

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Veronika Kulyk

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Onkolytická viroterapie se zaměřením na léčbu duktálního adenokarcinomu
pankreatu

Bakalářská práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Veronika Kulyk**
Osobní číslo: **C21386**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Onkolytická viroterapie se zaměřením na léčbu duktálního adenokarcinomu pankreatu**
Téma práce anglicky: **Oncolytic Virotherapy with the Focus to Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Therapy**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Seznamte se s literaturou týkající se principu onkolytické viroterapie a zaměřte se na současný stav řešení v dané problematice (state-of-the-art). Popište proces přípravy terapeutika a jeho aplikaci v rámci léčby pacientů.
2. Popište konkrétní příklady nádorových onemocnění, kde se již tato terapie vyvíjí, testuje v rámci klinických studií, případně kde se již uplatnila v praxi.
3. Seznamte se s literaturou týkající se nádorového onemocnění duktální adenokarcinom pankreatu. Popište patogenezu onemocnění (příčiny vzniku), klinické příznaky onemocnění, průběh a prognózu onemocnění u pacientů neléčených a naopak léčených moderními terapeutickými postupy.
4. Popište konkrétní příklady využití této moderní terapie pacientů s duktálním adenokarcinomem pankreatu. Uveďte, kde se již tato terapie vyvíjí, testuje v rámci klinických studií, případně kde se již uplatnila v praxi.
5. Zhodnoťte budoucnost využití současných znalostí a dovedností v oblasti personalizované onkolytické viroterapie a perspektivu v kontextu jiných terapeutických postupů.
6. Jako zdroje informací používejte odborné články z hodnotných odborných časopisů českých i zahraničních (anglický jazyk). K vyhledávání využijte osvědčené databáze typu *PubMed*, *Scopus*, *Web of Science*.
7. Informace přehledně zpracujte, použijte obrázky, schémata a grafy a ze získaných literárních údajů vyvoďte závěry, jak budou tyto informace o novém způsobu terapie využitelné do budoucna ve prospěch pacientů.

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

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucí bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **22. prosince 2023**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

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

L.S.

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

V Pardubicích dne 29. února 2024

Prohlašuji:

Práci s názvem Onkolytická viroterapie se zaměřením na léčbu duktálního adenokarcinomu pankreatu 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

Veronika Kulyk

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych poděkovat své vedoucí prof. RNDr. Zuzaně Bílkové, PhD. za vedení a cenné rady při psaní bakalářské práce a svým nejbližším za podporu.

ANOTACE

Bakalářská práce se zaměřuje na problematiku nádorových onemocnění, jejich výskyt, průběh a léčbu. Práce také poskytuje stručný přehled o alternativním způsobu léčby rakoviny - onkolytické viroterapii. Zaměřuje se na duktální adenokarcinom pankreatu a využití viroterapie k jeho léčbě.

KLÍČOVÁ SLOVA

Onkolytická viroterapie, rakovina, duktální adenokarcinom pankreatu, slinivka břišní

TITLE

Oncolytic virotherapy with the focus to pancreatic ductal adenocarcinoma therapy

ANNOTATION

The bachelor thesis focuses on cancer, its incidence, course and treatment. The thesis also provides a brief overview of an alternative method of cancer treatment - oncolytic virotherapy. It focuses on ductal adenocarcinoma of the pancreas and the use of virotherapy for its treatment.

KEYWORDS

Oncolytic virotherapy, cancer, pancreatic ductal adenocarcinoma, pancreas

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK.....	10
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	12
TERMINOLOGIE	16
ÚVOD.....	17
1 RAKOVINA.....	19
1.1 Příčiny vzniku nádorového onemocnění.....	19
1.1.1 Genetické faktory.....	19
1.1.2 Negenetické faktory	20
1.2 Symptomy výskytu nádorového onemocnění.....	21
1.3 Diagnostika rakoviny	22
1.4 Charakteristiky maligního nádoru	23
1.5 Klasifikace nádorových onemocnění.....	24
1.6 Metody léčby nádorových onemocnění.....	26
2 ONKOLYTICKÁ VIROTERAPIE	28
2.1 Historie onkolytické viroterapie	28
2.2 Definice onkolytické viroterapie	28
2.3 Princip onkolytické viroterapie	28
2.4 Viry používané v onkolytické viroterapii	29
2.4.1 Herpes virus	29
2.4.2 Parvovirus	30
2.4.3 Reovirus	31
2.4.4 Coxsackievirus.....	32
2.4.5 Myxomavirus.....	33
2.4.6 Echoviruses.....	34
2.5 Geneticky modifikované onkolytické viry	35
2.5.1 Herpes virus	35
2.5.2 Adenovirus.....	37
2.5.3 Vaccinia virus	38
2.5.4 Seneca Valley virus	40
2.5.5 Poliovirus.....	40
2.5.6 Measles virus	41
2.5.7 Další geneticky modifikované viry.....	42
2.6 Metody aplikace onkolytických léčiv	42

2.6.1	Intratumorální (IT).....	42
2.6.2	Intravenózní (IV)	43
2.6.3	Intraperitoneální (IP).....	43
2.6.4	Další metody aplikace onkolytických léčiv	43
2.7	Mechanismy nádorového tropismu.....	43
2.8	Biologická bezpečnost onkolytických léčiv	44
2.9	Kombinace onkolytické terapie s jinými druhy protinádorové terapie.....	45
2.9.1	Kombinace onkolytické terapie s chemoterapií.....	45
2.9.2	Kombinace onkolytické terapie s radioterapií	46
2.9.3	Kombinace onkolytické terapie s imunoterapií	47
2.10	Vybrané klinické studie a kazuistiky	48
2.10.1	Oncorin na bázi Adenoviru.....	48
2.10.2	RIGVIR® na bázi Echoviru.....	49
2.10.4	GL-ONC1 na bázi Vaccinia viru	50
3	ADENOKARCINOM PANKREATU	52
3.1	Slinivka břišní	52
3.2	Duktální adenokarcinom pankreatu	52
3.3	Rizikové faktory	53
3.3.1	Dědičné faktory.....	54
3.4	Klinické příznaky duktálního adenokarcinomu pankreatu	54
3.5	Diagnostika duktálního adenokarcinomu pankreatu.....	55
3.5.1	Zobrazovací metody	55
3.5.2	Tumor markery	55
3.6	Způsoby léčby adenokarcinomu pankreatu	56
3.7	Vybrané klinické studie a kazuistiky	57
3.7.1	Pelareorep (REOLYSIN®) na bázi Reoviru.....	57
3.7.2	ParvOryx na bázi Parvoviru.....	58
3.7.3	OAd-TNFa-IL2 na bázi Adenoviru	59
3.7.4	HF10 na bázi Herpes viru	62
	ZÁVĚR	65
	POUŽITÁ LITERATURA	66

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1 Příznaky a podíly pacientů s rakovinou ve stadiu I-III a IV (Koo et al., 2020).	21
Obrázek 2 Regulace mikroprostředí při progresi primárního nádoru a metastazování (De Visser, Joyce, 2023).....	24
Obrázek 3 Vývoj úmrtnosti na nádorová onemocnění v České republice v letech 2000 až 2018 (Ferlay et al., 2024).....	27
Obrázek 4 Schématické znázornění mechanismu působení onkolytických adenovirů v imunoterapii rakoviny (Zhao et al., 2021)	29
Obrázek 5 Struktura viru Herpes simplex typ 1 (Aryal, 2024).....	30
Obrázek 6 Struktura Cocksackieviru (Mikrostoker, 2024)	33
Obrázek 7 Struktura Myxomaviru (Kumar et al., 2023).....	34
Obrázek 8 Regrese melanomu pod vlivem Talimogene Laherparepvec (Zdzienicki et al., 2021)	36
Obrázek 9 Struktura Adenoviru (Yang et al., 2022).....	37
Obrázek 10 Struktura Vaccinia viru (Harrison et al., 2004).....	38
Obrázek 11 Struktura Measles viru (Nascimento et al., 2021).....	41
Obrázek 12 Mechanismy vstupu virů do nádorových buněk (Abd-Aziz, Poh, 2021).....	44
Obrázek 13 Onkolytické viry jako základ kombinované terapie onkologických onemocnění (Bommareddy et al., 2018)	46
Obrázek 14 Počítačová tomografie dutiny hrudní pacientky (Zhang et al., 2021).....	48
Obrázek 15 Počítačová tomografie břicha a pánve pacientky v lednu 2019 (a) a dubnu 2019 (b) (Mori et al., 2019)	51
Obrázek 16 Incidence a mortalita ve světě a České republice (Ferlay et al., 2024).....	52
Obrázek 17 Mortalita způsobená rakovinou slinivky břišní (Ferlay et al., 2024)	53
Obrázek 18 ROC křivka pro CA 19-9 a CEMIP biomarkery v diagnostice rakoviny slinivky břišní (Lee et al., 2018).....	56
Obrázek 19 Odpověď na kombinovanou léčbu v čase (Arnold et al., 2022).....	57
Obrázek 20 Výchozí výsledky (a) a výsledky skenování ve 24. týdnu (b) u pacienta C1-013 (Arnold et al., 2022).....	58
Obrázek 21 Vzorky nádorové tkáně odebrané před zahájením virologické léčby (A) a 2 měsíce po jejím zahájení (B) (Hajda et al., 2021)	59
Obrázek 22 Histopatologie nádorových tkání u myši dostávající monoterapií meso-CAR T buňkami (a), kombinovanou terapií s adenovirem a meso-CAR T buňkami (b),	

