstein-Barr virus and its association with human cancers. *Mol Pathol*, 52 (6), pp. 307-322.

Bogerd, H.P., *et al.* (2011). Human APOBEC3 Proteins Can Inhibit Xenotropic Murine Leukemia Virus-Related Virus Infectivity. *Virology*, 410 (1), pp. 234-239.

Boyle, P. e Brawley, W. O. (2009). Prostate Cancer: Current Evidence Weighs Against Population Screening. *CA Cancer J Clin*, 59, pp. 220–224.

Bradford, T.J., *et al.* (2006). Molecular markers of prostate cancer. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, 24, pp. 538-551.

Brawley O.W., *et al.* (2009). Screening for Prostate Cancer. *CA Cancer J Clin*, 59, pp. 264-273.

Breda, E., *et al.* (2010). Detecção de Epstein-Barr vírus no carcinoma da nasofaringe - implicações numa área de baixo risco. *Braz. j. otorhinolaryngol*, 76(3).

Brennan, P. (2002). Gene-environment interaction and etiology of cancer: what does it mean and how can we measure it? *Carcinogenesis*, 23(3), pp. 381-387.

Bruce A, Ponder J. (2001). Cancer Genetics. *Nature*, 411, pp. 336-341.

Catalona WJ, Bigg SW. (1990). Nerve-sparing radical prostatectomy: evaluation of results after 250 patients. *J Urol*. 143 (3), pp 538-543.

Caspar, D.L.D. e Klug, A. (1962). Physical Principles in the Construction of Regular Viruses. *Quant Biol*, 27, pp. 1-24.

Castelo-Branco, P.,*et al.* (2010). Oncolytic herpes simplex virus armed with xenogeneic homologue of prostatic acid phosphatase enhances anti-tumor efficacy in prostate cancer. *Gene Ther*, 17 (6), pp. 805-810.

Cocka LJ, Bates P. (2012). Identification of Alternatively Translated Tetherin Isoforms with Differing Antiviral and Signaling Activities. *PLoS Pathog*, 8(9), pp. 1002931.

Cohen, J.I. (2000). Epstein-Barr vírus infection. *N. Engl. J. Med.*, 343, pp. 481-492.

Compløj, E. e Pycha, A. (2012). Experience with radical perineal prostatectomy in the treatment of localized prostate cancer. *Ther Adv Urol*, 4(3), pp. 125–131.

Confortini, M., *et al.* (2010). Human papillomavirus infection and risk factors in a cohort of Tuscan women aged 18-24: results at recruitment. *BMC Infect Dis*, 10, pp. 157.

Cullen, B.R. (2006). Role and Mechanism of Action of the APOBEC3 Family of Antiretroviral Resistance Factors. *J. Virol*, 80, pp. 1067-1076.

Cutts, F.T., *et al.* (2007). Human papillomavirus and HPV vaccines: a review. *Bull World Health Organ*, 85(9), pp. 719-726.

Cuzick, J. *et al.* (2003). Management of women who test positive for high-risk types of human papillomavirus: the Hart study. *Lancet*, 362 (9399), pp. 1871-1876.

Danielson, B. P., *et al.* (2009). Detection of Xenotropic Murine Leukemia Virus-Related Virus in Normal and Tumor Tissue of Patients from the Southern United States with Prostate Cancer Is Dependent on Specific Polymerase Chain Reaction Conditions. *Oxford Journals*, 202 (10), pp. 1470-1477.

Delongchamps, N.B., *et al.* (2007). Epidemiology of prostate cancer in Africa: another step in the understanding of the disease? *Curr Probl Cancer*, 31(3), pp. 226-236.

Delviks-Frankenberry, K., *et al.* (2012). Recombinant origin, contamination, and de-discovery of XMRV. *Science Direct*, 2(4), pp. 499-507.

Denberg TD, *et al.* (2006). Patient treatment preferences in localized prostate carcinoma: the influence of emotion, misconception, and anecdote. *Cancer*, 107, pp. 620–630.

