

UNIVERZITA PARDUBICE  
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2023

Eliška Krejčí

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Léčba rakoviny za pomoci viru herpes simplex

Bakalářská práce

2023

Eliška Krejčí

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2022/2023

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Eliška Krejčí**  
Osobní číslo: **C20231**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Téma práce: **Léčba rakoviny za pomoci viru herpes simplex**  
Téma práce anglicky: **Cancer Treatment Using The Herpes Simplex Virus**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

## Zásady pro vypracování

1. Vypracujte literární rešerši na téma léčba rakoviny za pomoci viru herpes simplex.
2. V práci se zaměřte na popis onemocnění rakovinou, definujte pojem virus herpes simplex a v poslední části práci se zaměřte na léčbu rakoviny pomocí viru herpes simplex.
3. Pro vytvoření kompilačního textu využijte elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *NCBI Pubmed*, *ScienceDirect*, *Web of Science*, *Scopus* apod. Jako zdroje využijte zejména odborné články publikované v recenzovaných zahraničních časopisech.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Lucie Michalcová**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **23. prosince 2022**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **30. června 2023**

**prof. Ing. Petr Němec, Ph.D.** v.r.  
děkan

L.S.

**doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.** v.r.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2023

Prohlašuji:

Práci s názvem Léčba rakoviny za pomoci viru herpes simplex jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše. Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

Eliška Krejčí v. r.

## **PODĚKOVÁNÍ:**

Tímto bych chtěla poděkovat své vedoucí bakalářské práce Ing. Lucii Michalcové za zadání tématu, které mě velmi zaujalo, za její trpělivost a pomoc při zpracování této práce. Taktéž bych chtěla poděkovat svým rodičům za podporu nejen při zpracovávání tohoto tématu, ale také během celého studia.

## **ANOTACE**

Práce se věnuje popisu rakoviny, charakteristikám a vlastnostem tohoto onemocnění. Následně se věnuje popisu viru herpes simplex, jeho stavbě a mechanismu infekce. Nakonec se práce zaměřuje na léčbu rakoviny pomocí viru herpes simplex, jejími výhodami a jednotlivými deriváty tohoto viru využívaných při studiích a léčbě.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

rakovina, herpes virus, onkologická léčba, viroterapie

## **TITLE**

Cancer treatment using the herpes simplex virus

## **ANNOTATION**

The work is devoted to description of cancer, characteristics and features of this disease. Then it describes structure and mechanism of herpes simplex. Work focuses also on the treatment of cancer using herpes simplex, its benefits and variations of virus used in studies and treatment.

## **KEYWORDS**

Cancer, herpes virus, oncology treatment, virotherapy

# OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ .....	11
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK .....	12
ÚVOD .....	16
1 RAKOVINA .....	17
1.1 Historie .....	17
1.2 Rakovina a její základní charakteristiky .....	18
1.2.1 Soběstačnost v růstu .....	19
1.2.2 Angiogeneze .....	19
1.2.3 Necitlivost na protirůstové signály .....	20
1.2.4 Neomezený replikační potenciál .....	21
1.2.5 Metastáze .....	21
1.3 Původ rakovinové buňky .....	22
.....	23
1.3.1 Kmenové buňky .....	23
1.3.2 Reaktivace embryonálních genetických cyklů .....	24
1.3.3 Působení viru .....	24
1.4 Rakovina a imunitní systém .....	24
1.4.1 Prezentace antigenů .....	25
1.4.2 Imunitní únik .....	25
2 VIRUS HERPES SIMPLEX .....	26
2.1 Struktura viru .....	26
2.1.1 Struktura DNA viru .....	27
2.2 Mechanismus infekce .....	27



2.3	Imunitní reakce.....	29
2.3.1	Přirozená imunitní odpověď .....	29
2.3.2	Získaná imunitní odpověď .....	30
2.4	Odolnost Herpes viru vůči imunitnímu systému.....	31
3	LÉČBA RAKOVINY .....	32
3.1	Historie léčby .....	32
3.1.1	Léčení dávnověku .....	32
3.1.2	Začátky moderní léčby.....	32
3.2	Onkologická viroterapie.....	33
3.2.1	Způsob podání onkolytických virů .....	33
3.2.2	Mechanismus onkolytické viroterapie .....	35
3.3	Léčba rakoviny pomocí herpes viru .....	37
3.4	Výroba onkolytických herpes virů .....	37
3.4.1	Tvorba oslabených herpes virů .....	37
3.4.2	Vyzbrojení onkolytických virů transgeny.....	38
3.4.3	Vyzbrojení onkolytických virů cytokiny/chemokiny .....	38
3.4.4	Vyzbrojení onkolytických virů specifickými molekulami zapojující T –buňky	38
3.5	Výhody herpes virů .....	39
3.6	Onkolytické viry odvozené od herpes virů .....	40
3.6.1	Talimogene laherparepvec .....	40
3.6.2	HF10 .....	41
3.6.3	G207.....	41
3.6.4	HSV – 1716 .....	42
3.6.5	NV1020.....	42
3.7	Kombinace onkolytických virů s klasickou léčbou .....	43
3.7.1	Inhibitory kontrolních bodů imunity vs onkolytické viry.....	43

3.7.2	Chemoterapie vs onkolytické viry .....	43
3.7.3	Radioterapie vs onkolytické viry .....	44
3.8	Biologická bezpečnost onkolytických virů .....	44
3.9	Shrnutí onkolytické viroterapie.....	44
ZÁVĚR .....		45
POUŽITÁ LITERATURA .....		46

## SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1: Papyrus Edwina Smithe, převzato z (128). .....	17
Obrázek 2: Základní charakteristiky rakoviny, převzato a upraveno z (29).....	19
Obrázek 3: Původ rakovinové buňky, převzato a upraveno z (9).....	23
Obrázek 4: Struktura viru herpes simplex, převzato a upraveno z (7). .....	27
Obrázek 5: Buněčný cyklus, převzato a upraveno z (8). .....	28
Obrázek 6: Zastoupení podání OV, převzato a upraveno z (102). .....	34
Obrázek 7: Důsledek působení OV na nádorovou buňku, převzato a upraveno z (102).....	36

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

1BBL – rekombinantní lidský ligand

APC – antigen prezentující buňka (antigen presenting cell)

BAM HI-B – restriční endonukleáza

*BAX* – proapoptický gen

BiTE – bispecifické T – buněčné aktivátory

CD20 – diferenciační klastr 20

CD4 – diferenciační klastr 4 (cluster differentiation 4)

CD40L – ligand CD40

CD8 – diferenciační klastr 8 (cluster differentiation 8)

CEA – karcinoembryonální antigen

cGAS – cyklická *gamamonofosfát* – adeninmonofosfát syntáza

CPA – cyklofosfamid

CSC – rakovinová kmenová buňka (cancer stem cell)

CTLA – 4 – antigen asociovaný s cytotoxickými T – lymfocyty 4 (Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4)

DAMPs – damage – associated molecular patterns

DNA – deoxyribonukleová kyselina

E2F – transkripční faktory

ECM – extracelulární matrix

Eg – časné geny (early genes)

G207 – derivát herpes viru

GAG – glykosaminoglykany

gH – glykoprotein H

gL – glykoprotein L

GM – CSF – faktor stimulujiící kolonie granulocytů a makrofágů (granulocyte macrophage – colony stimulating factor)

Gy – Gray, jednotka radioaktivity

HCF-1- faktor hostitelské buňky 1 (host cell factor 1)

HF10 – derivát herpes viru

HSV – Herpes simplex virus

ICP0 – ubiquitin – proteinový ligáza, protein infikované buňky (infected cell protein 0)

ICP34.5 – neuroviruletní faktor, protein infikované buňky (infected cell protein 34)

ICP4 – Hlavní transkripční faktor, protein infikované buňky (infected cell protein 4)

ICP47 – protein infikované buňky (infected cell protein 47)

ICP6 – protein infikované buňky (infected cell protein 6)

IEg – bezprostředně časné geny (immediate early genes)

IFN – interferon

IL – interleukin

IS – imunitní systém

IT – intratumorální (podání)

lacZ – gen *Escherichia coli*

LAT – aktivátor T – lymfocytů

Lg – pozdní geny (late genes)

MAGE – A3 – antigen asociovaný s lidským melanomem

MAVs – mitochondriální antivirový signální protein (mitochondrial antiviral signaling protein)

MDM2 – enzym pracující jako ubiquitin ligáza

MHC – hlavní histokompatibilní komplex (Major histocompatibility complex)

MMPs – matrixové metaloproteázy

NIS – sodno – jodidový transporter

NK buňky – Natural killer cells

Nodal – epigen

NV1020 – derivát herpes viru

oHSV – onkolytický herpes virus

OV – onkolytický vir

P50 – proteinová fosfatáza

P53 – protein, kódovaný genem *TP53*

P65 – transkripční faktor

PAMPs – struktury typické pro patogenní buňky (pathogen – associated molecular patterns)

PD – 1 – programovaná buněčná smrt (programed cell death)

PD – L1 – ligand programované smrti (programed cell death ligand)

PRR – receptory pro rozpoznávání vzorců (pathogen recognition receptors)

pUL36 – velký obalový protein

pUL37 – vnitřní obalový protein

PUMA/BBC3 – upregulovaný modulátor apoptózy p53

Ras – rodina genů tvořící proteiny, které řídí buněčných růst a buněčnou smrt

RB – retinoblastomový protein

RL1 – neurovirulentní faktor

RNA – ribonukleová kyselina

SC – kmenová buňka (stem cell)

scFv – jednořetězcový variabilní fragment

T – VEC – talimogene laherparepvec

TAA – s tumorem asociovaný antigen

TCR – receptor cytotoxických T lymfocytů

TIR – Toll/interleukin – 1R

TLR – Toll – like receptor

TNF – tumor nekrotizující faktor

*TP53* – tumor supresorový gen

Treg – regulační T lymfocyty

TRIF – TIR – domény obsahující adaptér indukující interferon – *beta*

TriTE – trispecifické T – buněčné aktivátory

*UL43* – gen kódující obalový protein

*UL53* – gen kódující kapsidový protein

*UL55* – gen kódující glykoproteinový obal

*UL56* – gen kódující protein *UL56*

VEGF – vaskulární endotelový růstový faktor (Vascular endothelial growth factor)

VP16 – obalový protein, který podporuje expresi časných genů

VP22 – obalový protein

$\gamma$ 34.5 – gen herpes viru

## ÚVOD

Tato práce se zabývá tématem onemocnění rakovinou, popisem a patogenitou viru herpes simplex a využitím tohoto viru pro léčbu rakoviny.

Rakovina, též známá pod názvem maligní či zhoubné onemocnění, při kterém se nekontrolovatelně množí a rostou buňky různých tkání, je už od pradávna považována za zákeřné onemocnění s různou rychlostí šíření a nízkou šancí na vyléčení. Její záludnost tkví v její nezávislosti na hostiteli, schopnosti zaopatřit si pro své přežití výživu a mikroprostředí.

Virus herpes simplex se řadí mezi herpesviridae a obsahuje velký genom s deoxyribonukleovou kyselinou. Infikuje hostitelovi buňky, ve kterých se množí, uzavírá buněčný cyklus a následně způsobuje jejich lyzi. Taktéž se umí bránit proti imunitnímu systému, a to inhibicí drah, které aktivují buňky imunitního systému, nebo přímo působí na nezralé buňky, čímž zastavuje jejich zrání a tím snižuje jejich aktivitu.

Mutací herpes virů dokážeme využít jeho zmíněných vlastností proti nádorovým buňkám a tím zamezit šíření či růstu nádorů. Mutované neboli onkolytické viry lze použít pro léčbu různých druhů nádorů, a navíc můžeme onkologické viry tzv. „vyzbrojovat“ specifickými geny či molekulami a tím docílit vyšší účinnosti a specifitě proti nádorům.

Mezi nejznámější onkolytické viry z rodu herpeviridae patří Talimogene laherparepvec, HF10, G207, HSV – 1716 a NV1020, jedná se o viry, které vznikly delecí či inzercí různých genů, které snížily jejich patogenitu a zvýšily jejich selektivitu vůči nádorům.



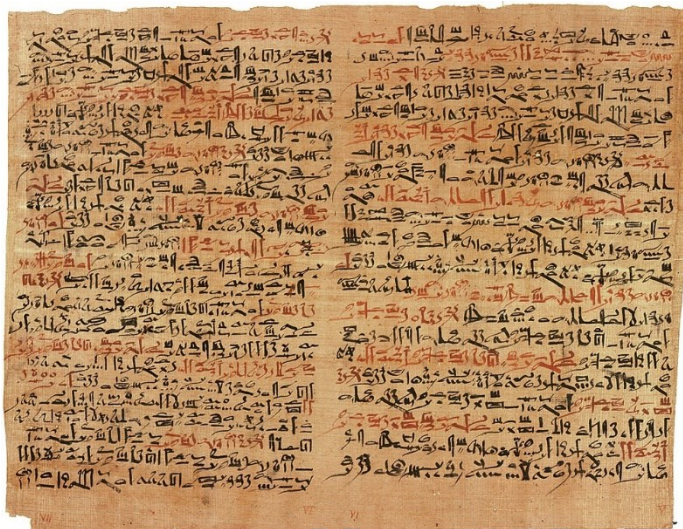
# 1 RAKOVINA

Rakovina představuje rozsáhlou skupinu velmi odlišných nádorových onemocnění, která se nekontrolovatelně rozrůstají a mají schopnost se šířit po celém těle neboli metastázovat (1). Do této skupiny lze zařadit například karcinomy či sarkomy, leukémie, lymfomy a myelomy, ačkoliv se pro tyto onemocnění běžně název rakovina nepoužívá, do této skupiny patří také (3). Jedná se o celosvětově druhou nejčastější příčinu úmrtí (2).

Onemocnění je jednak podmíněno geneticky, stejně tak i chováním a životosprávou hostitele, například kouření či nadměrný příjem kalorií taktéž zvyšuje riziko vzniku rakovinového bujení. Dalšími kritickými faktory jsou defekty imunitního systému, přesněji buněk, které nejsou schopné detekovat a ničit nově vzniklé nádorové buňky (9).

## 1.1 Historie

První písemné zmínky a popis rakoviny prsu se nachází v papyru Edwina Smithe (obrázek č. 1) z roku přibližně 3000 před naším letopočtem. Pisatel v tomto spise došel k závěru, že vypouklý nádor na ňadru je závažná choroba, na niž neexistuje žádná léčba (30). Ebersův papyrus z roku asi kolem 1500 před naším letopočtem obsahuje první zmínky o nádorech měkkých tkání, tukovém nádoru, taktéž obsahuje zmínku o možné rakovině kůže, dělohy, žaludku a konečníku (31).



Obrázek 1: Papyrus Edwina Smithe, převzato z (128).

V dávném Řecku Hippokrates, zakladatel lékařské vědy, a jeho žáci věřili, že rakovina vzniká z přirozených příčin, jako například nadbytek či nedostatek krve, hlenu, žluči a dalších jiných tělních sekretů. Název „rakovina“ taktéž vytvořil Hippokrates. Rakovinové výrůstky

tomuto mysliteli, připomínali kraba (lat. *carcinus*), čímž vznikl název carcinoma, česky karcinom (zhoubný nádor) a *cancer*, česky rakovina (vředovitý zhoubný nádor). Od těchto dvou byl oddělen *scirrhus*, česky tvrdý nádor, který byl popsán jako nádor s nejistým zhoubným potenciálem (32).

Římský lékař Celsus se ve svém díle *De Medicina* zmínil o rakovině viscerálních a parenchymových orgánů, jako jsou žaludek, střevo, játra a slezina. Taktéž věděl, že karcinomy prsu mají tendenci se vracet a vnikat do podpaží, způsobovat otoky paže a také způsobit smrt rozšířením do vzdálených orgánů (33).

O název sarkom se zasloužil lékař římský Galén, rovněž napsal největší počet poznámek o rakovině a nádorech, které byly přeloženy z řečtiny do latiny a hojně rozšířeny. Bohužel tím, že zapadaly jak do křesťanské teologie, tak i arabského učení, oddálily pokrok v porozumění vzniku rakoviny a její léčby o několik století (55).

První, kdo veřejně odmítl Galénovy teorie byl francouzský lékař Henri de Mondeville (1260–1320), zjednodušil terminologii a rozdělil rakovinu na jednoduchou a složenou formu, zavedl klasifikaci nádorů vzhledem k velikosti, anatomickému umístění a k tomu, zda se jedná o povrchový nebo hluboký nádor. Těž rozvinul koncept zevních karcinogenů a domníval se, že karcinogeny se do těla dostávají vývody žláz (35).