kombinovanou terapií s modifikovaným adenovirem OAd-TNF α -IL2 s a meso-CAR T buňkami (c) (Watanabe et al., 2018).....	60
Obrázek 23 Objem nádoru na základě kaliperačního měření (Watanabe et al., 2018).....	61
Obrázek 24 Reprezentativní plíce ze skupiny OAd-mTNF α -IL2 + meso-CAR T buněk (a), skupiny OAd (b) a skupiny OAd + meso-CAR T buněk (c) (Watanabe et al., 2018).....	61
Obrázek 25 Resekční vzorek pankreatu pacientky (a), histopatologická analýza tkáně (b), mikrofotografie zbývající nádorové tkáně (c) (Hirooka et al., 2018).....	63
Obrázek 26 Řez vzorkem hlavy pankreatu (a vlevo), zvětšený snímek (a vpravo), histopatologická analýza tkáně (b) (Hirooka et al., 2018).....	63
Tabulka 1 Nádorové markery běžně používané pro screening rakoviny (Schiffman et al., 2015).....	23
Tabulka 2 Rozlišení jednotlivých stupňů nádorového onemocnění (Edge et al., 2015)	25
Tabulka 3 Klasifikace tumoru dle rozsahu (Edge et al., 2015).....	26
Tabulka 4 Rizikové faktory pro duktální adenokarcinom pankreatu	54
Tabulka 5 Zobrazovací metody využívané pro diagnostiku adenokarcinomu pankreatu (Goral, 2015).....	55

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

AJCC – Americký společný onkologický ústav (z angl. American Joint Committee on Cancer)

BiTEs – Bispecifické inhibitory T-buněk (z angl. Bi-specific T-cell Engagers)

BoHV-4 – Hovězí herpesvirus 4 (z angl. Bovine Herpesvirus 4)

CA – Karcinoembryonální antigen

CAR-T – Terapie chimérickými antigenními receptory T-buněk (z angl. Chimeric T Cell Receptors Therapy)

CBR – Míra klinického přínosu (z angl. Clinical Benefit Rate)

CEACAM1 – Molekula buněčné adheze 1 související s karcinoembryonálním antigenem (z angl. Carcinoembryonic Antigen-Related Cell Adhesion Molecule 1)

CEMIP – Protein indukující buněčnou migraci a vázající hyaluronan (z angl. Cell Migration-Inducing and Hyaluronan-Binding Protein)

CMV – Cytomegalovirus

CR – Kompletní odpověď (z angl. Complete response)

CT – Počítačová tomografie (z angl. Computer Tomography)

CVA21 – Cocksackievirus A21

DAMP – Molekuly vyvolávající poškození (z angl. Damage-Associated Molecular Pattern Molecules)

DNA – Deoxyribonukleová kyselina

dsDNA – Dvouvláknová DNA (z angl. Double-stranded DNA)

dsRNA – Dvouvláknová RNA (z angl. Double-stranded RNA)

ERCP – Endoskopická retrográdní cholangiopankreatikografie (z angl. Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography)

EUS – Endoskopická ultrasonografie

FDA – Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (z angl. Food and Drug Administration)

FNAB – Aspirační biopsie tenkou jehlou (z angl. Fine-Needle Aspiration Biopsy)

GBM – Glioblastoma multiforme

GM-CSF – Faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů (z angl. Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor)

H-1PV – Parvovirus H-1

HAdV – Lidský Adenovirus (z angl. Human Adenovirus)

Hep-1 – Lidské hepatomové buněčné linie (z angl. Human Hepatic Cell Line)

HMGB1 – Protein kódovaný genem HMGB1 (z angl. High-mobility group box 1)

HSP – Protein tepelného šoku (z angl. Heat Shock Protein)

HSV-1 – Herpes simplex virus 1

IARC – Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (z angl. International Agency for Research on Cancer)

ICAM-1 – Intercelulární adhezivní molekula-1 (z angl. Intercellular Adhesion Molecule 1)

ICB – Blokáda kontrolních imunitních bodů (z angl. Immune Checkpoint Blockade)

IFN – Interferon

IL-2 – Interleukin-2

IP – Intraperitoneální

IT – Intratumorální

IV – Intravenózní

meso-CAR T – meso terapie chimérickými antigenními receptory T-buněk (z angl. Meso Chimeric T Cell Receptors Therapy)

MHC – Hlavní histokompatibilní complex člověka (z angl. Major Histocompatibility Complex)

MIC-1 – Makrofágový inhibiční cytokin-1 (z angl. Macrophage Inhibitory Cytokine 1)

miRNA – Mikro RNA

MR – Magnetická rezonance

MYXV – Myxoma virus

NCCN – Národní síť pro komplexní léčbu rakoviny (z angl. National Comprehensive Cancer Network®)

NDV – Virus Newcastleské nemoci (z angl. Newcastle Disease Virus)

OAd – Onkolytický Adenovirus

OAd-TNF α -IL2 – Onkolytický Adenovirus exprimující TNF- α a IL-2

Olvi-Vec, GL-ONC1, GLV-1h68 – Olvimulogen Nanivacirepvec

ORR – Míra objektivní odpovědi (z angl. Overall Response Rate)

OS – Celkové přežití (z angl. Overall Survival)

OV – Onkolytické viry

PAMP – Molekulární struktury typické pro povrch buněk patogenních mikroorganismů (z angl. Pathogen-Associated Molecular Pattern)

PD – Progresivní onemocnění (z angl. Progressive disease)

PDAC – Duktální adenokarcinom pankreatu (z angl. Pancreatic ductal adenocarcinoma)

PET-CT – Pozitronová emisní počítačová tomografie (z angl. Positron Emission Computer Tomography)

Pexa-Vec – Pexastimogene devacirepvec

PFS – Přežití bez progresu (z angl. Progression-free survival)

PR – Částečná odpověď (z angl. Partial response)

PTC – Perkutánní transhepatální cholangiogram (z angl. Percutaneous Transhepatic Cholangiogram)

PVSRIP0 – Poliovirus Sabin Rhinovirus IRES

RNA – Ribonukleová kyselina

ROC – (z angl. Receiver Operating Characteristic curve)

SD – Stabilní onemocnění (z angl. Stable disease)

SVV-001, NTX-010 – Virus Seneca Valley

TCR-seq – Sekvenování T-buněčných receptorů (z angl. T-cell Receptor Sequencing)

TILs – Lymfocyty infiltrující nádor (z angl. Tumor-Infiltrating Lymphocytes)

TME – Nádorové mikroprostředí (z angl. Tumor Microenvironment)

TNF- α – (z angl. Tumor Necrosis Factor)

T-VEC – Talimogen Laherparepvec

WHO – Světová zdravotnická organizace (z angl. World Health Organization)

TERMINOLOGIE

Rakovina – onemocnění nekontrolovaného množení transformovaných buněk, které podléhají evoluci prostřednictvím přírodního výběru.

Onkolytická viroterapie – terapeutický přístup k léčbě rakoviny, který se využívá viry schopné selektivně replikovat v nádorových buňkách a lyzují je, přičemž normální buňky zůstávají nepoškozené.

Nádorové mikroprostředí – vysoce strukturovaný systém nádorových buněk obklopených různými typy nenádorových buněk, které jsou společně zasazeny do změněné, vaskularizované extracelulární matrix.