- Dey, A., *et al.* (2011). Downregulation of APOBEC3G by xenotropic murine leukemia-virus related virus (XMRV) in prostate cancer cells. *J Virol.* 8, pp. 531.
- De Marzo AM., *et al.* (2007). Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nat Rev Cancer*, 7 (4), pp. 256-269.
- Donat, U., *et al.* (2012). Preferential Colonization of Metastases by Oncolytic Vaccinia Virus Strain GLV-1h68 in a Human PC-3 Prostate Cancer Model in Nude Mice. *Plos One*, 7(9).
- Dong, B., *et al.* (2007). An infectious retrovirus susceptible to an IFN antiviral pathway from human prostate tumors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104(5), pp. 1655-1660.
- Dong, B. e Silverman, R.H. (2010). Androgen stimulates transcription and replication of xenotropic murine leukemia virus-related virus. *J Virol*, 84(3), pp. 1648-1651.
- Drager, B.J.,*et al.* (2001) Nutrition and prostate cancer. *Urol. Int.* 67, pp. 1–11.
- Ehlin-Henriksson, B., *et al.* (2003). B-lymphocyte subpopulations are equally susceptible to Epstein–Barr virus infection, irrespective of immunoglobulin isotype expression. *Immunology*, 108(4), pp. 427-430.
- Esposti, P.L., *et al.* (1975). Complications of transrectal aspiration biopsy of the prostate. *Scand J Urol Nephrol*, 9 (3), pp. 208-213.
- Evans, A.A., *et al.* (2005). Liver Cancer and Hepatitis Viruses. *Fox Chase Cancer Center*, 5.
- Fan, H. (2007). A new human retrovirus associated with prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(5), pp. 1449–1450.

Feller, L., et al. (2010). Human papillomavirus-mediated carcinogenesis and HPV-associated oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. Part 1: Human papillomavirus-mediated carcinogenesis. *Head Face Med*, 6, pp. 14.

Ferlay, J., et al. (2010) Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008. *Eur J Cancer*, 46(4), pp. 765-781.

Fukuhara, H., et al. (2005). Oncolytic herpes simplex virus vector g47delta in combination with androgen ablation for the treatment of human prostate adenocarcinoma. *Clinic Cancer Res*, 11(21), pp. 7886-7890.

Fwu, CH., et al. (2009). Hepatitis B Virus Infection and Hepatocellular Carcinoma Among Parous Taiwanese Women: Nationwide Cohort Study. *J Natl Cancer Inst*, 101(14), pp. 1019-1027.

Ghasemian, E., et al. (2013). Evaluation of human papillomavirus infections in prostatic disease: a cross-sectional study in Iran. *Asian Pac J Cancer Prev*, 14 (5), pp. 3305-3308.

Giovannucci, E. (1999). Nutritional factors in human cancers. *Adv. Exp. Med. Biol.* 472, pp. 29–42.

Gleason, D.F. (1966). Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemother. Rep.* 50 (3), pp. 125–128.

Graefen M., et al. (1999). Early prostate-specific antigen relapse after radical retropubic prostatectomy: Prediction on the basis of preoperative and postoperative tumor characteristics. *Eur Uro.*, 36, pp. 21–30.

Gray, E. R., et al. (2011). No Evidence of XMRV or Related Retroviruses in a London HIV-1-Positive Patient Cohort. *PlosOn*, (6), pp. 3.

Greaves M (2002). Cancer causation: the Darwinian downside of past success? *Lancet Oncol*, 3 (4), pp. 244-251.

Greenwald, P. (2002). Cancer prevention clinical trials. *J. Clin. Oncol*, 20, pp. 14S–22S.

Grilo M.C.A., *et al.* (2004). Papel do Antígeno Específico da Próstata no Rastreamento do Carcinoma da Próstata. *Acta Urológica*, 21(2), pp. 27-33.

Groom, H.C., *et al.* (2010). Susceptibility of xenotropic murine leukemia virus-related virus (XMRV) to retroviral restriction factors. *Proc Natl Acad USA*, 107(11), pp. 5166-5171.

Guerry, J. *et al.* (2011). The gleason Score: A Significant Biologic Manifestation of Prostate Cancer Aggressiveness On Biopsy. *Prostate Cancer Research Institute*, 4(1).

Gupta, J., *et al.* (2012). Absence of XMRV and Closely Related Viruses in Primary Prostate Cancer Tissues Used to Derive the XMRV-Infected Cell Line 22Rv1. *PLoS One*, 7(5), pp.36072.

Hagiwara, M., *et al.* (2012). Healthcare utilization and costs associated with skeletal-related events in prostate cancer patients with bone metastases. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 10, pp. 1038-1042.