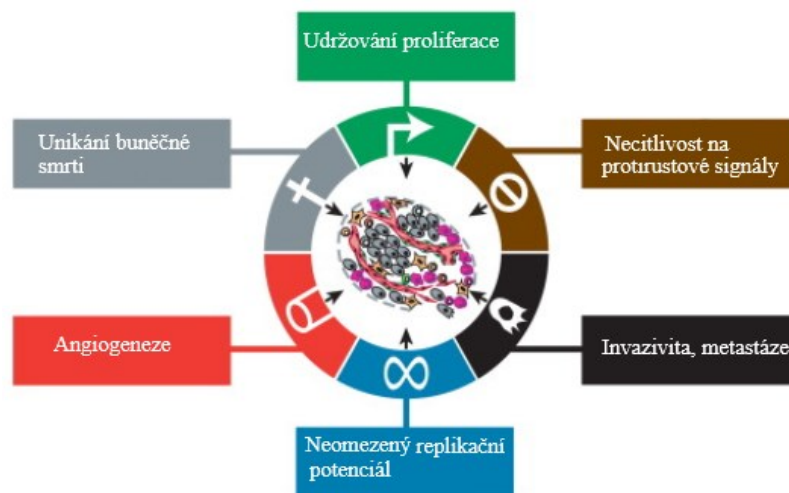
V 17. století londýnský chirurg William Salmon popsal, že nádory mohou být primární nebo sekundární, které vznikají z rakoviny v jiných částech, čímž vlastně popsal metastáze. Salmon taktéž zastával názor, že pokud není známa příčina rakoviny, její vyléčení bude obtížné. Dále byly poprvé představeny a nahlášeny slizniční karcinomy vaječnicků a rakovina varlat. Otištěním těchto případů počalo publikování kazuistik v lékařských periodikách (12).

Všechny tyto úspěchy a poznatky, které jsou spojeny s dalšími objevy mnoha dalších vědců, daly základy dnešní diagnostice našemu chápání rakoviny (11; 12).

## **1.2 Rakovina a její základní charakteristiky**

Studie dospěly k závěru, že nádorové buňky jsou „transformované buňky“ s mutacemi na genetické či epigenetické úrovni (9) soběstačné v růstu, schopné novotvorby krevních kapilár (angiogeneze), čímž si buňky zajišťují neomezenou výživu a s neomezeným replikačním potenciálem. Další jejich vlastností je necitlivost na protirůstové signály, schopnost invaze do

tkání a zakládat sekundární ložiska neboli metastázovat (1). Všechny tyto vlastnosti, jak je graficky zobrazeno na obrázku číslo 2 se navzájem doplňují a posilují.



Obrázek 2: Základní charakteristiky rakoviny, převzato a upraveno z (29).

### 1.2.1 Soběstačnost v růstu

Většina růstových faktorů je tvořena jedním typem buňky a působí na sousední buňku, čímž stimuluje proliferaci. Za normálních okolností buňky, které produkují růstový faktor, neexprimují příbuzný receptor, čímž se brání ke vzniku smyčky pozitivní zpětné vazby v rámci téže buňky. Toto pravidlo však nádorové buňky porušují hned několika způsoby, jako například získáním schopnosti syntetizovat stejné růstové faktory, na které reagují, nebo v některých případech nádorové buňky vysílají signály, které aktivují normální buňky a ty začnou produkovat růstové faktory (27).

### 1.2.2 Angiogeneze

Aby nádory mohly růst a metastazovat, musí vyvolat růst nových cév (angiogenezi). Zatímco v normálních tkáních je cévní klid udržován dominantním vlivem endogenních inhibitorů angiogeneze nad angiogenními podněty, v nádorových tkáních je angiogeneze indukována zvýšenou sekrecí angiogenních faktorů nebo snížením regulace jejich inhibitorů (28).

Hlavním faktorem nádorové angiogeneze a podporou růstu a metastáz je vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF) (36). Původně byl identifikován jako faktor, který pochází z nádorových buněk, a proto se začal používat název faktor vaskulární permeability, ale následné studie charakterizovaly VEGF jako specifický mitogen pro endotelové buňky (37). VEGF je homodimerní glykoprotein vázající heparin, který se vyskytuje ve čtyřech izoformách (38).

Exprese VEGF v nádorových buňkách je indukována třemi molekulárními cestami. První cesta je pomocí růstových faktorů vylučovaných nádorem, jako je například růstový faktor – *alfa*, který přímo stimuluje růst nádoru v autokrinní smyčce a současně indukuje sekreci VEGF pocházejícího z nádoru, který působí parakrinně jako silný proangiogenní faktor, jenž rekrutuje stromální krevní cévy do nádoru, čímž podporuje jeho výživu (39). Další možnost indukce exprese VEGF je hypoxie, tedy snížená okysličenost tkáně (40). Tento mechanismus má význam ve tkáni postihnuté nádorovou nekrózou nebo v její bezprostřední blízkosti. Na expresi VEGF se taktéž podílejí onkogeny, přičemž hlavní indukční roli má onkogen *ras* a supresivní funkci *p53*, tedy nádorový supresorový gen (41).

### 1.2.3 Necitlivost na protirůstové signály

Nádorové buňky jsou schopné obcházet výkonné programy, které negativně regulují buněčnou proliferaci, které jsou řízeny nádorovými supresory. Centrální kontrolní uzly jsou proteiny RB (retinoblastomový protein) a tumorsupresorový gen *TP53* (27).

RB protein je ústředním regulátorem buněčného cyklu a představuje transkripční korepresor. Tvoří komplexy s transkripčními faktory rodiny E2F, mění jejich promotorová místa na represorová (42), čímž snižuje transkripci genů (43), ovlivňuje replikaci DNA a přechod buněk z G1 fáze do S fáze. Konkrétními cíly RB – E2F komplexu je například DNA polymeráza *alfa*, cyklin A, thimidinkináza, dihydrofolátreduktáza, cyklin-dependentní kináza a složky minichromozomového udržovacího komplexu 3 a 5 (44). Ztráta funkce RB je ústředním krokem ve vývoji rakoviny (45). Prvně byly identifikovány dědičné mutace, které predisponují vznik retinoblastomu a osteosarkomu (46). Pozdější studie prokázaly, že mnoho typů nádorů má inaktivovanou formu RB vznikající na základě spontánních změn, zejména u karcinomu plic, gliomu, karcinomu jícnu a nádorů jater (47).

*TP53* je nejznámější a nejprozkoumanější tumor supresorový gen. Jeho hlavní funkcí je indukce apoptózy a zástava buněčného cyklu, taktéž se podílí na opravách DNA, kontrole

metabolických drah, implantaci embryí a usměrňování buněčného stárnutí (48). Působí jako transkripční faktor, který aktivuje velké množství genů, jako jsou induktory apoptózy BAX a PUMA/BBC3 (50). *TP53* je nejčastěji mutovaným genem lidských nádorů. Odhaduje se, že až polovina karcinomů nese mutace nebo delece tohoto genu. Ostatní nádory ztrácí funkci p53 například působením virových onkoproteinů nebo nadměrnou expresí MDM2, což je enzym, který za fyziologických podmínek udržuje hladinu p53 velmi nízko. Zvýšená produkce tohoto enzymu způsobuje proteolýzu p53, a tedy ruší jeho funkci (48; 49).

#### 1.2.4 Neomezený replikační potenciál

Normální somatické buňky se mohou dělit omezeně. Jejich telomery se postupně zkracují. Po dosažení kritické délky se aktivují RB a *TP53*, které způsobí mitotickou krizi a senescenci, to znamená, že buňka je metabolicky aktivní, ale už se nemůže dělit. Nakonec nastává buněčná smrt (27).

Telomery jsou komplexní struktury, které uzavírají konce ramen chromozomů eukaryotických buněk a udržují stabilitu a integritu genomu. Jsou složeny z hexamerové, tandemově se opakující sekvence deoxyribonukleové kyseliny (DNA) a telomerového vazebného proteinu složeného z akcesorních faktorů, telomerázy a komplexu shelterinu, který se váže s telomerovou DNA a způsobuje tvorbu telomerových smyček (T – smyčka) na koncích telomerů, čímž udržuje stabilitu chromozomů (60).

Pokud jsou RB a *TP53* poškozené a nefungují správně, dochází k aktivaci dráhy, která spojuje odhalené konce nehomologních chromozomů, čímž vznikne fúzní dicentrický chromozom, který je následně v další anafázi rozštěpen na dvouřetězcové zlomy DNA, čímž dochází k poškození genomu a mitotické katastrofě. Při působení onkogenů a poškození tumor supresorových genů, je buňka schopná reaktivovat telomerázu a prodloužit si tak telomery a obnovit chromozomální stabilitu (27).

#### 1.2.5 Metastáze

Šíření nádorových buněk z primárního ložiska do vzdálených orgánů, tedy metastáze, patří mezi nejčastější příčiny úmrtí onkologických pacientů (82). V dnešní době se na metastázování rakovinných buněk už nenahlíží jako na lineární kaskádu událostí, ale spíše jako na sled procesů, které probíhají současně a částečně se překrývají (81). Tyto procesy zahrnují invazi přes stroma, obrana a únik před protinádorovou imunitou, úpravu tkáňového mikroprostředí a rezistenci vůči terapeutickým úkonům (82).

Schopnost invaze do tkání probíhá ve čtyřech krocích. Prvním krokem je uvolnění mezibuněčných kontaktů, degradace extracelulární matrix (ECM), následné navázání na nové složky ECM a migrace nádorových buněk.

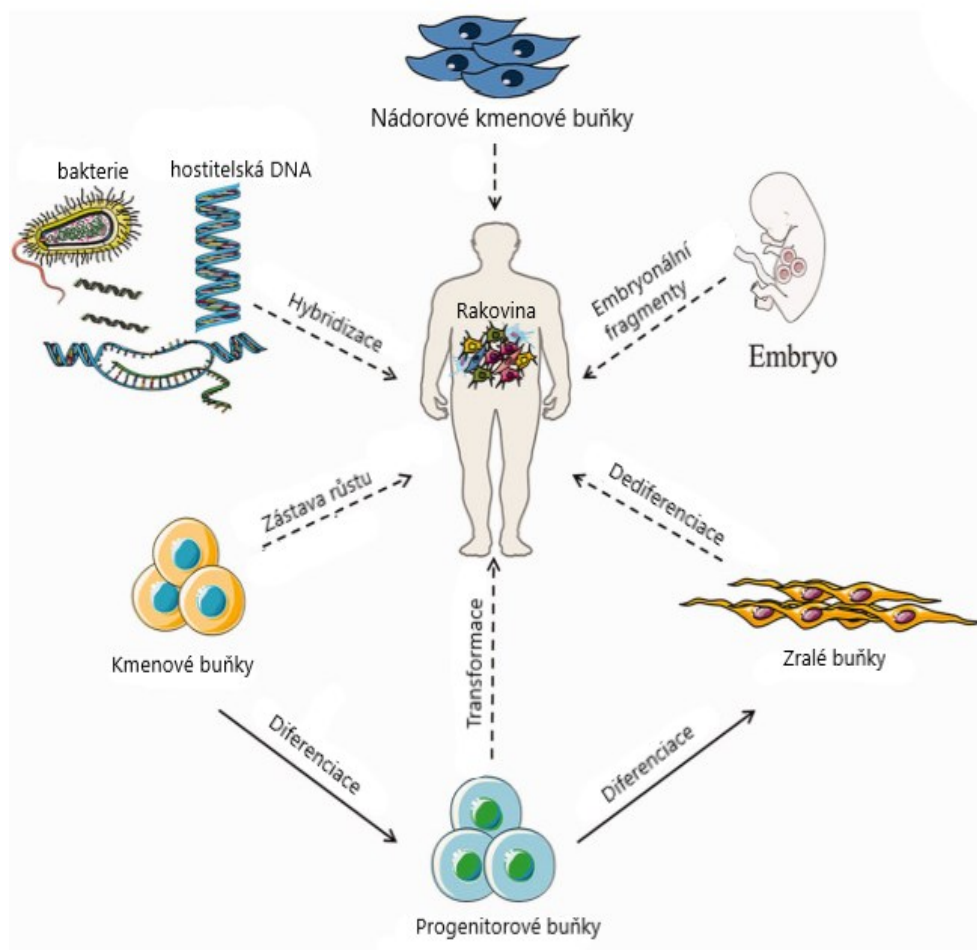
Uvolnění mezibuněčných nádorových buněk je umožněno inaktivací E – kadherinu, který se za fyziologických podmínek chová jako tzv. mezibuněčné lepidlo. Bazální membrána a intersticiální pojivová tkáň je degradována pomocí proteolytických enzymů produkovanými buď přímo nádorem nebo stromálními buňkami, které jsou stimulované nádorovými buňkami. Jsou produkovány různé proteázy například matrixové metaloproteázy (MMPs), které nejen že mají vliv na rozrušení tkání, také produkují růstové, chemotaktické a angiogenezní faktory.

Dále také rozrušují laminin a kolagen a tím vytváří nová místa, která se vážou na receptory na nádorových buňkách a stimulují migraci.

Migrace je posledním krokem invaze. Je to složitý, vícestupňový proces, který zahrnuje mnoho receptorů a signálních proteinů, které zasahují až do aktinového cytoskeletu. Na pohyblivém aparátu se podílejí cytokiny z nádorových buněk, produkty štěpení ze složek matrix (kolagen, laminin) a některé růstové faktory např. inzulin – like růstový faktor I a II (27).

### **1.3 Původ rakovinové buňky**

Komplexní pochopení původu nádorových buněk je zásadní pro navrhování účinných strategií léčby, prevence a také hodnocení rizika vzniku onemocnění. Většinou původní zmutované buňky s transformačním potenciálem nejsou známy. Existují však důkazy, že vznik rakovinové buňky může být spojen s kmenovými a progenitorovými buňkami, reaktivací embryonálních genetických cyklů, zástavou zrání buněk, hybridizací DNA hostitele působením virů či dediferenciací, tedy ztrátou specializované funkce zralých buněk (viz. obrázek číslo 3) (9).



Obrázek 3: Původ rakovinové buňky, převzato a upraveno z (9).

### 1.3.1 Kmenové buňky

Lze definovat jako nezralé, nediferenciované buňky se schopností sebeobnovy a multilineární diferenciace, to znamená, že jsou schopné tvořit nové kmenové buňky (SC) a buňky různých buněčných linií (83). Díky evolučním procesům, které snižují pravděpodobnost vzniku onkogenních mutací, mají SC omezenou životnost (84).

Paradoxně většina nádorových onemocnění vzniká z kmenových buněk, které prošly mutacemi a transformovaly se na nádorové kmenové buňky (CSC), nebo vznikají ze somatických buněk, které akumulují mutace ve svém genomu, čímž získávají vlastnosti sebeobnovy a stávají se taktéž CSC, které se podílejí na vzniku solidních nádorů či leukémie (85).

### **1.3.2 Reaktivace embryonálních genetických cyklů**

Nádorové buňky a raná embrya sdílí společné znaky jako jsou neomezený růst, ztráta diferenciací, invazivost a zvýšená exprese určitých genů, které jsou v dospělosti za fyziologických podmínek neaktivní. Příkladem je morfogen Nodal, organizátor embryonální osy, který je u určitých typů nádorů znovu ve vysokých dávkách exprimován a působí jako podpora nádorového bujení a buněčné plasticity. Zvýšená exprese tohoto genu se vyskytuje zejména u karcinomu prsu, pankreatu a melanomů.

Reaktivace těchto genetických cyklů probíhá na epigenetické úrovni, to znamená, že změny exprese genů nejsou způsobeny změnou sekvence DNA a dochází k přenosu „embryonálních“ informací diferenciovaným buňkám, které se následně snaží vrátit ke svému embryonálnímu stavu, čímž dochází k rozvoji rakovinového fenotypu (87).

### **1.3.3 Působení viru**

Virové infekce způsobují až 15 % nádorových onemocnění u lidí (86). Onkogenní viry modifikují hostitelův epigenom pomocí jeho vlastních epigenetických modifikátorů k expresi virových genů, segregaci své genetické informace do dceřiných buněk a udržování virové latence, jenž napomáhá úniku před imunitním systémem hostitele. Propuknutí rakoviny je z evolučního hlediska považován spíše za vedlejší účinek a způsobuje to, že onkogenní viry ztrácejí schopnost infikovat nové hostitele (88).

Nejznámější onkogenní viry jsou Kaposiho herpes virus asociovaný se sarkomem, tedy původce Kaposiho sarkomu a osteosarkomu, což je vzácné maligní onemocnění kosti, virus Epstein – Barrové, který také patří mezi herpes viry a způsobuje rakovinu nosohltanu a Burkittův lymfom, lidský papilomavirus, původce rakoviny děložního čípku, virus hepatitidy B a C, který poškozuje játra zvyšuje pravděpodobnost vzniku rakoviny jater, T – buněčný lymfotropní virus typu I, který ve vzácných případech způsobuje leukémii a polyomavirus Merkelových buněk, které se nachází v hlubších částech pokožky v okolí vlasových kořínků, prstů a v ústech (86).