ÚVOD

Rakovina je jednou z nejsmrtelnějších nemocí současnosti – každý druhý člověk umírá na ten či onen zhoubný nádor. Tato statistika je způsobena několika faktory: pozdním odhalením nemoci v důsledku nespécifických nebo chybějících příznaků, vysokou invazivitou a progresí nádoru a nedostatečně účinnou terapií.

Diagnostika zhoubných nádorů nabývá v posledních 20 letech na intenzitě. Byly objeveny nové diagnostické metody – od zobrazovacích technik až po nejnovější nádorové markery. Přesto se vědcům stále nedaří dosáhnout 100% specifičnosti a citlivosti. Každý rok se jim však daří nalézt nové informace, které zlepšují diagnostiku a terapii, například nový pohled na nádor a jeho okolní mikroprostředí.

Léčba rakoviny zahrnuje širokou škálu protokolů v závislosti na rozsahu a invazivitě nádoru. Tyto protokoly obvykle vypracovávají zdravotnické organizace, jako je Česká onkologická společnost. Nejčastější a neúčinnější léčbou zůstává chirurgická resekce, ale u pacientů s metastazujícím nádorem nebo nádorem umístěným v neresekabilních oblastech (mozek, okolí velkých cév) není operace možná. To dává podnět k objevování nových léčebných postupů, které využívají různé přístupy – od radioterapie až po využití aktivovaných T lymfocytů.

Onkolytická viroterapie je jedním z nových směrů ve vývoji léčby zhoubných nádorů. Již v minulém století se objevily pokusy o využití virů jako onkolytické terapie, ale v té době nebyla vyvinuta technologie a chyběly znalosti o lidského genomu. Proto tato terapie začala získávat popularitu až na začátku 21. století.

Viroterapie spočívá v použití virů, které díky svým vlastnostem likvidují nádorové buňky, aniž by zasáhly zdravé buňky pacienta. Mechanismy nádorového tropismu pomáhají zacílit viry na nádor a umožňují jim proniknout a replikovat se uvnitř buněk. V současné době je k dispozici několik virových vektorů, včetně virů, které existují volně v přírodě, a virů, jejichž genom byl modifikován. Léky jako RIGVIR®, T-VEC a Oncorin jsou první na trhu, které byly oficiálně schváleny pro léčbu rakoviny v různých zemích. Tyto léky se často používají v kombinaci s dalšími v současnosti dostupnými léčebnými postupy, jako je chemoterapie, imunoterapie a radioterapie, aby se zvýšila účinnost léčby.

Adenokarcinom slinivky břišní je jedním z nejsmrtelnějších typů rakoviny. Vzhledem k tomu, že chybí specifických příznaků onemocnění a jeho vysoké invazivitě, většina pacientů s diagnostikovaným karcinomem slinivky břišní často nežije déle než šest měsíců od stanovení

diagnózy. Diagnostické metody, jako je ultrazvuk spolu s kombinovanými nádorovými markery, mají poměrně vysokou citlivost a specifickou, ale ani to nemůže zaručit 100% diagnostiku v časných stadiích.

Stejně jako všechny ostatní druhy rakoviny se i adenokarcinom slinivky břišní léčí v závislosti na stadiu a invazivitě podle lékařských protokolů, ale vzhledem k jeho odhalení v pozdních stadiích jej často nelze chirurgicky odstranit.

Svůj přínos v léčbě karcinomu pankreatu našla i onkolytická viroterapie. V současné době je k dispozici několik studií, které potvrzují její účinnost nejen na zvířecích modelech, ale i při léčbě lidí.

1 RAKOVINA

Rakovina je jedním z největších problémů současnosti. I přes technologický pokrok se stále potýkáme s nárůstem nemocnosti a úmrtnosti. Světová zdravotnická organizace (WHO) uvádí rakovinu jako první nebo druhou nejčastější příčinu úmrtí ve věku do 70 let ve 112 zemích (Sung et al., 2021).

Celkově se zátěž výskytu a úmrtnosti na rakovinu na celém světě rychle zvyšuje, což odráží jak stárnutí a růst populace, tak změny v prevalenci a distribuci hlavních rizikových faktorů rakoviny, z nichž některé souvisejí se socioekonomickým rozvojem.

Rakovina je onemocnění nekontrolovaného množení transformovaných buněk, které podléhají evoluci prostřednictvím přírodního výběru. Tuto definici rakoviny navrhl Brown a kol. v roce 2023. Jinými slovy, rakovina je provázena nekontrolovaným růstem buněk, které ztratily kontrolu nad mechanismy reprodukce, buněčného cyklu a oprav, a mají tak schopnost se neustále dělit. Tento proces potencuje šíření nebo invazi do dalších částí těla a růst nových nádorů (Brown et al. 2023).

1.1 Příčiny vzniku nádorového onemocnění

V současné době nelze určit jednu konkrétní příčinu rakoviny. Vědci dospěli k závěru, že na vznik a vývoj rakoviny má vliv několik faktorů. Tyto faktory lze rozdělit na genetické a negenetické.

1.1.1 Genetické faktory

Epidemiologie rozšířených nádorových onemocnění potvrzuje hypotézu, že zhoubné nádory mají tendenci se agregovat v rodinách. Modely studií zaměřených na určení vlivu dědičných faktorů ukázaly, že dědičné faktory představují přibližně 42 % rizika rakoviny prostaty, 27 % rizika rakoviny prsu a 35 % rizika rakoviny tlustého střeva. Naproti tomu u rakoviny děložního čípku dědičné riziko odpadá, protože se jedná o onemocnění způsobené infekcí. Přestože některé studie poukazují na význam genetických predispozic, jsme při určování přesného vlivu genetických a negenetických faktorů omezeni. Většina případů onemocnění je složitou kombinací několika faktorů, takže je obtížné izolovat jediný klíčový faktor (Pomerantz a Freedman, 2011).

1.1.2 Negenetické faktory

Faktory životního prostředí

Faktory životního prostředí mají významný vliv na lidský organismus a zároveň na vznik karcinomu. Podle WHO jsou elektromagnetická pole o frekvenci 50/60 Hz uznávána jako pravděpodobný faktor vzniku nádorů. Studie v různých zemích rovněž ukazují, že ženy, které jsou často vystaveny elektromagnetickým polím o nízké frekvenci (0-300 Hz), mají 6,5krát vyšší riziko vzniku rakoviny prsu. A lidé žijící v blízkosti elektrického vedení mají 2krát vyšší riziko leukémie (Lewandowska et al., 2019).

Dalším důležitým faktorem prostředí je ionizující záření. Jedná se o celosvětově uznávaný karcinogen, který způsobuje spontánní nádory v celém těle (Sifri et al., 2004). Účinek ionizujícího záření se projevuje stimulací neuroplazie štítné žlázy, hrudníku a močového měchýře (Schulz et al., 2008). U dětí a novorozenců stimuluje karcinogenezi v gastrointestinálním traktu a zvyšuje riziko dalšího rozvoje zhoubných nádorů v játrech, kostech a kostní dřeni (Lewandowska et al., 2019).

Jako další faktor uvádíme ultrafialové záření. Je nejčastějším faktorem prostředí působícím na kůži a jeho nadměrná expozice zvyšuje riziko vzniku melanomu a spinocelulárního karcinomu (Postrzech et al., 2010).

Faktory životního stylu

Kouření

Nejčastějším faktorem, který spadá do faktorů životního stylu, je kouření. Každý rok zemře na rakovinu způsobenou kouřením přibližně 6 milionů lidí. Studie provedené Americkou onkologickou společností ukazují, že kouření je v souvislosti s nejméně 16 typy rakoviny. Dokonce i pasivní kouření zvyšuje riziko vzniku rakoviny o čtvrtinu (Leon et al., 2015).