Hanahan, D. e Weinberg, R.A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100(1), pp. 57-70.

Hong, S., *et al.* (2009). Fibrils of Prostatic Acid Phosphatase Fragments Boost Infections with XMRV (Xenotropic Murine Leukemia Virus-Related Virus), a Human Retrovirus Associated with Prostate Cancer. *J Virol*. 83 (14), pp. 6995-7003.

Howell-Jones, R. *et al.* (2010). Multi-site study of HPV type-specific prevalence in women with cervical cancer, intraepithelial neoplasia and normal cytology, in England. *Br J Cancer*, 103(2), pp. 209-216.

Hshing, AW. e Chokkalingam, AP. (2006). Prostate cancer epidemiology. *Front Biosci.* 1(11), pp. 1388-1413.

Hue, S., *et al.* (2010). Disease-associated XMRV sequences are consistent with laboratory contamination. *Retrovirology*, 7 (111).

Humphrey PA (2004). Gleason grading and prognostic factors in carcinoma of the prostate. *Mod Pathol*, 17 (3), pp. 292-306.

Imyanitov, E.N. (2009) Gene polymorphisms, apoptotic capacity and cancer risk. *Hum Genet*, 125(3), pp. 239-246.

Jain, S. *et al.* (2012). Improving the utility of prostate specific antigen (PSA) in the diagnosis of prostate cancer: the use of PSA derivatives and novel markers. *Postgrad Med J.* 78, pp. 646–650.

Kang, E., *et al.* (2011). XMRV Discovery and Prostate Cancer-Related. *Adv in Virol*, 10

Kato, R.B., *et al.* (2008). Pretreatment tumor volume estimation based on total serum psa in patients with localized prostate cancer. *Clinics*, 63(6), pp. 759-62.

Kattan M.W., *et al.* (1998) A preoperative nomogram for disease recurrence following radical prostatectomy for prostate cancer. *J Natl Cancer Inst*, 90, pp 766–771.

Kazuto, I., *et al.* (2008). Japanese Urological Association guidelines on prostate-specific antigen-based screening for prostate cancer and the ongoing cluster cohort study in Japan. *International Journal of Urology*, 15, pp. 763–768.

Kearney, M.F., *et al.* (2012). Multiple sources of contamination in samples from patients reported to have XMRV infection. *PLoS One*, 7 (2), pp. 30889.

- Kim, S., *et al.* (2008). Integration Site Preference of Xenotropic Murine Leukemia Virus-Related Virus, a New Human Retrovirus Associated with Prostate Cancer. *J Virol*, 82(20), pp. 9964–9977.
- Knouf, E., *et al.* (2009). Multiple Integrated Copies and High-Level Production of the Human Retrovirus XMRV (Xenotropic Murine Leukemia Virus-Related Virus) from 22Rv1 Prostate Carcinoma Cells. *J Virol*, 83(14), pp. 7353-7356.
- Kutznetsov, Y.G. e McPherson, A. (2011). Atomic Force Microscopy in Imaging of Viruses and Virus-Infected Cells. *Microbiol Mol Biol Rev*, 75(2), pp. 268-285.
- Laurila, M., *et al.* (2010). Detection rates of cancer, high grade PIN and atypical lesions suspicious for cancer in the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer. *European Journal of Cancer*, 46, pp. 3068-3072.
- Lee, Y.H., *et al.* (2009). Classification of Focal Prostatic Lesions on Transrectal Ultrasound (TRUS) and the Accuracy of TRUS to Diagnose Prostate Cancer. *Korean J Radiol*, 10(3), pp 244–251.
- Lee, C.Y. (2009). MicroRNA regulation of oncolytic herpes simplex virus-1 for selective killing of prostate cancer cells. *Clin Cancer Res*, 15 (16), pp. 5126-5135.
- Levitt, N.C. e Hickson, I.D. (2002). Caretaker tumour suppressor genes that defend genome integrity. *Trends Mol Med*, 8(4), pp. 179-186.
- Levero, M. (2006). Viral hepatitis and liver cancer: the case of hepatitis C. *Oncogene*, 25, pp. 3834-3847.
- Loeb, S. *et al.* (2011). What Is the True Number Needed to Screen and Treat to Save a Life With Prostate-Specific Antigen Testing? *Journal of Clinical Oncology*, 29(4), pp. 345-355.