## **1.4 Rakovina a imunitní systém**

Při vzniku a rozvoji rakoviny hraje imunitní systém (IS) zásadní roli, protože prostřednictvím imunitního dohledu je schopen rozpoznávat a zaměřovat nádorové buňky. Na tomto procesu se podílí specializované buňky imunitního systému, jako jsou T lymfocyty a přirozené zabíječské buňky (NK buňky), které dokážou postižené buňky odhalit a zničit.



IS se taktéž podílí na tvorbě mikroprostředí nádoru, ve kterém se nachází hlavně makrofágy asociované s nádorem a dendritické buňky, které se podílejí na podpoře růstu, angiogenezi a inhibují aktivitu T buněk. V mikroprostředí se taktéž nachází Treg buňky, které potlačují imunitní odpověď a inhibují proliferaci T lymfocytů (94; 95).

### **1.4.1 Prezentace antigenů**

Antigeny produkované nádorem jsou rozpoznány APC (antigen prezentující buňky), které je pohltí a pomocí enzymu proteazomu je rozštěpí na peptidy. Peptidy se váží na MHC molekuly (hlavní histokompatibilní komplex) a takto vzniklý komplex je transportován na povrch APC. Antigeny asociované s nádorem navázané na povrchu APC jsou rozpoznávány pomocí specializovaných T buněčných receptorů (TCR) na povrchu T – lymfocytů, které se následně začínají dělit a diferenciovat na specializované buňky schopné ničit nádorové buňky.

Rakovinné buňky jsou však schopné se tomuto vyhnout tím, že sníží nebo úplně zastaví expresi proteinů, které jsou rozpoznávány jako antigeny. Dochází k tomu díky mutacím nádorových buněk, které ovlivňují expresi těchto proteinů, nebo vytváří imunosupresivní mikroprostředí, které zabraňuje imunitním buňkám rozpoznat nádorové buňky.

Další možností vyhnutí se imunitnímu systému je snížení schopnosti APC prezentovat nádorové antigeny. Rakovinové buňky mohou snížit expresi MHC molekul, čímž se stávají neviditelnými pro imunitní systém, nebo narušují aktivitu proteazomu, čímž brání degradaci proteinů a APC pak nejsou schopné je prezentovat na svém povrchu (99).

### **1.4.2 Imunitní únik**

Označuje schopnost nádorových buněk unikat detekci a destrukci imunitním systémem, pomocí mechanismů vyhýbání imunitnímu dohledu (97; 98). Imunitní systém pro regulaci aktivace a funkce imunitních buněk využívá tzv. kontrolní body, což jsou kontrolní dráhy nebo molekuly exprimovány například T buňkami, které zamezují přemrštěné imunitní reakci tím, že inhibují další proliferaci T buněk. Příkladem jsou CTLA – 4 (cytotoxický T lymfocyt asociovaný s antigenem 4), nebo PD -1/PD-L1 (programovaná smrt buňky 1). Nádory jsou schopné tyto molekuly exprimovat na svém povrchu, čímž se vyhýbají imunitní odpovědi (99).

## 2 VIRUS HERPES SIMPLEX

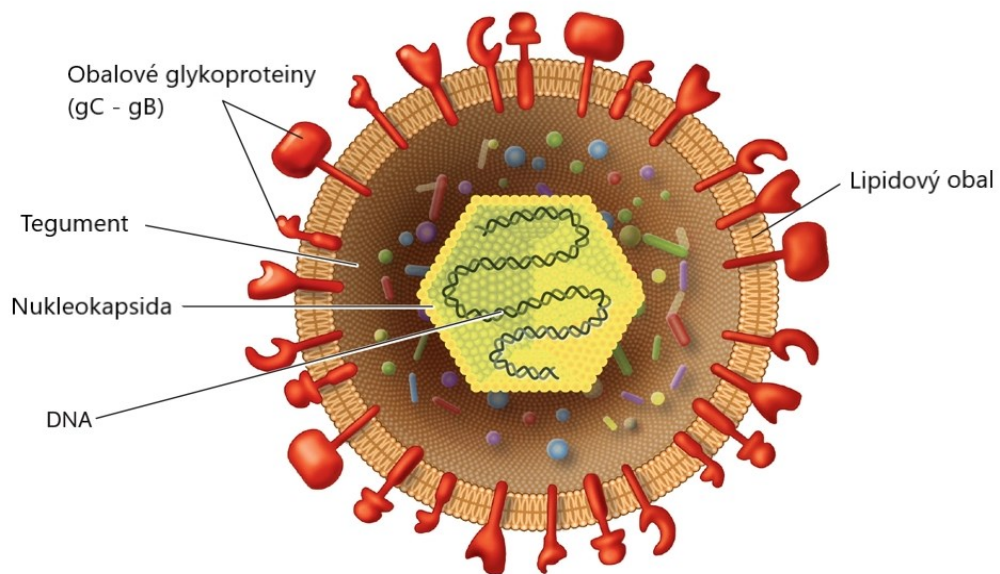
Herpesviridae je čeleď velkých všudypřítomných obalených virů, které obsahují dvouvláknovou deoxyribonukleovou kyselinu (DNA) a způsobují řadu onemocnění a infekcí, ku příkladu orální či genitální opar, stromální keratitidu, nebo meningitidy a encefalitidy. Patří sem devět lidských herpes virů (viz. tabulka 1), z nichž celosvětově nejrozšířenější jsou Herpes simplex virus typu jedna (HSV - 1) a HSV typu dvě (HSV – 2) (14). Jsou typické svým krátkým reprodukčním cyklem, rychlostí, kterou jsou schopny zničit hostitelskou buňku (6) a u unifikovaných hostitelů vytvářejí celoživotní latenci (14).

Tabulka 1: Taxonomické zařazení herpesviridae, upraveno a převzato z (61).

Čeleď	Herpesviridae					
Podčeleď	<i>Alfa – herpesvirinae</i>		<i>Beta – herpesvirinae</i>		<i>Gama – herpesvirinae</i>	
Rod	<i>Simplexvirus</i>	<i>Varicellovirus</i>	<i>Cytomegalovirus</i>	<i>Roseolovirus</i>	<i>Lymphocytovirus</i>	<i>Rhadinovirus</i>
Druh	Herpes simplex virus 1	Varicela zoster virus	Lidský cytomegalovirus	Lidský herpes virus 6 A	virus Epstein-Barrové	virus Kaposiho syndromu
	Herpes simplex virus 2	X	X	Lidský herpes virus 6 B	X	X
	X	X	X	Lidský herpes virus 7	X	X

### 2.1 Struktura viru

Herpes virus – 1 i Herpes virus – 2 obsahují dlouhou dvouvláknovou deoxyribonukleovou kyselinu (DNA). Virion HSV je složen z několika vrstev (viz. obrázek číslo 4), a to nukleokapsidou obsahující DNA, ikosaedrální kapsidou, kterou obklopuje amorfní vrstva bílkovin vnitřního ochranného obalu a lipidovým obalem obsahujícím obalové fúzní glykoproteiny B a C, díky kterým jsou schopny se vázat na glykosaminoglykany hostitelských buněk (8). Dalšími velmi důležitými součástmi nezbytnými pro fúzi herpes virů s hostitelskými buňkami jsou multifukční glykoproteiny 1–3 a heterodimery glykoproteinu H a L (14).



Obrázek 4: Struktura viru herpes simplex, převzato a upraveno z (7).

### 2.1.1 Struktura DNA viru

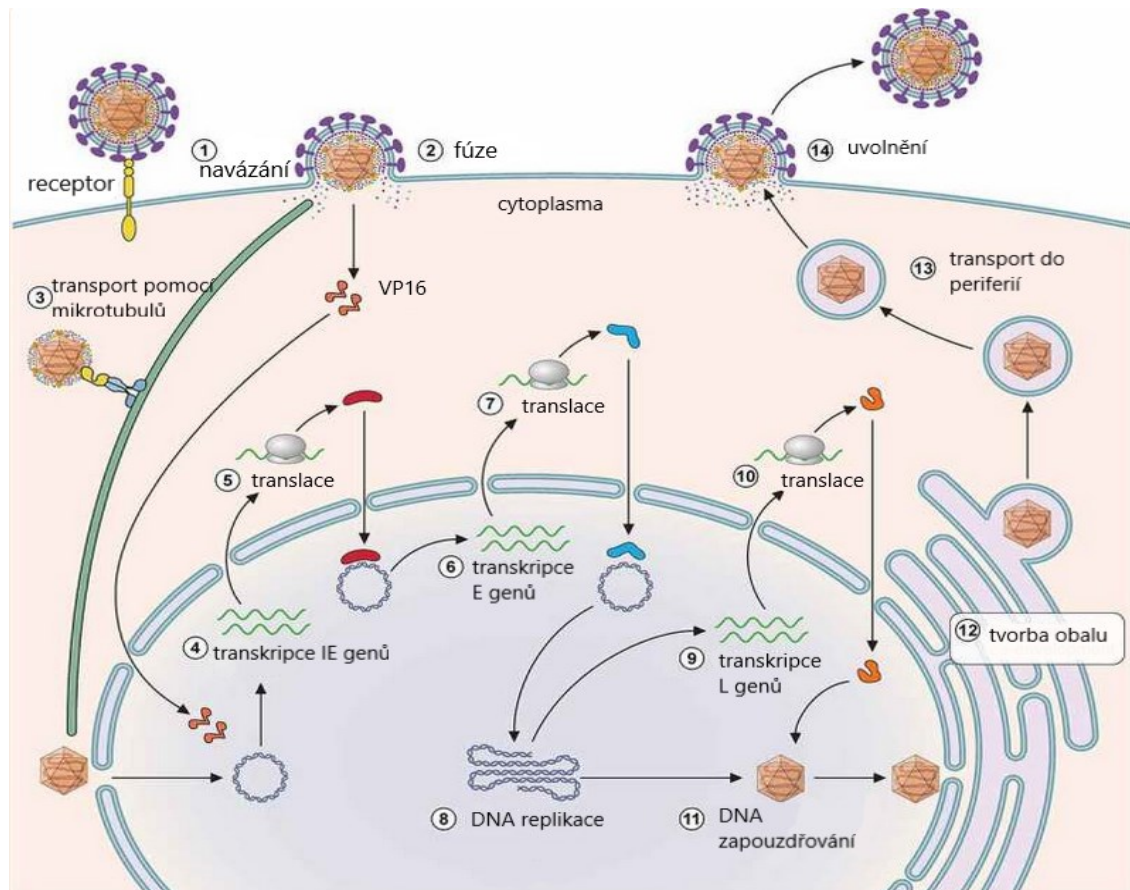
DNA viru herpes simplex se skládá ze dvou kovalentně spojených komponent, L (long = dlouhý) a S (short = krátký), které tvoří specifické sekvence –  $U_L$  (specificky dlouhé) nebo  $U_S$  (specificky krátké) lemované velkými invertovanými repeticemi. Tyto dvě komponenty mohou být vůči sobě invertovány, čímž tvoří čtyři různé typy molekul DNA, které se od sebe liší svou orientací (6).

## 2.2 Mechanismus infekce

Herpesviridae jsou schopny infikovat různé typy buněk, vstup do hostitelských buněk probíhá u všech podobně a vyžaduje velmi koordinovanou interakci glykoproteinů na povrchu virionu (14).

Celý proces začíná navázáním viru prostřednictvím glykoproteinů B a C na glykosaminoglykany (GAG) obsažené na plazmatické membráně hostitelské buňky (65). Po navázání na GAG následuje navázání glykoproteinu D na heterodimery glykoprotein H a glykoprotein L, které slouží jako regulátory fúze a přenáší signál na glykoprotein B, který tímto změni svou konformaci, což vede k fúzi virové a buněčné membrány (66). Několikanásobným přeskládáním glykoproteinu B vznikne v membráně pór, kterým se umožní

prostup virové kapsidy do buněčné cytoplazmy a její transport do jádra (8; 14). Po fúzi následuje oddělení některých proteinů vnitřního obalu, jako například VP16, které samostatně putují do jádra (67), zatímco ostatní zůstávají vázané (viz. obr. 5). Transport kapsidy po mikrotubulech směrem do jádra usnadňují motorické proteiny dynein, dynaktin a kinezin, jenž interagují s proteiny vnitřního obalu.



Obrázek 5: Buněčný cyklus, převzato a upraveno z (8).

Následuje import virového genomu do jádra hostitelské buňky prostřednictvím virových proteinů pUL36 a pUL37. pUL36 (velký obalový protein) má za úkol směřování kapsidy v komplexu jaderných pórů k jádru a následné odpláštěvání, taktéž podporuje degradaci jaderných ligáz, čímž zabráňuje progresi S – fáze buněčného cyklu hostitele a tím vytváří příznivé prostředí pro replikaci viru, protein pUL37 inhibuje imunitní odpověď hostitele. Jadernými póry vstupuje lineární genom virové DNA do jádra (73) (obr. 5). Geny a virové proteiny herpes viru jsou přepisovány pomocí buněčné RNA polymerázy II.

Následuje replikace a během ní exprese genů. Komplex tvořený obalovým proteinem VP16, faktorem 1 hostitelské buňky (HCF-1) a oktamerem vazebného proteinu – 1 se váže na promotor bezprostředně časných (IE) genů a řídí jejich expresi (74). IE geny řídí transkripci časných (E) genů, jejichž proteiny se zapojují do replikace DNA, která probíhá mechanismem krouživého přemístování. Po replikaci DNA se exprimují pozdní (L) geny, které jsou strukturními proteiny a podílejí se na sestavování viru.

Virová transkripce, replikace, sestavení kapsidy a zapouzdření probíhají v jádře (75). Pro účinný jaderný import virových proteinů, sestavení a následné vypuzení kapsidy je nezbytné působení buněčných proteinů jako je importin *alfa* (76). Zralé kapsidy s virovou DNA opouštějí jádro tzv. obálkováním, což znamená, že kapsida získává primární obal z vnitřní jaderné membrány. Tento proces je zprostředkován interakcí regresního komplexu tvořeným pUL31 a pUL34 s virovými a buněčnými proteiny, jako je například lamin (77). Obal se při splnutí s vnější jadernou membránou a uvolněním do cytoplazmy ztrácí. Cytosolové kapsidy po výstupu z jádra získávají více proteinů vnitřního obalu, zatímco proteiny virové membrány a proteiny vnějšího obalu se začleňují do membránových kompartmentů vezikul trans Golgiho aparátu a endozomů (78; 79). Ke kapsidě se jako první přidružují vnitřní obalové proteiny pUL36, 37, které řídí pohyb kapsidy po mikrotubulech k místu sekundárního obalení a následně transport HSV z jádra k periférii, později se přidružují taktéž vnější obalové proteiny (80).

## 2.3 Imunitní reakce

Infekce již několika hostitelských buněk spouští mnoho reakcí imunitního systému, takže hlavní úlohou je inhibice exprese genů HSV a tím zamezit napadání dalších buněk. Při obraně organismu spolu úzce spolupracují přirozená a získaná imunitní odpověď (16).

### 2.3.1 Přirozená imunitní odpověď

Je vysoce účinná proti HSV během primární infekce a pro kontrolu reaktivace z latence. Pro detekci patogenů buňky exprimují PRR (receptory pro rozpoznání vzorců), které detekují molekulární vzory spojené s patogenem (PAMPs) a molekulární vzory spojené s poškozením (DAMPs) a signalizují prostřednictvím adaptorových proteinů, jako jsou TIR – domény obsahující adaptér indukující interferon – beta (TRIF) a mitochondriální antivirový signální protein (MAVs), aby zahájily vrozenou imunitní odpověď. To obvykle vede k aktivaci signálních kaskád, které vedou k expresi interferonů a cytokinů, mezi které patří interleukiny (IL), tumor nekrotizující faktory (TNF), chemokiny a interferony (IFN). PRRs vnímají HSV

v různých fázích jeho životního cyklu: při vazbě na buňku, během fúze, transportu kapsidy a uvolnění genomu. Toll – like receptory (TLR) jsou PRR, které detekují PAMPs v nukleových kyselinách a proteinech. U savců bylo detekováno 12 TLR, přičemž TLR 2, 3 a 9 jsou hlavními senzory HSV (16).

TLR2 detekuje virové glykoproteiny H a L přítomné na virovém obalu při interakci HSV s plazmatickou membránou a vysílá signál prostřednictvím myeloidního diferenciačního faktoru 88. To vede k aktivaci adaptorové molekuly související s interferon-p indukujícím adaptérem obsahující doménu TIR a expresi interferonu typu I a k aktivaci faktoru asociovaného s receptorem TNF a expresi protizánětlivých cytokinů (62).