Alkohol

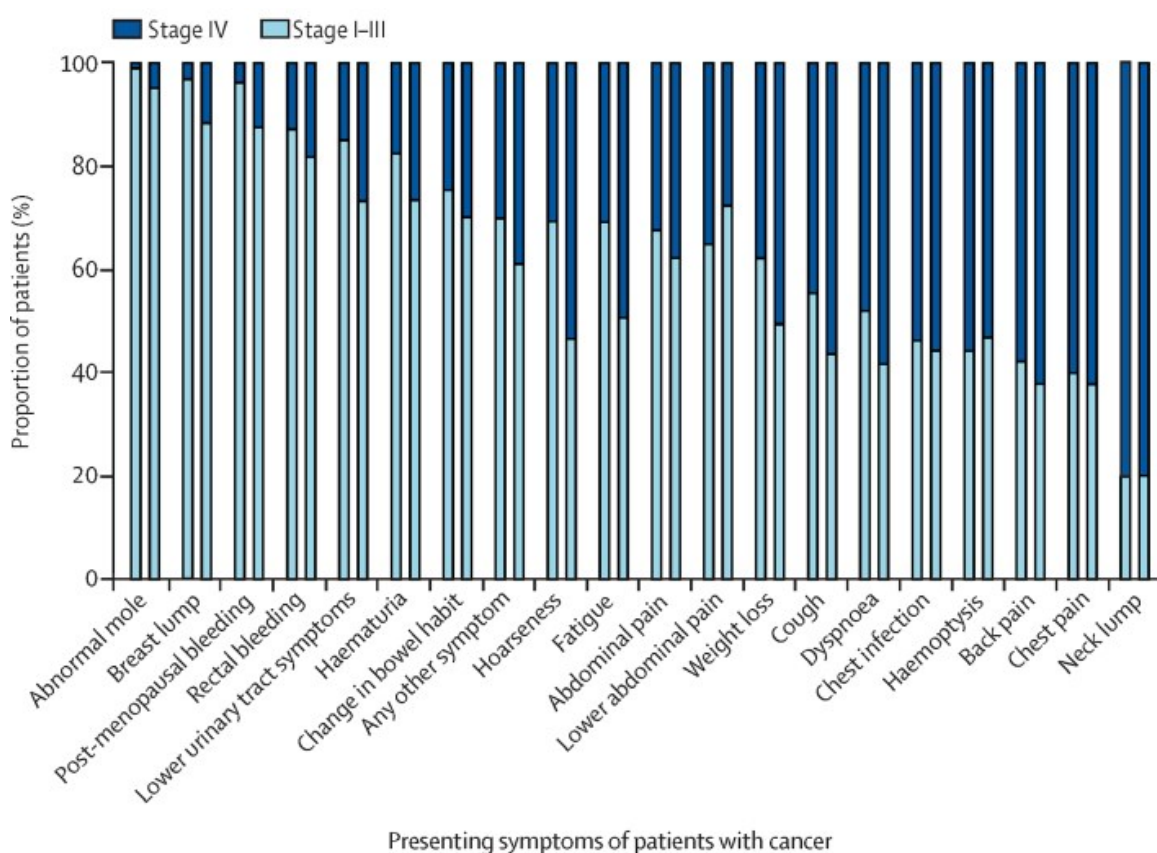
Epidemiologické studie ukazují, že existuje souvislost mezi konzumací alkoholu a zvýšeným rizikem vzniku rakoviny. Riziko závisí na množství konzumovaného alkoholu, jeho druhu a dalších faktorech. Některé studie prokázaly, že již jeden alkoholický nápoj denně (6-8 g čistého etanolu) zvyšuje riziko rakoviny prsu o 11 % a dva nápoje denně zvyšují riziko rakoviny tlustého střeva a konečníku o 8 %. Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) zařadila alkohol mezi karcinogeny I. třídy pro rakovinu jater (Franceschi et al., 2000).

Výživa

Jednou z hlavních příčin vzniku rakoviny je také nezdravá strava. V posledních letech se s rozvojem civilizace v lidské stravě objevilo mnoho látek s karcinogenními účinky (Eyre et al., 2004). Mezi dietními faktory jsou důležité vysoké dávky dusitanů a dusičnanů, uzené a nakládané potraviny a také tučná nebo příliš horká jídla (Neuhouser et al., 2015). Podle zprávy Světového fondu pro výzkum rakoviny z roku 2007 bylo 35 % případů rakoviny způsobeno špatnou stravou a nedostatkem fyzické aktivity. Americká onkologická společnost rovněž zjistila souvislost mezi obezitou a rakovinou – z 1,5 milionu nových případů rakoviny diagnostikovaných každý rok je nejméně 20 % důsledkem obezity (Lewandowska et al., 2019).

1.2 Symptomy výskytu nádorového onemocnění

O vztahu mezi příznaky a stádiem rakoviny existuje řada výzkumů, které se však obvykle omezují na konkrétní typy rakoviny. Některé příznaky jsou sice společné pro různé typy rakoviny, například bolesti břicha jsou spojeny nejen s rozvojem kolorektálního karcinomu, ale také s rakovinou vaječníků a ledvin. Studie Koo et al. z roku 2020 (obr. 1) zkoumala vztah mezi běžnými příznaky a stádiem onemocnění v době diagnózy.



Obrázek 1 Příznaky a podíly pacientů s rakovinou ve stadiu I-III a IV (Koo et al., 2020).

Studie (obr. 1) analyzovala údaje od 7997 pacientů s diagnózou solidního nádoru v pokročilém stádiu onemocnění. Nejčastějším příznakem byla bulka v prsu a nejméně častým bulka na krku. Třetina všech pacientů měla dva nebo více příznaků. Lokalizované příznaky obvykle ukazovaly na konkrétní typ rakoviny (např. abnormální mateřské znaménko – melanom, krvácení po menopauze – rakovina endometria). Zatímco symptomy jako bolest břicha, změny ve stolici, bolest zad, únava a úbytek hmotnosti byly méně specifické a souvisely s různými typy rakoviny (Koo et al., 2020).

1.3 Diagnostika rakoviny

V současné době je standardním vyšetřením pro diagnostiku rakoviny histopatologie, při ní se provádí odběr nádorové tkáně, který je obvykle invazivním výkonem. Tato metoda poskytuje jen omezené informace o heterogenitě nádoru. U pacientů s pochybnou nebo nepotvrzenou diagnózou není vhodné provádět invazivní zákroky, jako je biopsie, takže histopatologie jako diagnostický nástroj u těchto pacientů není možné použít. To výrazně omezuje možnost včasné diagnózy. Moderní zobrazovací metody, jako je multiparametrická magnetická rezonance, ultrazvuk a PET-CT, mohou odhalit pouze primární nádory a metastázy, které jsou již dobře vyvinuté a skládají se z $>10^9$ buněk (Lawrence et al., 2023). Proto se k včasné diagnostice používají biomarkery z biologických tekutin pacienta (krev, moč, likvor atd.).

Dosud existuje mnoho markerů (tab. 1) s poměrně vysokou přesností a účinností. Je však třeba mít na paměti, že žádný screeningový test nemůže mít 100% senzitivitu a 100% specificitu, obecně se u mnoha screeningových testů pohybuje senzitivita v rozmezí 70-80 % a specificita je o něco nižší – přibližně 60-70 %. Proto se několik screeningových markerů často používá k diagnostice v kombinaci s dalšími typy testů, jako je neinvazivní ultrazvuk a magnetická rezonance nebo invazivní biopsie. Tímto způsobem můžeme zvýšit citlivost a specifčnost metod pro včasnou a přesnou diagnostiku rakoviny (Schiffman et al., 2015).

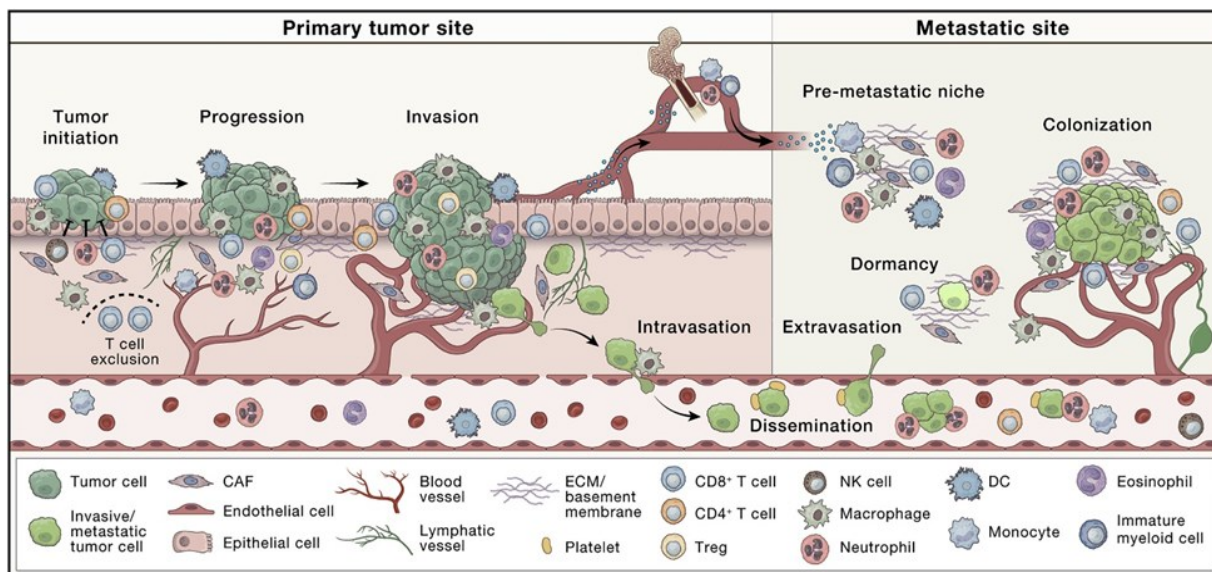
Tabulka 1 Nádorové markery běžně používané pro screening rakoviny (Schiffman et al., 2015)