Lorenzo, D., *et al.* (2011). Immunotherapy for the treatment of prostate cancer. *Nat. Rev. Clin. Oncol*, 8, pp. 551-561.

Macedo, A., *et al.* (2008). Perfil da doença oncológica em Portugal: Racional, Objectivos e Metodologia. *Acta Med Port.*, 21(4), pp 329-334.

Martinez-Fierro, M., *et al.* (2010). Identification of viral infections in the prostate and evaluation of their association with cancer. *BMC Cancer*, 10, pp. 326.

McNeal, J.E. (1981). Zonal anatomy of the prostate. *Prostate*, 2 (1), pp. 35–49.

Miyamoto, H. *et al.* (2004) Androgen Deprivation Therapy for Prostate Cancer: Current Status and Future Prospects. *The Prostate*, 9999, pp. 1-22.

Nwosu V., *et al.* (2001). Heterogeneity of genetic alterations in prostate cancer: evidence of the complex nature of the disease. *Human molecular genetics*, 10 (20), pp. 2313-2318.

Oakes, B., *et al.* (2010). Contamination of human DNA samples with mouse DNA can lead to false detection of XMRV-like sequences. *Retrovirology*, 7 (109).

Oliveira, P.A. *et al.* (2007). Chemical carcinogenesis. *Na Acad Bras Cienc*, 79(4), pp. 593-616.

Paprotka, T., *et al.* (2010). Inhibition of xenotropic murine leukemia virus-related virus by APOBEC3 proteins and antiviral drugs. *J Virol*, 84(11), pp. 5719-5729.

Paprocka, T., *et al.* (2011). Recombinant origin of the retrovirus XMRV. *Science*, 333 (6038), pp. 97-101.

Park S.Y., *et al.* (2007). Fat and meat intake and prostate cancer risk: the multiethnic cohort study. *Int J Cancer*, 121, pp. 1339–1345.

- Parkin D, *et al.* (2005). Global Cancer Statistics. *CA Cancer J Clin*, 55(2), pp. 74–108.
- Passer, B.J. (2013). Combination of vinblastine and oncolytic herpes simplex virus vector expressing IL-12 therapy increases antitumor and antiangiogenic effects in prostate cancer models. *CancerGene Ther*, 20(1), pp. 17-24.
- Pereira, R. R. A. (2009). Rastreios Oncológicos ao Nível dos Cuidados de Saúde Primários. *Dissertação de Mestrado (não publicada), FMUC, Coimbra.*
- Rafferty, KA. (1973). Herpes viruses and cancer. *Sci Am*, 229 (4), pp. 26-33.
- Reis, M., *et al.* (2004). Metastização ganglionar na prostatectomia radical. *Acta Med Port.* 17, pp. 1-7.
- Rescigno P., *et al.* (2012). New perspectives in the therapy of castration resistant prostate cancer. *Curr Drug Targets.* 13(13), pp. 1676-1686.
- Reza, M.A., Fahimeh, G., Reza, M. (2012). Evaluation of Xenotropic Murine Leukemia Virus and its R426Q Polymorphism in Patients with Prostate Cancer in Kerman, Southeast of Iran. *Asian Pacific J Cancer Prev*, 13, pp. 3669-3673.
- Richman, L.E. *et al.* (2010). Intakes of meat, fish, poultry, and eggs and risk of prostate cancer progression. *Am J Clin Nutr*, 91(3), pp. 712–721.
- Robinson, M.J., *et al.* (2010). Mouse DNA contamination in human tissue tested for XMRV. *Retrovirology*, 7(108).
- Rodrigues, M., *et al.* (2010). Neoplasia intra-epitelial prostática: aspetos morfológicos e moleculares. *Vet e Zootec*, 17(1), pp. 19-25.
- Rohrmann S., *et al.* (2007). Meat and dairy consumption and subsequent risk of prostate cancer in a US cohort study. *Cancer Causes Control*, 18, pp. 41–50.

Ronco G, *et al.* New Technologies for Cervical Cancer Working Group: Human papillomavirus testing and liquid-based cytology: results at recruitment from the new technologies for cervical cancer randomized controlled trial. *J Natl Cancer Inst*, 98(11), pp. 765-74.