TLR9 detekuje HSV DNA v endozomech. Virová kapsida chrání DNA během cytoplazmatického transportu do jádra. Přesto několik cytoplazmatických sensorů detekuje onu DNA. Jeden z mechanismů pozorovaných v makrofázích zahrnuje degradaci kapsidy HSV, čímž se uvolňuje deoxyribonukleová kyselina Herpes simplex do cytoplazmy, což usnadňuje její detekci (63).

TLR3 detekuje ribonukleovou kyselinu (RNA), která vzniká jako meziprodukt při replikaci HSV (64). Po rozpoznání RNA, následuje aktivace MAVs a indukce interferonu a dalších cytokinů. Interferony dále indukují kinázu aktivovanou RNA, která detekuje RNA Herpes viru v cytoplazmě, což vede k fosforylaci eukaryotického iniciačního faktoru dvě – *alfa*, což blokuje translaci a spouští tzv. samodestrukci buňky tedy autofagii, která slouží jako důležitá imunitní odpověď při omezování virové replikace, zejména v neuronech (17).

### **2.3.2 Získaná imunitní odpověď**

Je důležitá zejména pro kontrolu infekce a reaktivace Herpes viru. Nejdůležitější práci mají T lymfocyty. Lidské CD4 a CD8 T buňky, lymfocyty s povrchovými znaky 4 a 8, jsou schopny rozpoznat přibližně 17 proteinů HSV-1, včetně enzymů a strukturních proteinů. Specifické T buňky pro HSV exprimují vysoké hladiny cytologických molekul a při kontaktu s virovým antigenem vylučují interferon *gama*.

Obecně získaná odpověď zahrnuje prezentaci antigenů dendritickými buňkami T lymfocytům, což vede k expresi interferonu *gama*, který dále spouští expresi chemokinů, což vede k náboru T buněk a NK buněk (Natural killer cells) (18).

## 2.4 Odolnost Herpes viru vůči imunitnímu systému

Herpes virus využívá několik strategií, jak čelit antivirové imunitní odpovědi. Využívá například pseudouridin syntázu 3, která inhibuje dráhu TLR2, nebo také inhibuje aktivaci interferonu typu 1 pomocí TLR3 (19). Obalový protein VP22 interaguje s cyklickou *gamamonofosfát* – adeninmonofosfát syntázou (cGAS), a tím inhibuje produkci interferonu typu 1.

Další obalový protein pUL37 inaktivací cGAS zhoršuje schopnost rozpoznat RNA a inhibovat replikaci HSV (20). HSV taktéž blokuje jaderné translokace fosforylací komplexu p50/p65 do jádra a tím inhibuje signalizaci nukleárního faktoru *kappa* B (26).

Herpes simplex je schopný taktéž obměňovat získanou imunitní odpověď tak, že infikuje nezralé dendritické buňky, blokuje jejich zrání, snižuje jejich aktivitu, spouští buněčnou smrt, tedy apoptózu a usnadňuje tak zkříženou prezentaci neinfikovaných dendritických buněk (21).

Dále je schopný se bránit například inhibicí prezentace antigenů pomocí proteinu infikovaných buněk (ICP47) nebo inhibicí autofagie pomocí ICP34 (22). HSV na svůj glykoprotein G váže chemokiny a modifikuje shlukování jejich receptorů, čímž vychyluje typ imunitní odpovědi a zhoršuje signalizaci (23). Herpes simplex dokáže i infikovat samotné aktivované T lymfocyty, což sice není nijak produktivní, ale potlačuje to přenos signálu z T buněčných receptorů a cytolytickou aktivitu T lymfocytů (24). HSV také může inhibovat protilátkovou odpověď navázáním svého glykoproteinu E a glykoproteinu C na Fc oblast protilátek, respektive komplementu a inhibují tak cytotoxickou závislost na protilátkách (25).

## 3 LÉČBA RAKOVINY

V posledních několika letech, navzdory neustálým novým pokusům o nalezení fenomenálních způsobů léčby rakoviny, jsou chemoterapie, ozařování a cílená léčba léky stále hlavní léčebnou metodou v klinické praxi. V těchto metodách však přetrvává mnoho problémů, jako jsou závažné vedlejší účinky, snadný rozvoj rezistence na léky a nedostatečná kontrola recidivy nádorů a metastáz, což vede k neuspokojivým výsledkům léčby nádoru. Tyto nedostatky hlavních terapeutických metod vyžadují nové strategie v oblasti léčby malignit (15).

### 3.1 Historie léčby

#### 3.1.1 Léčení dávnověku

Již bylo řečeno, že rakovinu, jakožto záhadné a velmi zákeřné onemocnění, lidé znají již po dlouhá tisíciletí. Proto se ji pokoušeli vyléčit různými způsoby. Například Egypťané léčili nemocné pomocí nožů, solí anebo arzenovou pastou, která se využívala pod názvem „egyptská mast“ až do 19. století. Lidé blízkého a dálného východu nejvíce využívali bylinky v podobě čajů, ovocné šťávy, fíky a takéž vařené zelí. Ve vážných případech přistoupili i k použití roztoků či past ze železa, mědi, síry a rtuti. Řekové povrchové léze léčili pleťovými vodami, kauterem a hluboké nádory se buď pokusili vyříznout nožem nebo je považovali za nevyléčitelné. Rakoviny prsu a děložního čípku byly považovány za velmi závažné choroby, a proto se uplatňovala pouze paliativní péče (11).

#### 3.1.2 Začátky moderní léčby

Jako všechny začátky i začátky léčby pomocí moderních technik, byly obtížné a velmi omezené, a to ze dvou prostých důvodů. Zprv k vývoji modelů, které by působily proti rakovině a daly se použít u člověka a za druhé přístup ke klinickým zařízením pro testování takových látek. Mezi prvními chemickými látkami, které byly používány, jsou anilinové barvy, jež jsou v dnešní době paradoxně považovány za karcinogeny a alkylační látky, které naopak se dnes používají jako cytostatika.

Jakýkoliv přínos k léčbě rakoviny byl brán velmi pesimisticky, jako například při zavedení hormonální léčby v roce 1939 či počátek používání dusíkatého yperitu o pár let později, jelikož remise byly krátké nebo neúplné. Světlo do tohoto temného období přinesl výzkum antibiotik, u kterých byly objeveny protinádorové účinky. Z těchto výzkumů vzešel



aktinomycin D, který byl značně využíván u dětských nádorů v 50. a 60. letech. Toto léčivo zažehlo velký zájem o hledání dalších účinných protinádorových antibiotik a toto úsilí přineslo řadu těchto léčiv, které se používají do dnes (13).

## **3.2 Onkologická viroterapie**

Onkolytická viroterapie je druh protinádorové léčby využívající viry s přirozenou nebo upravenou nádorově selektivní replikací k záměrnému infikování a usmrcení nádorových buněk. V 50. letech 20. století byla provedena raná klinická studie s použitím divokých kmenů virů pasážovaných *in vitro* a vakcinačních virů, obecně první generace onkolytických virů. Díky pokroku v biotechnologii a virologii se oblast terapie pomocí virů rychle rozvíjela a vznikaly rekombinantní viry se zvýšenou selektivitou neboli onkolytické viry druhé generace. V dnešní době se používají onkolytické viry třetí generace, tudíž viry vylepšené o terapeutické transgeny získané z mnoha druhů virů (51).

Klinické využití onkolytických virů (OV) se objevuje jako alternativa k modifikaci nádorového prostředí ze stavu imunitní poušti způsobené únikovými mechanismy nádorů, které přispívají k progresi nádoru, do stavu zánětu, kdy je imunitní systém schopen abnormální buňky usmrtit (53). Kromě toho viry představují různé mechanismy, které vedou k lýze a smrti infikovaných nádorových buněk, čímž se zvyšuje účinnost imunoterapie (52).

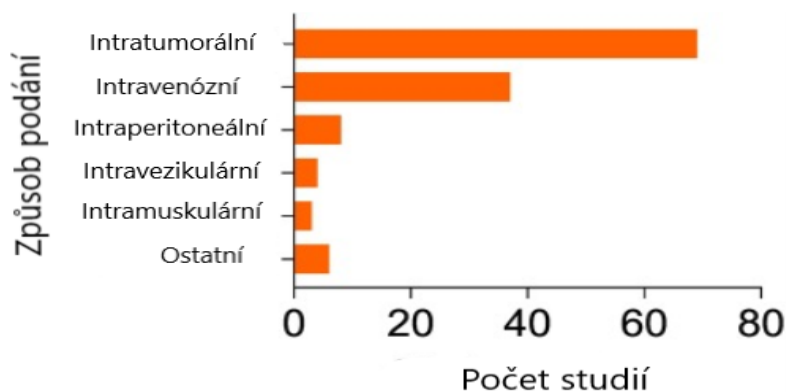
### **3.2.1 Způsob podání onkolytických virů**

Způsob podání OV záleží na typu nádoru, který je cílem léčby, protože cesta viru přímo ovlivňuje účinnost terapie vzhledem k dopravě viru na místo a přirozené obraně proti antigenu (55).

#### **3.2.1.1 Intratumorální podání**

V dnešní době je nejpoužívanější metodou pro podávání OV při klinických studiích (viz. obr. 6), kdy se onkolytický vir vpichuje přímo do nádoru, čímž se usnadňuje přístup virových částic k nádorovým buňkám. Tímto způsobem podání se obchází systémové ředění v krevním oběhu. Intratumorální (IT) injekcí se například podává Talimogene laherparepvec, upravený herpes virus, pacientům s metastazujícím melanomem kůže (105).

Nevýhodou IT je nízká odezva neinjektovaných metastáz a bezpečnostní problémy při potřebě podání více dávek (102).



Obrázek 6: Zastoupení podání OV, převzato a upraveno z (102).

### 3.2.1.2 Intravenózní podání

Druhou nejčastější volbou podání OV (obr. 6) je krevním řečištěm, čímž se OV mohou dostat i ke vzdáleným metastázám bez ohledu na jejich umístění (106).

Omezení nastává při cílení na mozkové nádory, kvůli hematoencefalitické bariéře, proto se raději provádí intracerebrální podání přímo do mozkové tkáně. Další nevýhodou je taktéž to, že onkolytické viry podávané přímo do krve jsou velmi rychle odstraňovány již existujícími a indukovanými antivirovými protilátkami a dalšími imunitními reakcemi, které snižují účinnost dodání OV do místa nádoru (102).

### 3.2.1.3 Pomocí nosiče

Při této metodě se využívají buněčné nosiče, které jsou infikované *ex vivo*, tedy mimo tělo pacienta a následně jsou podány jako léčivo. Buňky, vybrané k infekci, by měly mít vysokou toleranci k infekci OV a měly by po styku s nádorovými buňkami virus účinně uvolňovat. Tyto buňky taktéž chrání onkolytické viry před odstraněním z cirkulace a umožňují jejich zavedení do prostředí nádoru (107).

Nosiče mohou být buňky imunitního systému, například T – lymfocyty, monocyty a makrofágy, které při cirkulaci systémově a specificky rozpoznávají nádorové buňky. Další možnost je využít kmenové buňky, mezenchymální kmenové buňky, nervové kmenové buňky anebo kmenové buňky odvozené od tukové tkáně, které mají schopnost nádory vyhledávat (102).

Největší nedostatek je předčasná lyze buňky virem před dosažením nádorových buněk. Omezení je taktéž v jejich transdukční a infekční účinnosti či bezpečnosti (108).

### **3.2.1.4 Ostatní způsoby podání**

Pro břišní nádory se podávají OV intraperitoneálně, tedy přímo do dutiny břišní. Tento způsob podání je relativně snadný a vyžaduje málo speciálních technik (109).

Novější metody jsou podání OV intranazálně pro léčbu gliomů, či intravezikulárně pro léčbu karcinomů močového měchýře. Pro karcinomy plic nebo metastazující karcinomy jater, které běžně metastazují do plic, se zavádí potenciálně neinvazivní metoda a tou je inhalace aerosolů (110; 111; 112; 113).

### **3.2.2 Mechanismus onkolytické viroterapie**

Nádory jsou schopné obcházet imunitní systém (viz kapitola 1.4) pomocí exprese a aktivace některých mechanismů, čímž modifikují i protivirovou odpověď, programovanou apoptózu a zraní infikovaných buněk. Díky těmto modifikacím spojenými s virovými faktory bránící apoptóze, jsou onkolytické viry schopné déle přežívat v nádorových buňkách, projít životním cyklem a dozrát do lytické fáze (54).

Působení onkolytických virů je dvojitý. První cíl je přímé usmrcení nádorové buňky, kdy jsou viry schopny vstoupit do prostředí nádoru, obvykle lokální injekcí, a poté zahájit replikaci a následnou lyzi infikované nádorové buňky, uvolnění nádorových antigenů a lokální imunitní odpověď. Po lyzi infikované buňky se uvolní nové viriony, které infikují sousední nádorové buňky (obr. 7) (51).

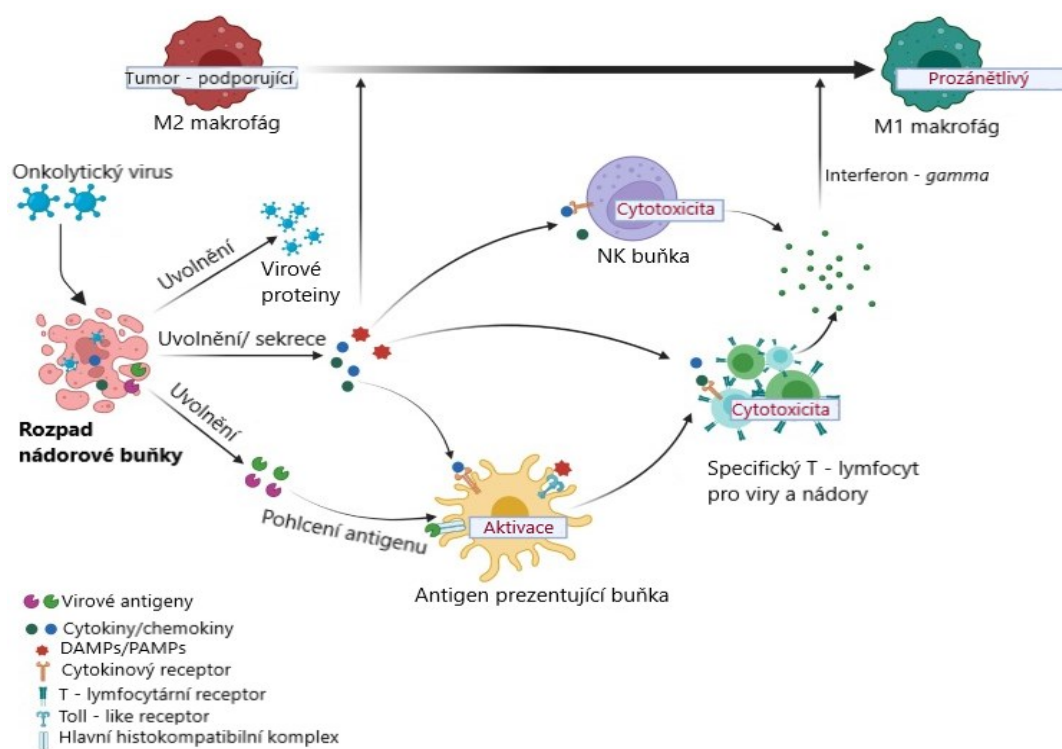
OV jsou schopny infikovat abnormální buňky prostřednictvím specifických cílů, jako jsou jaderné transkripční faktory a mezi nimi lidská telomeráza, reverzní transkriptáza, cyklooxygenáza – 2, osteokalcin a povrchové markery jako prostatický specifický membránový antigen, folátový receptor, CD20 a receptor pro endoteliální růstový faktor, což jsou látky produkované nádorem. Kromě toho je možné v laboratořích odstranit patogenní virové geny, čímž se zvýší selektivita k nádorovým buňkám a sníží agresivita vůči normálním tkáním (54).

Viry a jejich antigenní struktury, jako jsou virové proteiny, RNA, DNA a virová kapsida, stimulují PAMPs, tedy molekulární vzory spojené s patogenem, tím se aktivují dendritické buňky a prostřednictvím Toll – like receptorů stimulují tvorbu interferonu I, TNF – *alfa*

a cytokinů, které stimulují tvorbu dalších buněk imunitního systému a udržují zánětlivé prostředí (obr. 7) (91).

Kromě poškození nádoru zánětlivou reakcí mohou viry stimulovat některé dysfunkce organel, jako je endoplazmatické retikulum, lysozomy nebo mitochondrie, což ohrožuje fyziologickou funkci buňky. OV taktéž dokáží vyvolat oxidační stres produkcí reaktivních forem dusíku a stres endoplazmatického retikula, což zvyšuje intracelulární hladiny vápníku, což přispívá k stimulaci a zmenšování nádoru (89).