Biomarker	Rakovina
Alpha-fetoprotein	Geminální nádor a hepatocelulární karcinom
Beta-lidský chorionový gonadotropin	Choriokarcinom, rakovina varlat
Beta-2 mikroglobulin	Mnohočetný myelom, chronická lymfocytární leukémie a některé lymfomy
CA-125	Vaječníky
CA-15.3, CA2-7.29	Prsa
CA-19.9	Slinivka břišní, žlučník a žlučovody, žaludek
CD20	Non-Hodgkinův lymfom
Kalcitonin	Medulární štítná žláza
Karcinoembryonální antigen	Vaječníky, děložní čípek, prsa, močové cesty, gastrointestinální trakt, plíce
Laktát dehydrogenáza	Geminální nádor
Prostatický specifický antigen	Prostata

Biomarkerů je obrovské množství a mohou zahrnovat proteiny (např. enzymy nebo receptory), nukleové kyseliny (např. mikroRNA nebo jiné nekódující RNA), protilátky a peptidy a další kategorie. Tab. 1 uvádí nejčastěji používané biomarkery pro diagnostiku různých typů rakoviny (Schiffman et al., 2015).

1.4 Charakteristiky maligního nádoru

Výzkumy posledních desetiletí odhalily nové skutečnosti týkající se našeho vnímání rakoviny. Nyní je známo, že rakovina je složitý ekosystém, který zahrnuje rakovinné i nenádorové buňky a jejich vzájemné interakce v mikroprostředí, které si nádor kolem sebe vytváří. Mikroskopické zkoumání solidních nádorů odhalilo, že nádorové mikroprostředí (TME) je vysoce strukturovaný systém nádorových buněk obklopených různými typy nenádorových buněk, které jsou společně zasazeny do změněné, vaskularizované extracelulární matrix (obr. 2).



Obrázek 2 Regulace mikroprostředí při progresi primárního nádoru a metastazování (De Visser, Joyce, 2023)

TME se skládá z různých imunitních buněk, fibroblastů spojených s nádorem, endoteliálních buněk a dalších typů buněk (obr. 2), které se liší v závislosti na tkáni, kde nádor vzniká. Buněčné složení a funkční stav TME závisí na orgánu, ve kterém se nádor vyvíjí, na vlastnostech nádorových buněk, na stadiu nádoru a na vlastnostech pacienta. Různé buňky TME tak mohou, jak inhibovat, tak podporovat rozvoj nádoru.

Zapojením a přeprogramováním nenádorových hostitelských buněk a remodelací cév a extracelulární matrix si vytvářejí nádorové buňky příznivé prostředí. Klíčovými faktory pro to jsou vlastnosti nádorových buněk – změněná genetik, metabolické programování a deregulovaná signalizace.

Jakmile se úspěšně vytvoří vzájemně se posilující vazby mezi angiogenezí, zánětem a fibrózou, které nastolí rovnováhu a vytvoří TME, přejdou nádory do další fáze – lokální invaze. Invazivní růst je jedním z hlavních znaků rakoviny, který předchází metastatickému šíření. Je důležité si uvědomit, že vliv postupujícího nádorového onemocnění se neomezuje pouze na lokální TME, ale vyvolává také parakrinní účinky, které vytvářejí příznivé mikroprostředí ve vzdálených orgánech ještě předtím, než dojde k metastatickému šíření (De Visser a Joyce, 2023).

1.5 Klasifikace nádorových onemocnění

Pro klasifikaci a diagnostiku nádorů je využíván systém – typ (angl. typing), stupeň (angl. grading) a rozsah (angl. staging).

Typ tumoru se označuje jako typing a v této kategorii rozlišujeme dva hlavní typy – maligní a benigní nádory. Toto typování se často nevyužívá pro diagnostiku, proto nádory rozlišujeme z histogenetického hlediska:

- mezenchymové (pojivové) nádory – sarkomy;
- epitelové nádory – karcinomy;
- neuroektodermové nádory;
- germinální nádory;
- choriokarcinom;
- mezoteliom.

Stupeň nádorového onemocnění (dále grading) je kvalitativní hodnocení míry diferenciacie nádoru. Grading (tab. 2) může odrážet míru, do jaké se nádor podobá normální tkáni v daném místě.

Tabulka 2 Rozlišení jednotlivých stupňů nádorového onemocnění (Edge et al., 2015)

Gx	nelze stanovit stupeň diferenciacie
G1	dobře diferencovaný nádor
G2	středně diferencovaný nádor
G3	málo diferencovaný nádor
G4	nediferencovaný nádor

Staging (tab. 3) označuje rozsah nádoru a je klíčovým faktorem, který určuje prognózu a je rozhodujícím prvkem pro stanovení vhodné léčby. Dle stagingového systému American Joint Committee on Cancer (AJCC) (Edge et al., 2015) revidovaného v červenci 2015 můžeme rozlišit jednotlivá stadia rakoviny:

Tabulka 3 Klasifikace tumoru dle rozsahu (Edge et al., 2015)

Stadium	Definice
Primární tumor	
T0	Žádná evidence primárního nádoru
Tis	Karcinom <i>in situ</i>
T1	Nádor omezený na oblast primárního nádoru ≤ 2 cm
T2	Nádor omezený na oblast primárního nádoru ≥ 2 cm
T3	Rozšíření do nejbližších tkání
T4	Rozšíření do tkání s postižením cév a nervu
Regionální lymfatické uzliny	
Nx	Regionální lymfatické uzliny nebyly hodnoceny
N0	Žádné metastatické regionální lymfatické uzliny
N1	Metastatické regionální lymfatické uzliny
Vzdálené metastázy	
M0	Žádné vzdálené metastatické onemocnění
M1	Vzdálené metastatické onemocnění

Komponenta T je definována velikostí nebo přilehlým rozšířením primárního nádoru.

Složka N je definována nepřítomností nebo přítomností a rozsahem rakoviny v regionálních lymfatických uzlinách. Postižení uzlin je kategorizováno podle počtu pozitivních uzlin a u některých nádorových lokalit podle postižení specifických regionálních skupin uzlin.

Složka M je definována absencí nebo přítomností vzdáleného šíření nebo metastáz, obvykle v místech, kam se rakovina šíří cévními cestami nebo lymfatickými cestami mimo uzliny (Amin et al., 2016.)

Příklad využití klasifikace tumoru je znázorněn v následujících kapitolách – kazuistika rakoviny slinivky břišní.

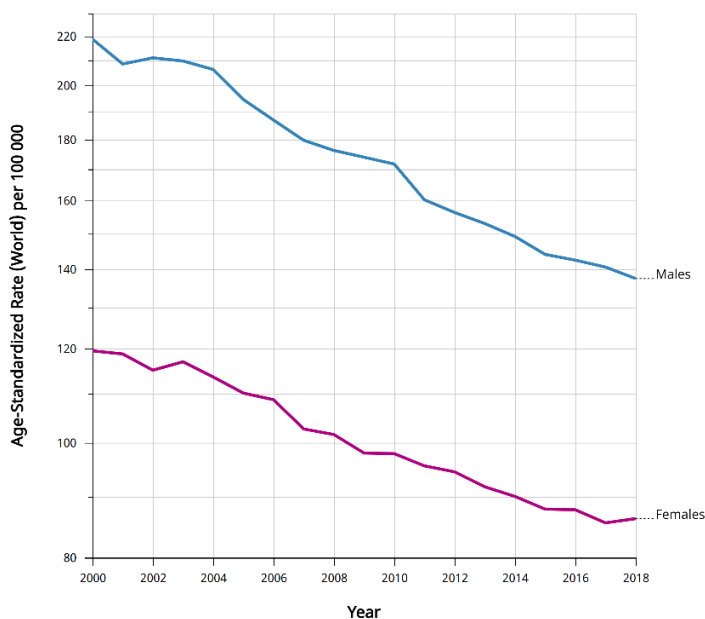
1.6 Metody léčby nádorových onemocnění

Protokol léčby maligního nádoru závisí na mnoha faktorech, především na lokalizaci a původu nádoru. Národní síť pro komplexní léčbu rakoviny (National Comprehensive Cancer

Network®, NCCN) zveřejňuje protokoly pro léčbu rakoviny v závislosti na typu nádoru. Každý z těchto protokolů podrobně popisuje doporučení a postup léčby, který mohou lékaři použít. Mezi oficiálně doporučované léčebné postupy patří chirurgický zákrok, ozařování a systémová léčba, včetně chemoterapie, cílené léčby, hormonální léčby a imunoterapie (Miller et al., 2022).