Rubin, M.A. e De Marzo (2004). Molecular genetics of human prostate cancer. *Modern Pathology*, 17, pp. 380-388.

Sá, E. (2003). Prevenção do cancro da próstata – que evidências existem?. *Rev Port Clin Geral*. 19, pp. 493-500.

Schaid D.J. (2004). The complex genetic epidemiology of prostate cancer. *Hum. Mol. Genetics*, 13(1), pp. R103-121.

Schlaberg, R.,*et al.* (2009). XMRV is present in malignant prostatic epithelium and is associated with prostate cancer, especially high-grade tumors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106(38), pp. 16351–16356.

Schroder, F.H., *et al.* (2009). Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N Engl J Med*, 360(13), pp. 1320-1328.

Sharma, P., *et al.* (2011). Sexual Transmission of XMRV: A Potential Infection Route. *Adv Virol*.

Singh, I.R., *et al.* (2010). Raltegravir is a potent inhibitor of XMRV, a virus implicated in prostate cancer and chronic fatigue syndrome. *PLoS One*, 5 (4), pp. 9948.

Silva, F. (2005). Rastreio do cancro da próstata. *Acta Urológica*. 22 (3), pp. 11-13

Silva, E., *et al.* (2006). Carcinoma da próstata, PSA e toque rectal. Algoritmos de decisão em Urologia. *Acta Urológica*, 23(1), pp. 107-108.

Silverman, R. (2007). A Scientific Journey Through the 2-5A/RNase L System. *Cytokine Growth Factor Rev*, 18 (5-6), pp. 381-388.

Silverman, R.H., *et al.* (2010). The human retrovirus XMRV in prostate cancer and chronic fatigue syndrome. *Nat Rev Urol*, 7(7), pp. 392-402.

Singh, I.R., *et al.*(2010). Raltegravir is a potent inhibitor of XMRV, a virus implicated in prostate cancer and chronic fatigue syndrome. *PLoS One*, 5 (4), pp. 9948.

Steuber, T., *et al.* (2007). Circulating biomarkers for prostate cancer. *World J Urol*, 25(2), pp. 111-119.

Urisman, A., *et al.* (2006). Identification of a Novel Gammaretrovirus in Prostate Tumors of Patients Homozygous for R462Q *RNASEL* Variant. *PLoS Pathog*, 2(3), 25.

U.S. Preventive Services Task Force (2008). Screening for Prostate Cancer: U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *Ann Intern Med*, 149, pp. 185-191.

Varghese, S., *et al.* (2006). Systemic oncolytic herpes virus therapy of poorly immunogenic prostate cancer metastatic to lung. *Clin Cancer Res*, 12 (9), pp. 2919-2927.

Varghese, S., *et al.* (2006). Enhanced therapeutic efficacy of IL-12, but not GM-CSF, expressing oncolytic herpes simplex virus for transgenic mouse derived prostate cancers. *CancerGene Ther*, 13(3), pp. 253-265.

Vineis, P., *et al.* (2010). Models of carcinogenesis: an overview. *Carcinogenesis*, 31(10), pp.1703–1709.

Walker, J.R. (1999). Local and systemic therapy of human prostate adenocarcinoma with the conditionally replicating herpes simplex virus vector G207. *Hum Gene Ther*, 10 (13), pp. 2237-2243.

Ware, J. (1994). Prostate cancer progression. Implications of histopathology. *Am J Pathol*, 145(5), pp. 983–93.

Whitaker, N.J., *et al.* (2013). Human papillomavirus and Epstein Barr virus in prostate cancer: Koilocytes indicate potential oncogenic influences of human papillomavirus in prostate cancer. *Prostate*, 73 (3), pp. 236-241.

Wyckoff, J., *et al.*, (2000). A critical step in metastasis: in vivo analysis of intravasation. *Cancer Res.*, 60, pp. 2504-2511.

Yang, J.D., *et al.* (2010). Hepatocellular Carcinoma: A Global View. *Faculty and Disclosures*, pp. 1-9.

Yang, J., *et al.* (2011). Xenotropic murine leukemia virus-related virus (XMRV) in prostate cancer cells likely represents a laboratory artifact. *Oncotarget*, 2(5), pp. 358–362.

Young, L.S. e Murray, P. (2003). Epstein–Barr virus and oncogenesis: from latent genes to tumours. *Oncogene*, 22, pp. 5108-5121.