Výsledkem těchto mechanismů je likvidace nádorových buněk, jako je autofagická buněčná smrt, apoptóza, či nekróza a pyroptóza, což vede k produkci DAMPs, tedy k produkci imunitním znakům souvisejícím s poškozením, které stimulují dozrávání dendritických buněk, prezentaci nádorových antigenů (viz. obrázek 7) (90).



Obrázek 7: Důsledek působení OV na nádorovou buňku, převzato a upraveno z (102).

### 3.3 Léčba rakoviny pomocí herpes viru

Herpes simplex virus – 1 (HSV-1) je, jak už bylo řečeno v kapitole druhé, DNA virus s velkým genomem o velikosti 150 kb, který kóduje 70 nebo i více genů a patří do podrodiny *alfa*-herpesvirů. Jeho velký genom usnadňuje modifikaci za účelem zlepšení onkolytických vlastností a bezpečnosti pro pacienta (56).

Díky jeho patogenitě vůči člověku a schopnosti vyvolat infekci kůže či sliznice, je geneticky upravován, aby byla zajištěna co největší účinnost a nejmenší újma na člověku (51). V této souvislosti bylo vyvinuto a testováno velké množství onkolytických HSV – 1, které dosahovaly dobrých výsledků. Patří mezi ně například Talimogene Laherparepvec (T – VEC), který byl schválen Úřadem pro kontrolu léčiv (57; 58), a je to taktéž nejstudovanější onkolytický herpes virus. Vzniká delecí  $\gamma 34.5$  a ICP47 a vložením GM – CSF za účelem inaktivace zvýšení replikace a imunogenicity viru (59).

### 3.4 Výroba onkolytických herpes virů

Při výrobě onkolytických virů se vždy musí zohlednit to, že se používají živé virové částice, proto je nutné oslabení jejich patogeneze a specificky zamířit proti nádorovým buňkám. Pro zabránění dlouhodobé toxicity se využívají oslabené vektory nebo přirozeně existující méně virulentní varianty klinicky významných OV.

Zavedených technik je hned několik. Tradičně se onkolytické herpes viry vyrábí homologní rekombinací mezi purifikovanou DNA herpes viru a rekombinačním plazmidem v kotransfekovaných buňkách. Alternativní způsob je úprava buněk překrývajícími se kosmidy, které obsahují příslušné inserce či delece. Tato metoda je problematická, protože některé rekombinace jsou neúčinné a musí se provádět screeningy a výběry plaků pro správný rekombinant (51).

#### 3.4.1 Tvorba oslabených herpes virů

HSV způsobují neurovirulenci a latentní infekce díky produkci genu *ICP34.5*, který inhibuje odpověď interferonu a signální dráhu proteinkinázy R, proto u atenuovaného viru, odvozeného od HSV, T – VEC se tento gen odstraňuje (100).

### **3.4.2 Vyzbrojení onkolytických virů transgeny**

Jelikož HSV má velký genom, poskytuje tím mnoho místa pro vložení transgenů, proto jsou upravovány tak, aby exprimovaly antigeny asociované s nádorem (TAA), jako jsou například karcinoembryonální antigen (CEA), antigen asociovaný s lidským melanomem (MAGE-A3). Taktéž mohou být upraveny tak, aby exprimovaly imunoaktivující molekuly, jako jsou proteiny vyskytující se na povrchu T – lymfocytů (CD40L/4-1BBL) a imunitní antiinhibiční molekuly, příkladem může být jednořetězcový variabilní fragment (scFv) proti PD – 1 nebo cytotoxickému T – lymfocytárnímu proteinu 4, čehož se využívá u mnoho typů rakoviny (101).

### **3.4.3 Vyzbrojení onkolytických virů cytokiny/chemokiny**

Cytokiny jsou velkou skupinou rozpustných proteinů, peptidů a glykoproteinů, které řídí proliferaci, diferenciaci, přežívání a efektorové funkce, čímž regulují imunitní systém. Velkou podrodinou cytokinů jsou chemokiny, které působí jako chemoatraktanty pro buňky imunitního systému.

V klinické praxi podávání vysokých dávek cytokinů či chemokinů působí toxicky. Avšak jejich exprimace onkolytickými viry je mnohem bezpečnější, jelikož virovou nálož i koncentraci cytokinů lze kontrolovat lokální injekcí.

Navzdory účinnosti OV vyzbrojených cytokiny, je jejich použití stále velmi omezené. Omezení spočívá v tom, že je velmi obtížné vyvážit protivirovou a protinádorovou odpověď a může nastat situace, kdy cytokiny aktivují IS a namíří ho proti onkolytickému viru. Proto k určení, které cytokiny přitahují větší pozornost, a které jsou bezpečnější k použití, budou nutné ještě další studie a pokusy (102).

### **3.4.4 Vyzbrojení onkolytických virů specifickými molekulami zapojující T – buňky**

Onkolytické viry se dají vyzbrojit i bispecifickými a trispecifickými T – buněčnými aktivátory (BiTE; TriTE).

BiTE jsou rekombinantní proteinové aktivátory, složené ze dvou jednořetězcových variabilních fragmentů (scFv), které rozpoznávají různé proteiny. Jeden scFv se váže na receptor T – lymfocytů a druhý se váže na antigen nádorových buněk. Samotné BiTE v plazmě

mají extrémně krátký poločas rozpadu. Při začlenění do OV se tento nedostatek odstraňuje a BiTE jsou dlouhodobě exprimovány replikujícími se OV. V proběhlých studiích na myších modelech odhalily, že onkolytické viry obsahující BiTE zvyšují onkolýzu a aktivují cytotoxické T – lymfocyty (103).

TriTE, trispecifické T – buněčné aktivátory, jsou další generací T – buněčných konstruktů, které se skládají ze tří domén, duálního antigenu, který snižuje náchylnost k imunitnímu úniku ztrátou antigenu a zlepšuje selektivitu vůči nádorům a CD znaků, které aktivují buňky imunitního systému (104).

### **3.5 Výhody herpes virů**

Jak už bylo řečeno výše, výhodou herpes viru je velký genom, který lze snadno modifikovat a upravovat. Další výhodou je potenciál pro začlenění velkého množství cizorodé DNA. Toho se využívá při výrobě transgenních vyzbrojených onkolytických virů. Taktéž málokdy integrují do buněčné DNA, což znamená, že riziko vnesení inzertní mutace během onkoterapie je minimální.

HSV na rozdíl od mnoha jiných virů, které se váží pouze na jeden receptor, má čtyři buněčné receptory a široký hostitelský rozsah, který mu umožňuje infikovat téměř všechny buněčné linie. Díky tomu lze využít OV odvozené od herpes viru u různých typů nádorů a taktéž tato vlastnost brání rychlému rozvoji rezistence vůči viroterapii využívající HSV. Taktéž působí rychleji a účinněji. Například ve srovnání s adenoviry, které dokáží vytvořit viditelné plaky na kultivovaných buňkách za sedm až devět dní, HSV tohle zvládne pouze za dva dny.

Herpes viry dokáží infikovat replikující i nereplikující buňky, jako jsou například neuronální buňky. Tato vlastnost umožňuje léčbu mozkových nádorů, jako jsou glioblastomy. A pokud jde o nežádoucí infekci či toxicitu, lze jí zabránit a kontrolovat pomocí účinných antiherpetických látek, jako jsou například acyklovir a famciklovir. HSV taktéž infikují řadu zvířat, jako jsou myši, morčata a opice, u kterých herpes viry působí podobně jako u lidí, čímž se zjednodušuje jejich předklinická studie (51).

### 3.6 Onkolytické viry odvozené od herpes virů

Tabulka 2: Onkolytické viry odvozené od herpes viru, převzato a upraveno z (59).

Kmen	Modifikace	Cíl
Talimogene laherparepvec	Delece <i>ICP34.5</i>	redukce neurovirulence
	Delece <i>ICP47</i>	zvýšení imunitní odpovědi
	Vložení genu <i>GM – CSF</i>	zvýšení imunitní odpovědi
HF10	Delece ve fragmentu Bam HI – B	neznámé
	Redukce exprese <i>UL43</i> , <i>UL55</i> , <i>LAT</i>	pravděpodobný vliv na imunogenicitu ( <i>UL43</i> ), snížená reaktivace viru ( <i>LAT</i> )
	Zvýšení exprese <i>UL53</i> a <i>UL54</i>	redukce vylučování viru
G207	Vložení sekvence <i>lacZ Escherichia coli</i> do <i>ICP6/UL39</i>	redukce aktivity ribonukleotidreduktázy
	Delece $\gamma 34.5/RL1$	redukce neurovirulence
1716	Delece $\gamma 34.5/RL1$	redukce neurovirulence
NV1020	Delece jedné alely $\alpha 0$ , $\alpha 4$ , $\gamma 34.5$ and <i>UL56</i>	redukce infekčnosti, virové replikace a neuroinvazivity

#### 3.6.1 Talimogene laherparepvec

Zkráceně T – VEC je geneticky upravený virus, který byl vyvinut americkou společností Amgen Inc. Vzniká delecí  $\gamma 34.5$  a *ICP47* a vložení genu pro *GM – CSF*, čímž se stává více imunogenní (120).

První klinická studie byla provedena u pacientů s kožními a subkožními adenokarcinomy prsu, gastrointestinálního adenokarcinomu, maligního melanomu a epiteliálního karcinomu hlavy a krku. Cílem této studie bylo stanovit adekvátní dávku onkolytického viru, bezpečnost a biologickou aktivitu (121). Jiná studie se zase zabývala klinickou odpovědí pacientů s neoperovatelným melanomem ve třetím stádiu.

Hlavními nežádoucími účinky, které byly zaznamenány, byla pyrexie, nízký stupeň anorexie, nevolnost, zvracení, bolest hlavy, zimnice, únava a reakce v místě vpichu.



Histologický rozbor prokázal nekrotické oblasti a pozitivní barvení na herpes viry, které se vyskytovaly především v nekrotické nádorové tkáni. Ke stabilizaci onemocnění došlo u tří pacientů a v některých případech bylo prokázáno i zmenšení cílového nádoru (119).

Talimogene laherparepvec dobře funguje při kombinaci s inhibitory imunitních kontrolních bodů. Kombinovaná léčba T – VEC s monoklonální protilátkou ipilimumab, která blokuje CTLA – 4 způsobila zmenšení velikosti nádorových lézí a zvýšil se počet aktivovaných CD8 a CD4 T – lymfocytů (59).

### **3.6.2 HF10**

Jedná se o jediný onkolytický HSV, který vznikl spontánně delecí fragmentu Bam HI – B a dalšími změnami, které vedou k snížené expresi *UL43*, *UL49.5*, *UL55*, *UL56*, *LAT* a zvýšené expresi *UL53* a *UL54* (123).

Pro posouzení toxicity a účinnosti u pacientů s metastazujícím karcinomem prsu a kožními metastázemi, bylo u každého pacienta podáván po dobu tří dnů HF10 do jedné uzliny a do druhé fyziologický roztok. Výsledkem bylo 30–100 % odumření nádorových buněk. Nežádoucí účinky, vylučování či reaktivace viru zaznamenány nebyly (124).

U pacientů s karcinomem pankreatu byl HF10 podáván intratumorálně a prostřednictvím katetru. Po třiceti dnech po zavedení viru se u pacientů nevyskytovaly žádné vedlejší účinky. Infikované nádorové buňky, oproti normální nádorové tkáni, vykazovaly zvýšenou infiltraci T – pomocných buněk a makrofágů (125).

### **3.6.3 G207**

Tato oslabená varianta HSV – 1 obsahuje inzerci sekvence *lacZ* bakterie *Escherichia coli* do genu ICP6 a delecí v obou lokusech  $\gamma$ 34.5, čímž se zamezuje růst viru a snižuje se neurovirulence (114; 118). Delecí ribonukleotidreduktázy, která kóduje gen ICP6, se umožní selektivní replikace viru v dělících se rakovinových buňkách.

Testování bezpečnosti probíhalo v několika studiích u recidivujících a reziduálních anaplastických astrocytomů, glioblastomů a gliosarkomů. Inokulované G207 se podávalo intratumorálně ve stupňujících se dávkách. Výsledky prokázaly bezpečnost podání bez vzniku encefalitidy, jiné nežádoucí účinky splývaly s příznaky onemocnění, proto je bylo obtížné určit.

V pozdějších studiích se testovala kombinace G207 s ozařováním, kdy pacientům byla podána dávka OV a následně byli ozářeni dávkou 5 Gy [Gray]. Encefalitida se ani v tomto případě nevyskytla, avšak u několika pacientů došlo k záchvatům, které byly považovány za vedlejší účinek G207. Celkově byla tato kombinace považována za bezpečnou.

Medián přežití bez progresu onemocnění byl stanoven na dva a půl měsíce a medián přežití od inokulace G207 činil až sedm a půl měsíce (119).

### **3.6.4 HSV – 1716**

Tento onkolytický vir vznikl z HSV delecí obou kopií  $\gamma 34.5/RL1$ , čímž se zmírňuje neurovirulence (114). První testy sledovaly míru toxicity, kdy HSV – 1716 byl aplikován pacientům a recidivujícím anaplastickým astrocytem a glioblastomem. Výsledky byly přívětivé a prokázalo se, že podání je bezpečné a nedošlo k encefalitidě ani vylučování viru (115).

Další studie byla provedena stejným způsobem na zhoubném melanomu, kdy byl HSV – 1716 aplikován subkutánně do uzlin melanomu. Opět nebyla upozorována toxicita ani vylučování viru. U tří pacientů po provedení histologického vyšetření byla prokázána nekróza nádorové tkáně (116). Tento OV byl intravenózně aplikován i dětem a mladým dospělým s recidivujícími nebo progredujícími solidními nádory, i v tomto případě nebyla pozorována toxicita ani vylučování viru.

Navzdory vcelku pozitivních výsledků, závěry ohledně účinnosti této varianty ještě učinit nelze, z důvodu malého počtu testovaných pacientů (117).

### **3.6.5 NV1020**

Tento derivát kmene HSV – 1 byl původně vyvinut jako vakcína proti HSV – 2. Vznikl delecí jedné alely genů pro ICP0, ICP4,  $\gamma 34.5$  a UL56, díky čemuž se dosáhlo menší infekčnosti, snížení replikace viru a neuroinvasivity. U tohoto derivátu byl taktéž odstraněn gen pro thymidinkinázu a naopak vložen fragment DNA HSV – 2 a genu thymidinkinázy (122).

Poprvé v klinické praxi byl použit u jaterních metastáz kolorektálního karcinomu za účelem zjistit bezpečnost a snášenlivost. Pacienti dostali dávku NV1020 pomocí jaterní arteriální infuze, poté se jim implantovala jaterní arteriální pumpa pro lokální podání chemoterapie.

Nežádoucí účinky, jako například vysoká horečka, bolest hlavy a svalová ztuhlost, se projeví bezprostředně po podání onkolytického viru. Taktéž byly zaznamenány zvýšené hladiny *gama* – glutamyltransferázy, gastroenteritidy a zvýšený počet bílých krvinek.

### **3.7 Kombinace onkolytických virů s klasickou léčbou**

Vzhledem k různým možnostem úprav OV, stále vykazují omezenou účinnost, proto se při studiích přistoupilo ke kombinacím s imunoterapeutiky, čímž se dosáhlo zvýšených terapeutických odpovědí (54).

#### **3.7.1 Inhibitory kontrolních bodů imunity vs onkolytické viry**

Jedná se o nejčastější strategii zvýšení účinnosti onkolytických virů. Cílem této kombinace je změnit příznivost imunosupresivního prostředí nádoru pro inhibitory kontrolních bodů imunity. Infekcí OV se spouští protinádorová odpověď, čímž dochází ke zvýšení účinnosti inhibitorů kontrolních bodů imunity, které ruší interakci ligand – receptor nádorových buněk a dochází k aktivaci T – lymfocytů (54).

#### **3.7.2 Chemoterapie vs onkolytické viry**

Alternativní cesta terapie je kombinace onkolytických virů s chemoterapií, což umožňuje OV se vyhnout antivirové imunitní odpovědi. Příkladem chemoterapeutické látky, která při kombinaci s oHSV vyvolává apoptózu nádorových buněk a ovlivňuje humorální a buněčné mediátory vrozené i adaptivní imunitní odpovědi, je cyklofosfamid (CPA). Temozolomid, lék používaný při léčbě multiformního glioblastomu, účinky oHSV ovlivňuje negativně (102; 126).