Česká republika má vlastní příručku Modrá kniha, kterou vydává Česká onkologická společnost. Ve své každoroční aktualizaci uvádí doporučené protokoly pro léčbu různých typů rakoviny, a to v závislosti na stadiu onemocnění. Více informací naleznete na webových stránkách Linkos.cz (<https://www.linkos.cz/lekar-a-multidisciplinari-tym/personalizovana-onkologie/modra-kniha-cos/aktualni-vydani-modre-knihy/>).

Díky rozvoji diagnostiky a léčby se úmrtnost na nádorová onemocnění snižuje (obr. 3). Obrázek 3 ukazuje statistiku úmrtnosti na nádorová onemocnění v České republice v období 2000-2018. Zobrazená statistika odpovídá závislosti úmrtí na 100 tisíc obyvatel v čase. Modrá čára představuje úmrtnost mužů, fialová čára úmrtnost žen.



Obrázek 3 Vývoj úmrtnosti na nádorová onemocnění v České republice v letech 2000 až 2018 (Ferlay et al., 2024).

Trend znázorněný na obr. 3 je optimistický, nicméně úmrtnost na toto onemocnění je stále vysoká. Proto je potřeba, aby vědci hledali nové alternativy a rozvíjeli stávající metody, které by pacientům poskytly potřebnou péči. V následující části se blíže podíváme na jednu z nejslibnějších oblastí léčby rakoviny - onkolytickou viroterapii.

2 ONKOLYTICKÁ VIROTERAPIE

2.1 Historie onkolytické viroterapie

Historie viroterapie jde ruku v ruce s historií onkologie a molekulární genetiky. Objevy v jedné oblasti doplňují a pomáhají v rozvoji druhé.

První zmínky o viroterapii pro léčbu rakoviny pocházejí z konce devatenáctého století, kdy byl zaznamenán pozitivní účinek a zmírnění dalších bolestivých stavů u pacientů s hepatitidou. Následovala řada studií pacientů s Hodgkinovou chorobou a výzkumy viru hepatitidy B, adenoviru a viru příušnic. Jednou z nejrozsáhlejších studií té doby byla klinická studie Asady Terua (Asada, 1974; Okuno et al., 1977) o léčbě 18 typů nádorů pomocí viru příušnic. Tato kontroverzní studie vyvolala euforii kvůli svým kontroverzním výsledkům.

V roce 1948 bylo možné kultivovat lidské buňky *ex vivo*, což zase dalo nový impuls ke studiu virů. Mooreová jako první použila model *in vivo* k testování onkolytických virů na rakovinných buňkách přímo na hlodavcích. Její výzkum v roce 1949 ukázal, že virus dálnévýchodní encefalidity dokáže selektivně vyhledávat a ničit rakovinné buňky v živém zvířeti.

Dekódování DNA a rozvoj technologie rekombinantní DNA rovněž urychlily rozvoj virového inženýrství a viroterapie. Na počátku 90. let 20. století byl vývoj virů v plném proudu a zaváděla se genová terapie na bázi virů k léčbě těžké kombinované imunodeficiencie selhání jater, hemofilie a dalších onemocnění. V současné době výzkum stále pokračuje, takže většinu virů lze nyní adaptovat nebo upravit tak, aby se eliminovala jejich patogenita, aniž by se zničila jejich onkolytická aktivita (Kelly, Russell, 2007).

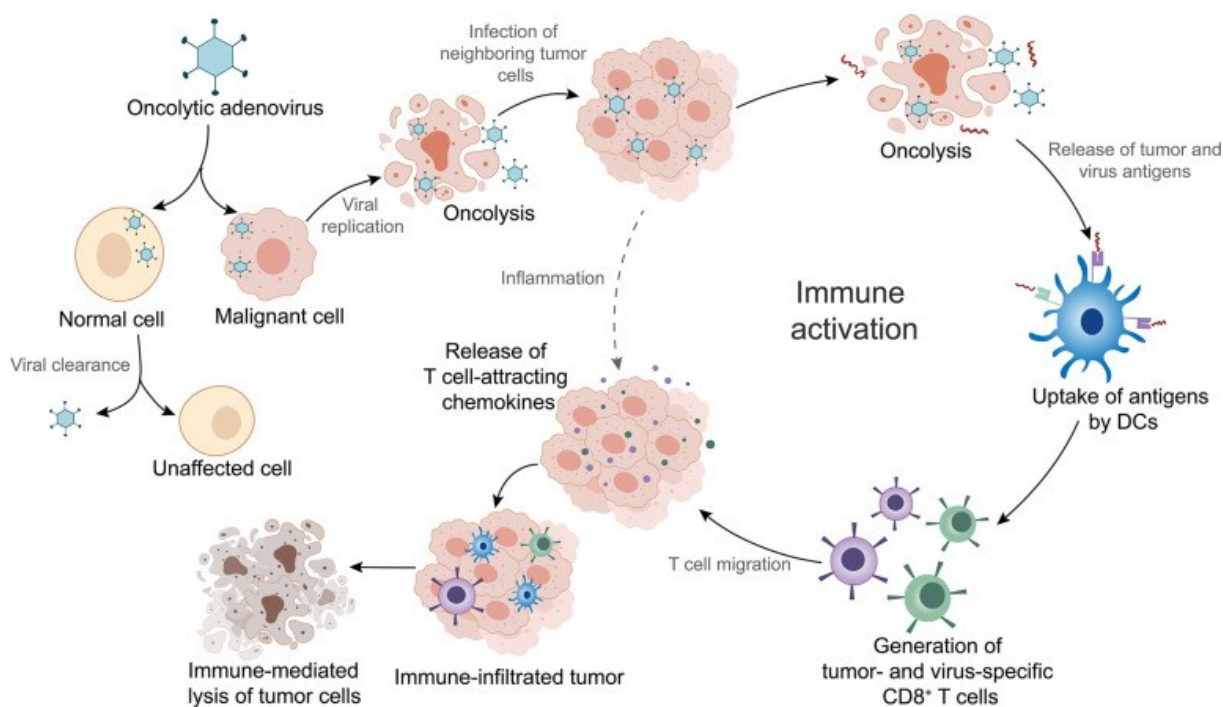
2.2 Definice onkolytické viroterapie

Onkolytická viroterapie je nový terapeutický přístup k léčbě rakoviny. Využívá viry schopné replikace, které se selektivně replikují v nádorových buňkách a lyzují je, přičemž normální buňky zůstávají nepoškozené. Během vývoje rakovinné buňky nahromadí mnoho mutací, které způsobují nekontrolovaný růst. Právě tyto mutace slouží jako detektor pro přírodní nebo geneticky upravené onkolytické viry (OV). Mechanismus působení OV na buňky umožňuje nejen ničit již vzniklé nádorové buňky, ale také zabránit vzniku nových. (Chaurasiya et al., 2018)

2.3 Princip onkolytické viroterapie

Mechanismus účinku onkolytických léčiv (obr. 4) je podobný u všech virů. Klíčovým aspektem je indukce imunogenní buněčné smrti, která zabraňuje nádorovým buňkám "schovat se" před

lidským imunitním systémem (Prestwich et al., 2009). Buňky infikované virem uvolňují molekuly vyvolávající poškození (DAMP), jako jsou HMGB1, proteiny tepelného šoku (HSP), proteiny intracelulární matrix, DNA, ATP, kyselina močová nebo heparin sulfát. Viry indukovaná onkolýza zároveň vede k apoptóze, nekróze, nekroptóze, pyroptóze nebo autofagii, které následně spouštějí uvolňování molekul PAMP (pathogen-associated molecular pattern) (Cervera-Carrascon et al., 2019; Cunliffe et al., 2020). Tyto částice stimulují vrozený imunitní systém a přitahují antigen prezentující buňky. Tímto způsobem jsou nerozpoznané nádorové buňky rozpoznány imunitním systémem pacienta. Takto onkolytické viry působí na buňky multimodálně: vyvolávají lokální zánět, šíří virus, ničí mikroprostředí nádoru a uvolňují nádorové antigeny. To následně vyvolá systémovou protinádorovou odpověď, která vede k úplné eradikaci nádoru (Mantwill et al., 2021).