Pro správnou účinnost léčby je nutné udržet správný poměr podávané chemoterapie a onkolytických virů. Chemoterapie může léčbu OV posílit zabráněním jejich eliminace imunitním systémem, avšak ji může také ovlivnit negativně a snížit její účinnost. Nízké dávky CPA odstraňují imunosupresivní buňky, čímž zlepšují protinádorovou obranu vyvolanou vakcínou a taktéž podporují protivirovou odpověď, což má za důsledek rychlé odstranění viru (102). Vysoké dávky zvyšují virovou onkolytickou kapacitu a také ruší protinádorovou imunitní odpověď (127).

### **3.7.3 Radioterapie vs onkolytické viry**

Onkolytické viry lze použít při kombinaci s radioterapií jako radiosenzibilizátory, kdy NIS (sodnojodidový transporter), vnitřní protein plazmatické membrány, řídí buněčné vychytávání radionuklidů (102).

### **3.8 Biologická bezpečnost onkolytických virů**

Terapie OV prokázala, že pro léčbu pacientů s rakovinou je bezpečná, avšak některé otázky biologické bezpečnosti stále představují problém pro léčebnou strategii. Jde především o nežádoucí účinky, které se projeví jako mírné chřipky, bolesti břicha, vyrážka, periferní edém a erytém. Některé příznaky vymizely po několika dnech samy, nebo po podání nesteroidních protizánětlivých léků. Další nežádoucí účinky, které se běžně vyskytují, je snížený počet leukocytů a lymfocytů, porucha funkce jater, anémie a další. Zřídka se stalo, že by terapie OV způsobila vážné poškození pacientova zdraví nebo ohrozila jeho život.

Dalším nedostatkem je přenos a vylučování viru během léčby, kdy mohou být onkolytické viry přeneseny na osoby v blízkém kontaktu s pacientem, jako je rodina pacienta, či zdravotnický personál, který přichází do kontaktu s tělními tekutinami pacienta.

Způsob podání je taktéž otázkou biologické bezpečnosti, proto se OV aplikují ve velmi nízkých dávkách a je kladen důraz na dodržování bezpečnostních norem (54).

### **3.9 Shrnutí onkolytické viroterapie**

Tato forma léčby rakoviny je vcelku nová a mezi hlavní výzvy, které brání jejímu úspěchu, je omezená replikace viru a jeho šíření v prostředí nádoru, nedostatečná doba přežívání v organismu a nízká terapeutická účinnost jako samostatná terapie (102).

## ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo popsat onemocnění rakovinou, herpes viry a jejich využití pro léčbu malignit.

V první kapitole byla popsána rakovina. Nejdříve byla zmíněna vůbec první zmínka o rakovině z papýru Edwina Smithe, vznik názvu „rakovina“, kterému dal vznik Hippokrates na základě podobnosti léze s krabem a vznik názvu „sarkom“, který zavedl Galén. Poté byly podrobně popsány základní charakteristiky a vlastnosti rakoviny a její původ. Na závěr první kapitoly byla popsána schopnost rakoviny unikat imunitnímu systému.

Ve druhé kapitole byl prostor věnován popisu herpes viru, jejich taxonomickému zařazení a struktuře. Byl zmíněn mechanismus infekce buněk hostitele. Nakonec byla popsána vynalézavost herpes virů a jejich mechanismy inhibice imunitních buněk či drah aktivace imunitního systému.

Ve třetí kapitole byla popsána léčba rakoviny, nejdříve z historického hlediska, kde byly zmíněny, pro dnešní dobu až absurdní léčebné metody. Poté byla popsána léčba onkolytickými viry, mechanismus a působení virů na nádor. Byly vypsány jednotlivé deriváty herpes viru používané k léčbě a jejich první studie. Taktéž bylo zmíněno, že onkolytické viry je možné kombinovat s klasickými formami léčby rakoviny, jako je chemoterapie a radioterapie. Na závěr byla shrnuta biologická bezpečnost a celková viroterapie.

## POUŽITÁ LITERATURA

1. HANAHAN, Douglas a Robert A. WEINBERG. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* [online]. 2011, **144**(5), 646-674 [cit. 2022-12-30]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2011.02.013
2. YIN, Wen, Jialing WANG, Linling JIANG a Y JAMES KANG. Cancer and stem cells. *Experimental Biology and Medicine* [online]. 2021, **246**(16), 1791-1801 [cit. 2022-12-30]. ISSN 1535-3702. Dostupné z: doi:10.1177/15353702211005390
3. Interní hematologická a onkologická klinika: Slovníček pojmů. *www.fnbrno.cz* [online]. Brno [cit. 2023-06-08]. Dostupné z: 3. <https://www.fnbrno.cz/areal-bohunice/interni-hematologicka-a-onkologicka-klinika/slovnicek-pojmu/t1278>
4. YIN, Jie, Wenkai REN, Xingguo HUANG, Jinping DENG, Tiejun LI a Yulong YIN. Potential Mechanisms Connecting Purine Metabolism and Cancer Therapy. *Frontiers in Immunology* [online]. 2018, **9** [cit. 2022-12-30]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2018.01697
5. ROIZMAN, SCD, MD Bernard a Dr Richard J WHITLEY. Herpes simplex virus infections. *The Lancet* [online]. 2001, (357), 1513-1518 [cit. 2023-01-06]. Dostupné z: doi:[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)04638-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)04638-9)
6. WIDENER, REBECCA W. a RICHARD J. WHITLEY. Herpes simplex virus. *Handbook of Clinical Neurology: Neurovirology* [online]. 2014, (123), 251-263 [cit. 2023-01-06]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53488-0.00011-0>
7. ARYAL, Sagar. Herpes simplex virus. *Microbe notes* [online]. 2022 [cit. 2023-01-06]. Dostupné z: <https://microbenotes.com/herpes-simplex-virus-1-hsv-1/>
8. ZHU, Shuyong a Abel VIEJO-BORBOLLA. Pathogenesis and virulence of herpes simplex virus. *Virulence* [online]. 2021, **12**(1), 2670-2702 [cit. 2023-01-07]. ISSN 2150-5594. Dostupné z: doi:10.1080/21505594.2021.1982373
9. YIN, Wen, Jialing WANG, Linling JIANG a Y JAMES KANG. Cancer and stem cells. *Experimental Biology and Medicine* [online]. 2021, **246**(16), 1791-1801 [cit. 2023-02-17]. ISSN 1535-3702. Dostupné z: doi:10.1177/15353702211005390 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8381702/>
10. SAMII, Amir a Farnaz RAZMKHAH. Transformation of Hematopoietic Stem and Progenitor Cells by Leukemia Extracellular Vesicles: A Step Toward Leukemogenesis. *Stem Cell Reviews and Reports* [online]. 2020, **16**(6), 1081-1091 [cit. 2023-02-17].

ISSN 2629-3269. Dostupné z: doi:10.1007/s12015-020-09975-8 <https://scihub.ru/10.1007/s12015-020-09975-8>

11. HAJDU, Steven I. A note from history: Landmarks in history of cancer, part 1. *Cancer* [online]. 2011, **117**(5), 1097-1102 [cit. 2023-03-17]. ISSN 0008543X. Dostupné z: doi:10.1002/cncr.25553 <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.25553>
12. HAJDU, Steven I. A note from history: Landmarks in history of cancer, part 2. *Cancer* [online]. 2011, **117**(12), 2811-2820 [cit. 2023-03-17]. ISSN 0008543X. Dostupné z: doi:10.1002/cncr.25825 <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.25825>
13. DEVITA, Vincent T. a Edward CHU. A History of Cancer Chemotherapy. *Cancer Research* [online]. 2008, **68**(21), 8643-8653 [cit. 2023-04-20]. ISSN 0008-5472. Dostupné z: doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-6611
14. CONNOLLY, Sarah A., Theodore S. JARDETZKY a Richard LONGNECKER. The structural basis of herpesvirus entry. *Nature Reviews Microbiology* [online]. 2021, **19**(2), 110-121 [cit. 2023-05-02]. ISSN 1740-1526. Dostupné z: doi:10.1038/s41579-020-00448-w <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8579738/>
15. SANCHALA, Dhaval S., Lokesh K. BHATT a Kedar S. PRABHAVALKAR. Oncolytic Herpes Simplex Viral Therapy: A Stride toward Selective Targeting of Cancer Cells. *Frontiers in Pharmacology* [online]. 2017, **8** [cit. 2023-05-02]. ISSN 1663-9812. Dostupné z: doi:10.3389/fphar.2017.00270 [https://www.frontiersin.org.translate.google/articles/10.3389/fphar.2017.00270/full?\\_x\\_tr\\_sl=auto&\\_x\\_tr\\_tl=cs&\\_x\\_tr\\_hl=cs](https://www.frontiersin.org.translate.google/articles/10.3389/fphar.2017.00270/full?_x_tr_sl=auto&_x_tr_tl=cs&_x_tr_hl=cs)
16. AKIRA, Shizuo, Satoshi UEMATSU a Osamu TAKEUCHI. Pathogen Recognition and Innate Immunity. *Cell* [online]. 2006, **124**(4), 783-801 [cit. 2023-05-03]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2006.02.015
17. PALUDAN, Søren R., Andrew G. BOWIE, Kristy A. HORAN a Katherine A. FITZGERALD. Recognition of herpesviruses by the innate immune system. *Nature Reviews Immunology* [online]. 2011, **11**(2), 143-154 [cit. 2023-05-03]. ISSN 1474-1733. Dostupné z: doi:10.1038/nri2937
18. VERJANS, Georges M. G. M., Rogier Q. HINTZEN, Jessica M. VAN DUN, et al. Selective retention of herpes simplex virus-specific T cells in latently infected human trigeminal ganglia. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2007,

- 104**(9), 3496-3501 [cit. 2023-05-03]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0610847104
19. HUANG, Jian, Hongjuan YOU, Chenhe SU, Yangxin LI, Shunhua CHEN, Chunfu ZHENG a Rozanne M. SANDRI-GOLDIN. Herpes Simplex Virus 1 Tegument Protein VP22 Abrogates cGAS/STING-Mediated Antiviral Innate Immunity. *Journal of Virology* [online]. 2018, **92**(15), e00841-18 [cit. 2023-05-03]. ISSN 0022-538X. Dostupné z: doi:10.1128/JVI.00841-18
20. ZHAO, Jun, Yi ZENG, Simin XU, et al. A Viral Deamidase Targets the Helicase Domain of RIG-I to Block RNA-Induced Activation. *Cell Host & Microbe* [online]. 2016, **20**(6), 770-784 [cit. 2023-05-03]. ISSN 19313128. Dostupné z: doi:10.1016/j.chom.2016.10.011
21. BOSNJAK, Lidija, Cheryl A. JONES, Allison ABENDROTH a Anthony L. CUNNINGHAM. Dendritic Cell Biology in Herpesvirus Infections. *Viral Immunology* [online]. 2005, **18**(3), 419-433 [cit. 2023-05-03]. ISSN 0882-8245. Dostupné z: doi:10.1089/vim.2005.18.419
22. GOBEIL, Philippe A. M., David A. LEIB a Terence S. DERMODY. Herpes Simplex Virus  $\gamma$ 34.5 Interferes with Autophagosome Maturation and Antigen Presentation in Dendritic Cells. *MBio* [online]. 2012, **3**(5), e00267-12 [cit. 2023-05-03]. ISSN 2161-2129. Dostupné z: doi:10.1128/mBio.00267-12
23. MARTINEZ-MARTIN, Nadia, Abel VIEJO-BORBOLLA, Rocío MARTÍN, Soledad BLANCO, Jeffrey L. BENOVIC, Marcus THELEN a Antonio ALCAMÍ. Herpes simplex virus enhances chemokine function through modulation of receptor trafficking and oligomerization. *Nature Communications* [online]. 2015, **6**(1) [cit. 2023-05-03]. ISSN 2041-1723. Dostupné z: doi:10.1038/ncomms7163
24. SLOAN, Derek D., Jin-Young HAN, Tracy K. SANDIFER, et al. Inhibition of TCR Signaling by Herpes Simplex Virus. *The Journal of Immunology* [online]. 2006, **176**(3), 1825-1833 [cit. 2023-05-03]. ISSN 0022-1767. Dostupné z: doi:10.4049/jimmunol.176.3.1825
25. LUBINSKI, John M., Ming JIANG, Lauren HOOK, et al. Herpes Simplex Virus Type 1 Evades the Effects of Antibody and Complement In Vivo. *Journal of Virology* [online]. 2002, **76**(18), 9232-9241 [cit. 2023-05-03]. ISSN 0022-538X. Dostupné z: doi:10.1128/JVI.76.18.9232-9241.2002



26. WANG, Kezhen, Liwen NI, Shuai WANG, Chunfu ZHENG a L. HUTT-FLETCHER. Herpes Simplex Virus 1 Protein Kinase US3 Hyperphosphorylates p65/RelA and Dampens NF- $\kappa$ B Activation. *Journal of Virology* [online]. 2014, **88**(14), 7941-7951 [cit. 2023-05-04]. ISSN 0022-538X. Dostupné z: doi:10.1128/JVI.03394-13
27. KUMAR, Vinay, Abdul K. ABBAS a John C. ASTER. *Robbins Basic Pathology E-Book* [online]. **10**. Elsevier Health Sciences, 2017 [cit. 2023-05-04]. ISBN 0323394132, 9780323394130. Dostupné z: [https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=YYZMDgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=APA.+Kumar,+V.,+Abbas,+A.+K.,+%26+Aster,+J.+C.+\(2017\).+Robbins+Basic+Pathology+\(10th+ed.\).+Elsevier+-+Health+Sciences+Division+NECITLIVOST+K+SIGN%C3%81L%C5%AEM+INHIBUJ%C3%8DC%C3%8DM+R%C5%AESTTranskripce+tumor+supresorov%C3%BDch+gen%C5%AF+\(%EF%81%BE30,+RB,+APC,+p53+nebo+BRCA1,2..\)je+aktivov%C3%A1n&ots=YjAnH8nZuC&sig=1AD649L15WgZY1w3byR7sN9IpuA&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=YYZMDgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=APA.+Kumar,+V.,+Abbas,+A.+K.,+%26+Aster,+J.+C.+(2017).+Robbins+Basic+Pathology+(10th+ed.).+Elsevier+-+Health+Sciences+Division+NECITLIVOST+K+SIGN%C3%81L%C5%AEM+INHIBUJ%C3%8DC%C3%8DM+R%C5%AESTTranskripce+tumor+supresorov%C3%BDch+gen%C5%AF+(%EF%81%BE30,+RB,+APC,+p53+nebo+BRCA1,2..)je+aktivov%C3%A1n&ots=YjAnH8nZuC&sig=1AD649L15WgZY1w3byR7sN9IpuA&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)
28. DETMAR, Michael. Tumor Angiogenesis. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings* [online]. 2000, **5**(1), 20-23 [cit. 2023-05-04]. ISSN 10870024. Dostupné z: doi:10.1046/j.1087-0024.2000.00003.x
29. HANAHAN, Douglas a Robert A. WEINBERG. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* [online]. 2011, **144**(5), 646-674 [cit. 2023-05-06]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2011.02.013
30. Breasted JH. *The Edwin Smith Surgical Papyrus*, University of Chicago Press; 1930.
31. Ebbell B. *The Papyrus Ebers*. Copenhagen: Levin and Munksgaard; 1937
32. Castiglioni A. *Histoire de la Medecine*. Paris: Payot; 1931
33. HAJDU, Steven I. Greco-Roman thought about cancer. *Cancer* [online]. 2004, **100**(10), 2048-2051 [cit. 2023-06-08]. ISSN 0008-543X. Dostupné z: doi:10.1002/cncr.20198
34. Wolff J. *Die Lehre von der Krebskrankheit von den ältesten Zeiten bis zur Gegenwart*. Jena: G. Fischer; 1907- 1928.
35. Fell JW. *Treatise on Cancer and Its Treatment*. London: J. Churchill; 1857.
36. BROWN, L. F., M. DETMAR, K. CLAFFEY, J. A. NAGY, D. FENG, A. M. DVORAK a H. F. DVORAK. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: A multifunctional angiogenic cytokine. In: GOLDBERG, Itzhak D. a Eliot M. ROSEN, ed. *Regulation of Angiogenesis* [online]. Basel: Birkhäuser Basel, 1996, 1997, 233-269 [cit. 2023-06-08]. Experientia Supplementum. ISBN 978-3-0348-9864-5. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-0348-9006-9\_10
37. SENGER, Donald R., Stephen J. GALLI, Ann M. DVORAK, Carole A. PERRUZZI, V. Susan HARVEY a Harold F. DVORAK. Tumor Cells Secrete a Vascular

- Permeability Factor That Promotes Accumulation of Ascites Fluid. *Science* [online]. 1983, **219**(4587), 983-985 [cit. 2023-06-08]. ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.6823562
38. HOUCK, Keith A., Napoleone FERRARA, Jane WINER, George CACHIANES, Bing LI a David W. LEUNG. The Vascular Endothelial Growth Factor Family: Identification of a Fourth Molecular Species and Characterization of Alternative Splicing of RNA. *Molecular Endocrinology* [online]. 1991, **5**(12), 1806-1814 [cit. 2023-06-08]. ISSN 0888-8809. Dostupné z: doi:10.1210/mend-5-12-1806
39. DETMAR, M, L F BROWN, K P CLAFFEY, K T YEO, O KOCHER, R W JACKMAN, B BERSE a H F DVORAK. Overexpression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor and its receptors in psoriasis. *Journal of Experimental Medicine* [online]. 1994, **180**(3), 1141-1146 [cit. 2023-06-08]. ISSN 0022-1007. Dostupné z: doi:10.1084/jem.180.3.1141
40. DETMAR, Michael, Lawrence F. BROWN, Brygida BERSE, Robert W. JACKMAN, Brett M. ELICKER, Harold F. DVORAK a Kevin P. CLAFFEY. Hypoxia Regulates the Expression of Vascular Permeability Factor/Vascular Endothelial Growth Factor (VPF/VEGF) and its Receptors in Human Skin. *Journal of Investigative Dermatology* [online]. 1997, **108**(3), 263-268 [cit. 2023-06-08]. ISSN 0022202X. Dostupné z: doi:10.1111/1523-1747.ep12286453
41. GRUGEL, Stefan, Günter FINKENZELLER, Karin WEINDEL, Bernhard BARLEON a Dieter MARMÉ. Both v-Ha-Ras and v-Raf Stimulate Expression of the Vascular Endothelial Growth Factor in NIH 3T3 Cells. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 1995, **270**(43), 25915-25919 [cit. 2023-06-08]. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.270.43.25915
42. WEINTRAUB, Steven J., Cheryl A. PRATER a Douglas C. DEAN. Retinoblastoma protein switches the E2F site from positive to negative element. *Nature* [online]. 1992, **358**(6383), 259-261 [cit. 2023-06-08]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/358259a0
43. FISCHER, Martin a Gerd A. MÜLLER. Cell cycle transcription control: DREAM/MuvB and RB-E2F complexes. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* [online]. 2017, **52**(6), 638-662 [cit. 2023-06-08]. ISSN 1040-9238. Dostupné z: doi:10.1080/10409238.2017.1360836

44. CHICAS, Agustin, Xiaowo WANG, Chaolin ZHANG, et al. Dissecting the Unique Role of the Retinoblastoma Tumor Suppressor during Cellular Senescence. *Cancer Cell* [online]. 2010, **17**(4), 376-387 [cit. 2023-06-08]. ISSN 15356108. Dostupné z: doi:10.1016/j.ccr.2010.01.023
45. DYSON, Nicholas J. RB1: a prototype tumor suppressor and an enigma. *Genes & Development* [online]. 2016, **30**(13), 1492-1502 [cit. 2023-06-08]. ISSN 0890-9369. Dostupné z: doi:10.1101/gad.282145.116
46. FRIEND, Stephen H., Rene BERNARDS, Snezna ROGELJ, Robert A. WEINBERG, Joyce M. RAPAPORT, Daniel M. ALBERT a Thaddeus P. DRYJA. A human DNA segment with properties of the gene that predisposes to retinoblastoma and osteosarcoma. *Nature* [online]. 1986, **323**(6089), 643-646 [cit. 2023-06-08]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/323643a0
47. BURKHART, Deborah L. a Julien SAGE. Cellular mechanisms of tumour suppression by the retinoblastoma gene. *Nature Reviews Cancer* [online]. 2008, **8**(9), 671-682 [cit. 2023-06-08]. ISSN 1474-175X. Dostupné z: doi:10.1038/nrc2399
48. LEVINE, Arnold J. a Moshe OREN. The first 30 years of p53: growing ever more complex. *Nature Reviews Cancer* [online]. 2009, **9**(10), 749-758 [cit. 2023-06-08]. ISSN 1474-175X. Dostupné z: doi:10.1038/nrc2723
49. BLATTNER, Christine. Regulation of p53: The next generation. *Cell Cycle* [online]. 2014, **7**(20), 3149-3153 [cit. 2023-06-08]. ISSN 1538-4101. Dostupné z: doi:10.4161/cc.7.20.6921
50. NAKANO, Katsunori a Karen H VOUSDEN. PUMA, a Novel Proapoptotic Gene, Is Induced by p53. *Molecular Cell* [online]. 2001, **7**(3), 683-694 [cit. 2023-06-08]. ISSN 10972765. Dostupné z: doi:10.1016/S1097-2765(01)00214-3
51. WATANABE, Daisuke a Fumi GOSHIMA. Oncolytic Virotherapy by HSV. In: KAWAGUCHI, Yasushi, Yasuko MORI a Hiroshi KIMURA, ed. *Human Herpesviruses* [online]. Singapore: Springer Singapore. 2018, 63-84 [cit. 2023-05-14]. Advances in Experimental Medicine and Biology. ISBN 978-981-10-7229-1. Dostupné z: doi:10.1007/978-981-10-7230-7\_4
52. LAWLER, Sean E., Maria-Carmela SPERANZA, Choi-Fong CHO a E. Antonio CHIOCCA. Oncolytic Viruses in Cancer Treatment. *JAMA Oncology* [online]. 2017, **3**(6) [cit. 2023-05-25]. ISSN 2374-2437. Dostupné z: doi:10.1001/jamaoncol.2016.2064

53. ROSEWELL SHAW, Amanda a Masataka SUZUKI. Oncolytic Viruses Partner With T-Cell Therapy for Solid Tumor Treatment. *Frontiers in Immunology* [online]. 2018, **9** [cit. 2023-05-25]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2018.02103
54. SANTOS APOLONIO, Jonathan, Vinícius LIMA DE SOUZA GONÇALVES, Maria Luísa CORDEIRO SANTOS, et al. Oncolytic virus therapy in cancer: A current review. *World Journal of Virology* [online]. 2021, **10**(5), 229-255 [cit. 2023-05-17]. ISSN 2220-3249. Dostupné z: doi:10.5501/wjv.v10.i5.229
55. LI, Lizhi, Shixin LIU, Duoduo HAN, Bin TANG a Jian MA. Delivery and Biosafety of Oncolytic Virotherapy. *Frontiers in Oncology* [online]. 2020, **10** [cit. 2023-05-25]. ISSN 2234-943X. Dostupné z: doi:10.3389/fonc.2020.00475
56. MA, Wenqing, Hongbin HE a Hongmei WANG. Oncolytic herpes simplex virus and immunotherapy. *BMC Immunology* [online]. 2018, **19**(1) [cit. 2023-06-04]. ISSN 1471-2172. Dostupné z: doi:10.1186/s12865-018-0281-9
57. MENOTTI, Laura a Elisa AVITABILE. Herpes Simplex Virus Oncolytic Immunovirotherapy: The Blossoming Branch of Multimodal Therapy. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2020, **21**(21) [cit. 2023-06-04]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms21218310
58. MONDAL, Moumita, Jingao GUO, Ping HE a Dongming ZHOU. Recent advances of oncolytic virus in cancer therapy. *Human Vaccines & Immunotherapeutics* [online]. 2020, **16**(10), 2389-2402 [cit. 2023-06-04]. ISSN 2164-5515. Dostupné z: doi:10.1080/21645515.2020.1723363
59. KOCH, Marilin S., Sean E. LAWLER a E. Antonio CHIOCCA. HSV-1 Oncolytic Viruses from Bench to Bedside: An Overview of Current Clinical Trials. *Cancers* [online]. 2020, (12), 1-16 [cit. 2023-06-04]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7760226/pdf/cancers-12-03514.pdf>
60. DE LANGE, Titia. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes & Development* [online]. 2005, **19**(18), 2100-2110 [cit. 2023-06-11]. ISSN 0890-9369. Dostupné z: doi:10.1101/gad.1346005
61. GATHERER, Derek, Daniel P. DEPLEDGE, Carol A. HARTLEY, et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: Herpesviridae 2021. *Journal of General Virology* [online]. 2021, **102**(10) [cit. 2023-06-11]. ISSN 0022-1317. Dostupné z: doi:10.1099/jgv.0.001673
62. AKHTAR, Jihan a Deepak SHUKLA. Viral entry mechanisms: cellular and viral mediators of herpes simplex virus entry. *FEBS Journal* [online]. 2009, **276**(24), 7228-

- 7236 [cit. 2023-06-11]. ISSN 1742464X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1742-4658.2009.07402.x
63. CHUANG, Tsung-Hsien, Jongdae LEE, Lois KLINE, John C MATHISON a Richard J ULEVITCH. Toll-like receptor 9 mediates CpG-DNA signaling. *Journal of Leukocyte Biology* [online]. 2002, **71**(3), 538-544 [cit. 2023-06-11]. ISSN 0741-5400. Dostupné z: doi:10.1189/jlb.71.3.538
64. MIETTINEN, M, T SARENEVA, I JULKUNEN a S MATIKAINEN. IFNs activate toll-like receptor gene expression in viral infections. *Genes & Immunity* [online]. 2001, **2**(6), 349-355 [cit. 2023-06-11]. ISSN 1466-4879. Dostupné z: doi:10.1038/sj.gene.6363791
65. HELDWEIN, E. E. a C. KRUMMENACHER. Entry of herpesviruses into mammalian cells. *Cellular and Molecular Life Sciences* [online]. 2008, **65**(11), 1653-1668 [cit. 2023-06-11]. ISSN 1420-682X. Dostupné z: doi:10.1007/s00018-008-7570-z
66. HILTERBRAND, Adam T., Ekaterina E. HELDWEIN a Katherine R. SPINDLER. Go go gadget glycoprotein!: HSV-1 draws on its sizeable glycoprotein tool kit to customize its diverse entry routes. *PLOS Pathogens* [online]. 2019, **15**(5) [cit. 2023-06-11]. ISSN 1553-7374. Dostupné z: doi:10.1371/journal.ppat.1007660
67. AGGARWAL, Anupriya, Monica MIRANDA-SAKSENA, Ross A. BOADLE, Barbara J. KELLY, Russell J. DIEFENBACH, Waafiq ALAM a Anthony L. CUNNINGHAM. Ultrastructural Visualization of Individual Tegument Protein Dissociation during Entry of Herpes Simplex Virus 1 into Human and Rat Dorsal Root Ganglion Neurons. *Journal of Virology* [online]. 2012, **86**(11), 6123-6137 [cit. 2023-06-11]. ISSN 0022-538X. Dostupné z: doi:10.1128/JVI.07016-11
68. DÖHNER, Katinka, André WOLFSTEIN, Ute PRANK, Christophe ECHEVERRI, Denis DUJARDIN, Richard VALLEE, Beate SODEIK a Lawrence S. GOLDSTEIN. Function of Dynein and Dynactin in Herpes Simplex Virus Capsid Transport. *Molecular Biology of the Cell* [online]. 2002, **13**(8), 2795-2809 [cit. 2023-06-11]. ISSN 1059-1524. Dostupné z: doi:10.1091/mbc.01-07-0348
69. RADTKE, Kerstin, Daniela KIENEKE, André WOLFSTEIN, et al. Plus- and Minus-End Directed Microtubule Motors Bind Simultaneously to Herpes Simplex Virus Capsids Using Different Inner Tegument Structures. *PLoS Pathogens* [online]. 2010, **6**(7) [cit. 2023-06-11]. ISSN 1553-7374. Dostupné z: doi:10.1371/journal.ppat.1000991

70. SODEIK, Beate, Melanie W. EBERSOLD a Ari HELENIUS. Microtubule-mediated Transport of Incoming Herpes Simplex Virus 1 Capsids to the Nucleus. *Journal of Cell Biology* [online]. 1997, **136**(5), 1007-1021 [cit. 2023-06-11]. ISSN 0021-9525. Dostupné z: doi:10.1083/jcb.136.5.1007
71. WOLFSTEIN, André, Claus-Henning NAGEL, Kerstin RADTKE, Katinka DÖHNER, Victoria J. ALLAN a Beate SODEIK. The Inner Tegument Promotes Herpes Simplex Virus Capsid Motility Along Microtubules in vitro. *Traffic* [online]. 2006, **7**(2), 227-237 [cit. 2023-06-11]. ISSN 13989219. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0854.2005.00379.x
72. MUSARRAT, Farhana, Vladimir CHOULJENKO, Konstantin G. KOUSOULAS a Richard M. LONGNECKER. Cellular and Viral Determinants of Herpes Simplex Virus 1 Entry and Intracellular Transport toward the Nuclei of Infected Cells. *Journal of Virology* [online]. 2021, **95**(7), e02434-20 [cit. 2023-06-11]. ISSN 0022-538X. Dostupné z: doi:10.1128/JVI.02434-20
73. BRANDARIZ-NUÑEZ, Alberto, Ting LIU, Te DU a Alex EVILEVITCH. Pressure-driven release of viral genome into a host nucleus is a mechanism leading to herpes infection. *ELife* [online]. 2019, **8** [cit. 2023-06-11]. ISSN 2050-084X. Dostupné z: doi:10.7554/eLife.47212
74. WYSOCKA, Joanna a Winship HERR. The herpes simplex virus VP16-induced complex: the makings of a regulatory switch. *Trends in Biochemical Sciences* [online]. 2003, **28**(6), 294-304 [cit. 2023-06-11]. ISSN 09680004. Dostupné z: doi:10.1016/S0968-0004(03)00088-4
75. HEMING, Jason D., James F. CONWAY a Fred L. HOMA. Herpesvirus Capsid Assembly and DNA Packaging. In: OSTERRIEDER, Klaus, ed. *Cell Biology of Herpes Viruses* [online]. Cham: Springer International Publishing. 2017, 119-142 [cit. 2023-06-11]. Advances in Anatomy, Embryology and Cell Biology. ISBN 978-3-319-53167-0. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-53168-7\_6
76. DÖHNER, Katinka, Ana RAMOS-NASCIMENTO, Dagmara BIALY, et al. Importin  $\alpha$ 1 is required for nuclear import of herpes simplex virus proteins and capsid assembly in fibroblasts and neurons. *PLOS Pathogens* [online]. 2018, **14**(1) [cit. 2023-06-11]. ISSN 1553-7374. Dostupné z: doi:10.1371/journal.ppat.1006823
77. WU, Songfang, Shuang PAN, Liming ZHANG, et al. Herpes Simplex Virus 1 Induces Phosphorylation and Reorganization of Lamin A/C through the  $\gamma$  1 34.5 Protein That

- Facilitates Nuclear Egress. *Journal of Virology* [online]. 2016, **90**(22), 10414-10422 [cit. 2023-06-11]. ISSN 0022-538X. Dostupné z: doi:10.1128/JVI.01392-16
78. TURCOTTE, Sophie, Josée LETELLIER a Roger LIPPÉ. Herpes Simplex Virus Type 1 Capsids Transit by the trans -Golgi Network, Where Viral Glycoproteins Accumulate Independently of Capsid Egress. *Journal of Virology* [online]. 2005, **79**(14), 8847-8860 [cit. 2023-06-11]. ISSN 0022-538X. Dostupné z: doi:10.1128/JVI.79.14.8847-8860.2005
79. HOLLINSHEAD, Michael, Helen L JOHNS, Charlotte L SAYERS, Claudia GONZALEZ-LOPEZ, Geoffrey L SMITH a Gillian ELLIOTT. Endocytic tubules regulated by Rab GTPases 5 and 11 are used for envelopment of herpes simplex virus. *The EMBO Journal* [online]. 2012, **31**(21), 4204-4220 [cit. 2023-06-11]. ISSN 02614189. Dostupné z: doi:10.1038/emboj.2012.262
80. MIRANDA-SAKSENA, Monica, Ross A. BOADLE, Patricia ARMATI a Anthony L. CUNNINGHAM. In Rat Dorsal Root Ganglion Neurons, Herpes Simplex Virus Type 1 Tegument Forms in the Cytoplasm of the Cell Body. *Journal of Virology* [online]. 2002, **76**(19), 9934-9951 [cit. 2023-06-11]. ISSN 0022-538X. Dostupné z: doi:10.1128/JVI.76.19.9934-9951.2002
81. LAMBERT, Arthur W., Diwakar R. PATTABIRAMAN a Robert A. WEINBERG. Emerging Biological Principles of Metastasis. *Cell* [online]. 2017, **168**(4), 670-691 [cit. 2023-06-15]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2016.11.037
82. FISCHER, Kari R., Anna DURRANS, Sharrell LEE, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition is not required for lung metastasis but contributes to chemoresistance. *Nature* [online]. 2015, **527**(7579), 472-476 [cit. 2023-06-15]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/nature15748
83. MAYANI, Héctor. A Glance into Somatic Stem Cell Biology. *Archives of Medical Research* [online]. 2003, **34**(1), 3-15 [cit. 2023-06-15]. ISSN 01884409. Dostupné z: doi:10.1016/S0188-4409(02)00450-2
84. CLARKE, Michael F. Clinical and Therapeutic Implications of Cancer Stem Cells. *New England Journal of Medicine* [online]. 2019, **380**(23), 2237-2245 [cit. 2023-06-15]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMra1804280
85. DICK, John E. Stem cell concepts renew cancer research. *Blood* [online]. 2008, **112**(13), 4793-4807 [cit. 2023-06-15]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood-2008-08-077941