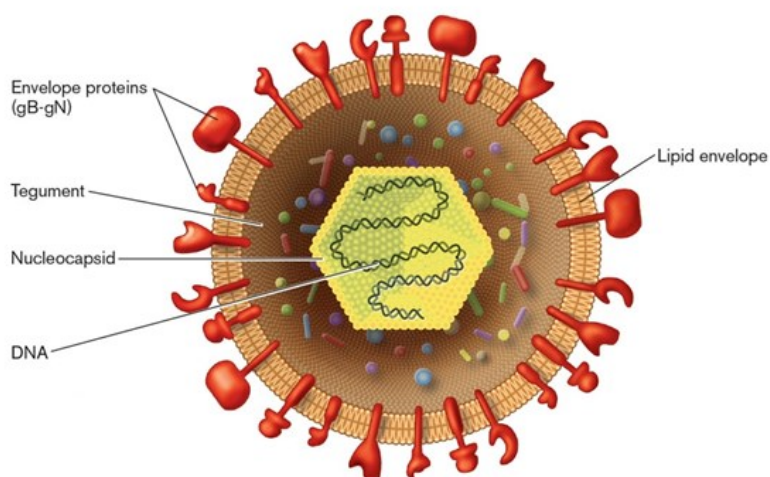
Obrázek 4 Schématické znázornění mechanismu působení onkolytických adenovirů v imunoterapii rakoviny (Zhao et al., 2021)

2.4 Viry používané v onkolytické viroterapii

2.4.1 Herpes virus

Viry Herpes simplex typu 1 (obr. 5) a typu 2 patří do čeledi Herpesviridae a podčeledi Alphaherpesvirinae (Davison, 2010). Hovězí herpesvirus 4 (BoHV-4) – virus, izolovaný ze zdravého skotu i ze zvířat s různými onemocněními. V posledních letech se tento virus ukázal

jako slibná vakcína proti BoHV-1, viru bovinního virového průjmu, viru katarální horečky ovcí, viru Nipah, viru Ebola a viru malého moru malých přežvýkavců (Bilge-Dagalp et al., 2021).



Obrázek 5 Struktura viru Herpes simplex typ 1 (Aryal, 2024)

Kromě léčby zvířat byly zjištěny indikace pro použití BoHV-4 u lidí. Studie z roku 2010 zkoumala bezpečnost BoHV-4 při léčbě gliomu mozku. Byla testována selektivita viru k nádorovým buňkám gliomu a jeho bezpečnost jak *in vitro*, tak *in vivo*. Výsledky ukázaly schopnost infikovat gliomové buňky *in vitro*, a to jak imortalizované buněčné linie, tak primární kultury, nepatogenitu *in vivo* a afinitu ke gliomovým buňkám *in vivo* (Redaelli et al., 2010). Tyto aspekty byly klíčové pro využití BoHV-4 jako onkolytické terapie, ale bohužel od roku 2012 nebyl v této oblasti proveden žádný další výzkum.

2.4.2 Parvovirus

H-1PV patří do čeledi Parvoviridae, rodu Protoparvovirus, který byl poprvé objeven Toolanem a jeho kolegy koncem 50. let 20. století při adventivní infekci lidské hepatomové buněčné linie Hep-1 (Toolan et al., 1960). H-1PV je jedním z nejmenších známých virů s průměrem 25 nm. Kapsida viru H-1PV obsahuje lineární jednořetězcovou molekulu DNA o délce přibližně 5100 bází (Bretscher a Marchini, 2019).

První klinické použití H-1PV k léčbě rakoviny v roce 1965 ukázalo, že léčba H-1PV je bezpečná, i když při určitých režimech léčby nezměnila průběh rakoviny u pacientů (Toolan a kol., 1965). Tyto studie byly základem pro zahájení klinické studie fáze I/IIa (nazvané ParvOryx) v roce 2011 s použitím H-1PV k léčbě pacientů s recidivujícím glioblastomem.

Studie prokázala, že monoterapie H-1PV je bezpečná a obecně dobře snášená (Angelova a Rommelaere, 2019).

Ve druhé klinické studii (ParvOryx02) z roku 2015 byl H-1PV použit k léčbě pacientů s PTC. Výsledky studie uvedené v roce 2021 ukázaly dobrou toleranci virového agens bez jakýchkoliv přidružených klinických projevů. Jedinou nežádoucí reakcí bylo přechodné zvýšení sérových hladin C-reaktivního proteinu u čtyř ze sedmi pacientů (Hajda et al., 2021). Další studie jsou zveřejněny na webových stránkách společnosti ORYX GmbH & Co.KG (<https://www.oryx-medicine.com/pipeline#parvoryx>), včetně aktualizací a nových strategií v používání onkolytických léčiv.

2.4.3 Reovirus

Viry z čeledi Reoviridae jsou obalené dvouřetězcové RNA viry o průměru 85 nm se dvěma koncentrickými ikosaedrickými proteinovými kapsidami. Genom viru se skládá z 23,5 tisíce bp dsRNA rozdělených do deseti segmentů.

V současné době jsou známy tři sérotypy orthoreoviru savců: Langův typ 1, Jonesův typ 2 a Abneyho a Dearingův typ 3 (Müller et al., 2020). Posledně jmenovaný kmen viru používá společnost Oncolytics Biotech® Inc. ve formě léku s názvem Pelareorep (REOLYSIN®). V současné době je k dispozici mnoho studií o použití tohoto léku k léčbě různých typů rakoviny, jako jsou: sarkomy kostí a měkkých tkání, gliomy, mnohočetný myelom, metastazující adenokarcinom slinivky břišní, rakovina močového měchýře, dlaždicobuněčný karcinom hlavy a krku, nemalobuněčný karcinom plic, metastazující nebo recidivující dlaždicobuněčný karcinom plic a metastazující karcinom tlustého střeva. Dokončené studie si můžete prohlédnout na adrese www.clinicaltrials.gov.

Nejnovější informace o probíhajících studiích jsou k dispozici také na webových stránkách společnosti Oncolytics Biotech® Inc. (<https://oncolyticsbiotech.com/our-science/>). Firma má v rámci testování onkolytických vektorů REOLYSIN® v současnosti k dispozici tři hlavní vektory – BRACELET-1 a AWARE-1 pro rakovinu prsu a GOBLET pro rakovinu trávicího traktu.

BRACELET-1 (NCT04215146) je zaměřen na zkoumání protinádorového účinku Pelareorep v kombinaci s chemoterapií a avelumabem při léčbě rakoviny prsu. Randomizovaná studie fáze 2 s použitím intravenózního onkolytického viru Pelareorep v kombinaci s paklitaxelem prokázala statisticky významné zlepšení celkového přežití z 10,4 měsíce při použití samotného

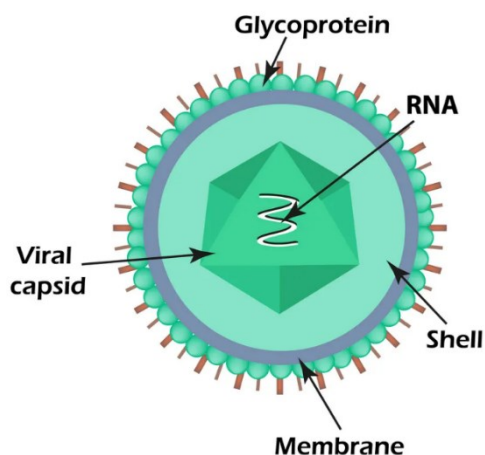
paklitaxelu na 17,4 měsíce při použití přípravku Pelareorep + paklitaxel u pacientů s metastazujícím karcinomem prsu (Miller et al., 2021).

Cílem studie AWARE-1 (NCT04102618) je rovněž zjistit možné přínosy v léčbě karcinomu prsu. Konkrétně se jedná o změny v klonalitě T-buněk při použití atezolizumabu a onkolytického viru Pelareorep u časného karcinomu prsu. Průběžné výsledky naznačují pozitivní trend zprostředkovaný primingem imunitní odpovědi založené na T-buňkách (Manso et al., 2020).