86. WHITE, Maria C, Xinjun WU a Blossom DAMANIA. Oncogenic viruses, cancer biology, and innate immunity. *Current Opinion in Immunology* [online]. 2022, **78** [cit. 2023-06-15]. ISSN 09527915. Dostupné z: doi:10.1016/j.coi.2022.102253
87. LAVIA, Patrizia, Ilaria SCIAMANNA a Corrado SPADAFORA. An Epigenetic LINE-1-Based Mechanism in Cancer. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2022, **23**(23) [cit. 2023-06-16]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms232314610
88. MACLENNAN, Signe A. a Marco A. MARRA. Oncogenic Viruses and the Epigenome: How Viruses Hijack Epigenetic Mechanisms to Drive Cancer. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2023, **24**(11) [cit. 2023-06-16]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms24119543
89. MARCHINI, Antonio, Laurent DAEFFLER, Vitaly I. POZDEEV, Assia ANGELOVA a Jean ROMMELAERE. Immune Conversion of Tumor Microenvironment by Oncolytic Viruses: The Protoparvovirus H-1PV Case Study. *Frontiers in Immunology* [online]. 2019, **10** [cit. 2023-06-16]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2019.01848
90. KHARE, Reeti, Shannon M MAY, Francesco VETRINI, et al. Generation of a Kupffer Cell-evading Adenovirus for Systemic and Liver-directed Gene Transfer. *Molecular Therapy* [online]. 2011, **19**(7), 1254-1262 [cit. 2023-06-16]. ISSN 15250016. Dostupné z: doi:10.1038/mt.2011.71
91. CHIOCCA, E. Antonio a Samuel D. RABKIN. Oncolytic Viruses and Their Application to Cancer Immunotherapy. *Cancer Immunology Research* [online]. 2014, **2**(4), 295-300 [cit. 2023-06-16]. ISSN 2326-6066. Dostupné z: doi:10.1158/2326-6066.CIR-14-0015
92. BAMBASOVÁ, Lenka. Rakovina slinivky: Prognóza, příznaky a léčba. *Euc.cz: články a noviny* [online]. 16. března 2023 [cit. 2023-06-16]. Dostupné z: <https://euc.cz/clanky-a-novinky/clanky/rakovina-slinivky-prognozoza-priznaky-a-lecba/>
93. BECKER, Andrew E. Pancreatic ductal adenocarcinoma: Risk factors, screening, and early detection. *World Journal of Gastroenterology* [online]. 2014, **20**(32) [cit. 2023-06-16]. ISSN 1007-9327. Dostupné z: doi:10.3748/wjg.v20.i32.11182
94. ANDERSON, Nicole M. a M. Celeste SIMON. The tumor microenvironment. *Current Biology* [online]. 2020, **30**(16), R921-R925 [cit. 2023-06-16]. ISSN 09609822. Dostupné z: doi:10.1016/j.cub.2020.06.081



95. BAAY, Marc, Anja BROUWER, Patrick PAUWELS, Marc PEETERS a Filip LARDON. Tumor Cells and Tumor-Associated Macrophages: Secreted Proteins as Potential Targets for Therapy. *Clinical and Developmental Immunology* [online]. 2011, **12** [cit. 2023-06-16]. ISSN 1740-2522. Dostupné z: doi:10.1155/2011/565187
96. DHATCHINAMOORTHY, Karthik, Jeff D. COLBERT a Kenneth L. ROCK. Cancer Immune Evasion Through Loss of MHC Class I Antigen Presentation. *Frontiers in Immunology* [online]. 2021, **12** [cit. 2023-06-17]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2021.636568
97. VINAY, Dass S., Elizabeth P. RYAN, Graham PAWELEC, et al. Immune evasion in cancer: Mechanistic basis and therapeutic strategies. *Seminars in Cancer Biology* [online]. 2015, **35**, 185-198 [cit. 2023-06-17]. ISSN 1044579X. Dostupné z: doi:10.1016/j.semcancer.2015.03.004
98. MESSERSCHMIDT, Jonathan L., George C. PRENDERGAST a Gerald L. MESSERSCHMIDT. How Cancers Escape Immune Destruction and Mechanisms of Action for the New Significantly Active Immune Therapies: Helping Nonimmunologists Decipher Recent Advances. *The Oncologist* [online]. 2016, **21**(2), 233-243 [cit. 2023-06-17]. ISSN 1083-7159. Dostupné z: doi:10.1634/theoncologist.2015-0282
99. KALLINGAL, Anoop, Mateusz OLSZEWSKI, Natalia MACIEJEWSKA, Wioletta BRANKIEWICZ a Maciej BAGINSKI. Cancer immune escape: the role of antigen presentation machinery. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* [online]. [cit. 2023-06-17]. ISSN 0171-5216. Dostupné z: doi:10.1007/s00432-023-04737-8
100. CONRY, Robert M., Brian WESTBROOK, Svetlana MCKEE a Timothy Graham NORWOOD. Talimogene laherparepvec: First in class oncolytic virotherapy. *Human Vaccines & Immunotherapeutics* [online]. 2017, **14**(4), 839-846 [cit. 2023-06-17]. ISSN 2164-5515. Dostupné z: doi:10.1080/21645515.2017.1412896
101. XU, Bo, Lei TIAN, Jing CHEN, et al. An oncolytic virus expressing a full-length antibody enhances antitumor innate immune response to glioblastoma. *Nature Communications* [online]. 2021, **12**(1) [cit. 2023-06-17]. ISSN 2041-1723. Dostupné z: doi:10.1038/s41467-021-26003-6
102. MA, Rui, Zhenlong LI, E. Antonio CHIOCCA, Michael A. CALIGIURI a Jianhua YU. The emerging field of oncolytic virus-based cancer immunotherapy. *Trends in Cancer*

- [online]. 2023, **9**(2), 122-139 [cit. 2023-06-17]. ISSN 24058033. Dostupné z: doi:10.1016/j.trecan.2022.10.003
103. YU, Feng, Xingbing WANG, Z Sheng GUO, David L BARTLETT, Stephen M GOTTSCHALK a Xiao-Tong SONG. T-cell Engager-armed Oncolytic Vaccinia Virus Significantly Enhances Antitumor Therapy. *Molecular Therapy* [online]. 2014, **22**(1), 102-111 [cit. 2023-06-17]. ISSN 15250016. Dostupné z: doi:10.1038/mt.2013.240
104. CHAN, Wing Keung, Siwen KANG, Youssef YOUSSEF, et al. A CS1-NKG2D Bispecific Antibody Collectively Activates Cytolytic Immune Cells against Multiple Myeloma. *Cancer Immunology Research* [online]. 2018, **6**(7), 776-787 [cit. 2023-06-17]. ISSN 2326-6066. Dostupné z: doi:10.1158/2326-6066.CIR-17-0649
105. ANDTBACKA, Robert H. I., Merrick ROSS, Igor PUZANOV, et al. Patterns of Clinical Response with Talimogene Laherparepvec (T-VEC) in Patients with Melanoma Treated in the OPTiM Phase III Clinical Trial. *Annals of Surgical Oncology* [online]. 2016, **23**(13), 4169-4177 [cit. 2023-06-18]. ISSN 1068-9265. Dostupné z: doi:10.1245/s10434-016-5286-0
106. BREITBACH, Caroline J., James BURKE, Derek JONKER, et al. Intravenous delivery of a multi-mechanistic cancer-targeted oncolytic poxvirus in humans. *Nature* [online]. 2011, **477**(7362), 99-102 [cit. 2023-06-18]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/nature10358
107. MÖLLER, C, T STRÖMBERG, M JUREMALM, K NILSSON a G NILSSON. Expression and function of chemokine receptors in human multiple myeloma. *Leukemia* [online]. 2003, **17**(1), 203-210 [cit. 2023-06-18]. ISSN 0887-6924. Dostupné z: doi:10.1038/sj.leu.2402717
108. NAKASHIMA, Hiroshi a E. Antonio CHIOCCA. Switching a Replication-Defective Adenoviral Vector into a Replication-Competent, Oncolytic Adenovirus. *Journal of Virology* [online]. 2014, **88**(1), 345-353 [cit. 2023-06-18]. ISSN 0022-538X. Dostupné z: doi:10.1128/JVI.02668-13
109. SUGAWARA, Kotaro, Miwako IWAI, Shoh YAJIMA, Minoru TANAKA, Kazuyoshi YANAGIHARA, Yasuyuki SETO a Tomoki TODO. Efficacy of a Third-Generation Oncolytic Herpes Virus G47 $\Delta$  in Advanced Stage Models of Human Gastric Cancer. *Molecular Therapy - Oncolytics* [online]. 2020, **17**, 205-215 [cit. 2023-06-18]. ISSN 23727705. Dostupné z: doi:10.1016/j.omto.2020.03.022

110. DEY, Mahua, Dou YU, Deepak KANOJIA, et al. Intranasal Oncolytic Virotherapy with CXCR4-Enhanced Stem Cells Extends Survival in Mouse Model of Glioma. *Stem Cell Reports* [online]. 2016, **7**(3), 471-482 [cit. 2023-06-18]. ISSN 22136711. Dostupné z: doi:10.1016/j.stemcr.2016.07.024
111. SIMPSON, G R, A HORVATH, N E ANNELS, et al. Combination of a fusogenic glycoprotein, pro-drug activation and oncolytic HSV as an intravesical therapy for superficial bladder cancer. *British Journal of Cancer* [online]. 2012, **106**(3), 496-507 [cit. 2023-06-18]. ISSN 0007-0920. Dostupné z: doi:10.1038/bjc.2011.577
112. LOW, Nicola, Ashish BAVDEKAR, Lakshmanan JEYASEELAN, et al. A Randomized, Controlled Trial of an Aerosolized Vaccine against Measles. *New England Journal of Medicine* [online]. 2015, **372**(16), 1519-1529 [cit. 2023-06-18]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa1407417
113. AGARKHEDKAR, Sharad, Prasad S. KULKARNI, Scott WINSTON, et al. Safety and immunogenicity of dry powder measles vaccine administered by inhalation: A randomized controlled Phase I clinical trial. *Vaccine* [online]. 2014, **32**(50), 6791-6797 [cit. 2023-06-18]. ISSN 0264410X. Dostupné z: doi:10.1016/j.vaccine.2014.09.071
114. MACLEAN, A. R., M. UL-FAREED, L. ROBERTSON, J. HARLAND a S. M. BROWN. Herpes simplex virus type 1 deletion variants 1714 and 1716 pinpoint neurovirulence-related sequences in Glasgow strain 17+ between immediate early gene 1 and the 'a' sequence. *Journal of General Virology* [online]. 1991, **72**(3), 631-639 [cit. 2023-06-18]. ISSN 0022-1317. Dostupné z: doi:10.1099/0022-1317-72-3-631
115. RAMPLING, R, G CRUICKSHANK, V PAPANASTASSIOU, et al. Toxicity evaluation of replication-competent herpes simplex virus (ICP 34.5 null mutant 1716) in patients with recurrent malignant glioma. *Gene Therapy* [online]. 2000, **7**(10), 859-866 [cit. 2023-06-18]. ISSN 0969-7128. Dostupné z: doi:10.1038/sj.gt.3301184
116. MACKIE, Rona M, Barry STEWART a S Moira BROWN. Intralesional injection of herpes simplex virus 1716 in metastatic melanoma. *The Lancet* [online]. 2001, **357**(9255), 525-526 [cit. 2023-06-18]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(00)04048-4
117. STREBY, Keri A., Mark A. CURRIER, Melinda TRIPLET, et al. First-in-Human Intravenous Sereprevir in Young Cancer Patients: A Phase 1 Clinical Trial. *Molecular Therapy* [online]. 2019, **27**(11), 1930-1938 [cit. 2023-06-18]. ISSN 15250016. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymthe.2019.08.020

118. GOLDSTEIN, D J a S K WELLER. Herpes simplex virus type 1-induced ribonucleotide reductase activity is dispensable for virus growth and DNA synthesis: isolation and characterization of an ICP6 lacZ insertion mutant. *Journal of Virology* [online]. 1988, **62**(1), 196-205 [cit. 2023-06-18]. ISSN 0022-538X. Dostupné z: doi:10.1128/jvi.62.1.196-205.1988
119. KOCH, Marilin, Sean LAWLER a E. CHIOCCA. HSV-1 Oncolytic Viruses from Bench to Bedside: An Overview of Current Clinical Trials. *Cancers* [online]. 2020, **12**(12) [cit. 2023-06-18]. ISSN 2072-6694. Dostupné z: doi:10.3390/cancers12123514
120. LIU, B L, M ROBINSON, Z-Q HAN, et al. ICP34.5 deleted herpes simplex virus with enhanced oncolytic, immune stimulating, and anti-tumour properties. *Gene Therapy* [online]. 2003, **10**(4), 292-303 [cit. 2023-06-18]. ISSN 0969-7128. Dostupné z: doi:10.1038/sj.gt.3301885
121. HU, Jennifer C.C., Robert S. COFFIN, Ceri J. DAVIS, et al. A Phase I Study of OncoVEXGM-CSF, a Second-Generation Oncolytic Herpes Simplex Virus Expressing Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor. *Clinical Cancer Research* [online]. 2006, **12**(22), 6737-6747 [cit. 2023-06-18]. ISSN 1078-0432. Dostupné z: doi:10.1158/1078-0432.CCR-06-0759
122. KELLY, Kaitlyn J, Joyce WONG a Yuman FONG. Herpes simplex virus NV1020 as a novel and promising therapy for hepatic malignancy. *Expert Opinion on Investigational Drugs* [online]. 2008, **17**(7), 1105-1113 [cit. 2023-06-18]. ISSN 1354-3784. Dostupné z: doi:10.1517/13543784.17.7.1105
123. EISSA, Ibrahim Ragab, Yoshinori NAOE, Itzel BUSTOS-VILLALOBOS, et al. Genomic Signature of the Natural Oncolytic Herpes Simplex Virus HF10 and Its Therapeutic Role in Preclinical and Clinical Trials. *Frontiers in Oncology* [online]. 2017, **7** [cit. 2023-06-18]. ISSN 2234-943X. Dostupné z: doi:10.3389/fonc.2017.00149
124. KIMATA, Hideto, Tsuneo IMAI, Toyone KIKUMORI, Osamu TESHIGAHARA, Tetsuro NAGASAKA, Fumi GOSHIMA, Yukihiro NISHIYAMA a Akimasa NAKAO. Pilot Study of Oncolytic Viral Therapy Using Mutant Herpes Simplex Virus (HF10) Against Recurrent Metastatic Breast Cancer. *Annals of Surgical Oncology* [online]. 2006, **13**(8), 1078-1084 [cit. 2023-06-18]. ISSN 1068-9265. Dostupné z: doi:10.1245/ASO.2006.08.035
125. NAKAO, A, H KASUYA, T T SAHIN, et al. A phase I dose-escalation clinical trial of intraoperative direct intratumoral injection of HF10 oncolytic virus in non-resectable

- patients with advanced pancreatic cancer. *Cancer Gene Therapy* [online]. 2011, **18**(3), 167-175 [cit. 2023-06-18]. ISSN 0929-1903. Dostupné z: doi:10.1038/cgt.2010.65
126. QIAO, Jian, Hongxun WANG, Timothy KOTTKE, et al. Cyclophosphamide Facilitates Antitumor Efficacy against Subcutaneous Tumors following Intravenous Delivery of Reovirus. *Clinical Cancer Research* [online]. 2008, **14**(1), 259-269 [cit. 2023-06-19]. ISSN 1078-0432. Dostupné z: doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-1510
127. PRESTWICH, Robin J, Kevin J HARRINGTON, Hardev S PANDHA, Richard G VILE, Alan A MELCHER a Fiona ERRINGTON. Oncolytic viruses: a novel form of immunotherapy. *Expert Review of Anticancer Therapy* [online]. 2014, **8**(10), 1581-1588 [cit. 2023-06-19]. ISSN 1473-7140. Dostupné z: doi:10.1586/14737140.8.10.1581
128. Edwin Smith Papyrus v2. *Wikipedie* [online]. [cit. 2023-06-26]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/Edwin\\_Smith\\_Papyrus#/media/File:Edwin\\_Smith\\_Papyrus\\_v2.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Edwin_Smith_Papyrus#/media/File:Edwin_Smith_Papyrus_v2.jpg)