Vektor GOBLET zkoumá využití onkolytického léčiva REOLYSIN pro mono- a kombinovanou terapii rakoviny trávicího traktu se zaměřením na adenokarcinom pankreatu. Pacienti s lokálně pokročilým/metastatickým neresekabilním adenokarcinomem byli léčeni Pelareorepem, atezem a gemcitabinem/nab-paklitaxelem. Podle předběžných výsledků mělo 7 z 10 pacientů částečnou odpověď v 8. týdnu nebo později a 2 pacienti měli stabilní průběh onemocnění. Výsledky prvních tří pacientů s částečnou odpovědí, a konkrétně změny v repertoáru T-buněk, budou dále hodnoceny jako možné biomarkery odpovědi na léčbu (Collienne et al., 2022).

2.4.4 Coxsackievirus

Coxsackieviry jsou několik příbuzných sérotypů enterovirů, které způsobují řadu závažných lidských onemocnění, včetně myokarditidy a meningoencefalitidy (Sin et al., 2015). CVA21, člen čeledi Picornaviridae, je neobalený virus s jednořetězcovým genomem RNA uzavřeným v ikosaedrické kapsidě (obr. 6). Onkolytický virus CVA21 vyvíjí společnost Viralytics Limited a je testován pod názvem CAVATAK™. V současné době probíhají studie pro léčbu různých malignit včetně melanomu, mnohočetného myelomu, rakoviny prsu, plic a prostaty (Bradley et al., 2014). Nedávné studie ukazují slibné využití přípravku CAVATAK™ při léčbě rakoviny močového měchýře a melanomu.



Obrázek 6 Struktura Coxsackieviru (Mikrostoker, 2024)

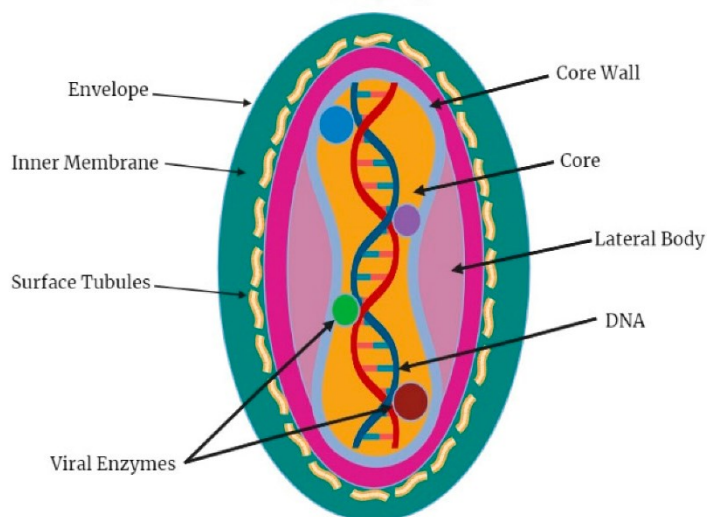
Klinická studie ve druhé fázi v roce 2019 hodnotila aktivitu onkolytického viru CVA21 u pacientů s neresekovatelným melanomem ve stadiu IIIC nebo IV (NCT01227551). Během 127 dní monoterapie dostávali pacienti intratumorální injekce, kdy odpověď a stav nádorů byly měřeny pomocí různých typů zobrazovacích metod spolu se sledováním sérových hladin V937 a titrů protilátek proti V937. Na základě výsledků šestiměsíční a roční analýzy byl potvrzen závěr, že testovaný přípravek je bezpečný a nezpůsobuje pacientům výrazné potíže. V současné době je přípravek CAVATAK™ testován s využitím inhibitorů kontrolních bodů imunitního systému (Andtbacka et al., 2021).

Další studie s názvem CANON [CAVATAK in Non-Muscle Invasive Bladder Cancer] hodnotila použití onkolytického léčiva CAVATAK™ u pacientů s karcinomem močového měchýře (NCT02316171). Z 15 pacientů s primárním karcinomem močového měchýře dostávalo 9 pacientů intravezikální monoterapii přípravkem CAVATAK™ a zbývajících 6 pacientů dostávalo přípravek CAVATAK™ se subterapeutickou dávkou mitomycinu C. Cílem bylo zjistit bezpečnost pacientů a maximální tolerovanou dávku, jakožto i průkaz virové replikace, indukce zánětlivých cytokinů, protinádorové aktivity a změn vyvolaných virem v resekované tkáni. Z výsledků byla pozorována indukce zánětu a krvácení z nádoru a u 1 pacienta došlo k úplnému vymizení nádoru. Vzhledem k přijatelnému bezpečnostnímu profilu onkolytického léčiva CAVATAK™ lze o něm potenciálně uvažovat jako o novém terapeutickém prostředku pro léčbu karcinomu močového měchýře (Annels et al., 2019).

2.4.5 Myxomavirus

Myxoma virus (MYXV), zástupce rodu Leporipoxvirus a čeledi Poxviridae DNA virů, má poměrně velký genom, který kóduje 171 genů (obr. 7) (Cameron et al., 1999). V přírodě virus

infikuje králíky a způsobuje smrtelné onemocnění mexomatóza u domácích králíků (Stanford et al., 2007). Po potvrzení jeho biologické bezpečnosti pro člověka byl MYXV zkoumán pro použití jako onkolytické léčivo.



Obrázek 7 Struktura Myxomaviru (Kumar et al., 2023)

Studie na zvířecích modelech pro léčbu malobuněčného karcinomu plic, karcinomu vaječníků, karcinomu močového měchýře, melanomu, mnohočetného myelomu a glioblastomu prokázaly prodloužení celkové doby přežití u myši při mono- nebo kombinované léčbě (Rahman a McFadden, 2020). Jedná se o slibný vektor, který je třeba ještě potvrdit studiiemi na dalších zvířecích a lidských modelech.

2.4.6 Echoviruses

Do skupiny echovirů patří onkolytický virus Riggvir (čeleď Picornaviridae, rod Enterovirus). RIGVIR® nebo ECHO-7 je přirozeně se vyskytující virus vybraný a upravený pro léčbu melanomu. Virus byl původně izolován z gastrointestinálního traktu zdravých dětí. RIGVIR® je první onkolytický virus registrovaný a schválený v Lotyšsku od roku 2004. Jako imunomodulátor s protinádorovým účinkem se používá také v zemích, jako je Gruzie, Arménie a Uzbekistán. Lék se podává intramuskulární injekcí v titru nejméně 10⁶ TCID₅₀/ml v roztoku chloridu sodného (Alberts et al., 2018).

V rámci preklinických studií byly provedeny experimenty na buněčných liniích FM-9, RD, AGS, A549, HDFa, HPAF-II, MSC, MCF7, HaCaT a Sk-Mel-28. Cytolytický účinek a životaschopnost byly měřeny pomocí zobrazování živých buněk a průtokové cytometrie.

Podle výsledků RIGVIR® *in vitro* snižuje životaschopnost buněk lidského melanomu, rhabdomyosarkomu, adenokarcinomu žaludku, karcinomu plic a adenokarcinomu pankreatu, nikoli však buněk SCC. Tyto studie jsou povzbudivé pro využití onkolytického ECHO-7 nejen pro léčbu melanomu kůže, ale také pro studium onkolytických vlastností u jiných typů nádorů (Tilgase et al., 2018).

Při studiu účinku viru ECHO-7 na buněčné linie uveálního melanomu byly použity buněčné linie MP38, MP65, MP41, MP46, MM28, 92-1 a Mel-202. Po kultivaci buněk byl aplikován virus RIGVIR® č. B1417R, 106 TCID₅₀/ml, ve dvou koncentracích 1 % a 10 % (v/v). Proliferace buněk byla sledována po dobu 96 hodin pomocí systému pro zobrazování živých buněk. Výzkumníci pozorovali snížení proliferace buněk uveálního melanomu *in vitro*. Výsledky potvrdily cytolytický účinek přípravku RIGVIR® na buněčné linie lidského uveálního melanomu MP41, Mel-202 a 92-1 (Tilgase et al., 2020).

Více informací o studiích a výrobě viru RIGVIR® ECHO-7 naleznete na webových stránkách skupiny Rigvir (<https://www.rigvir.com/>).

2.5 Geneticky modifikované onkolytické viry

2.5.1 Herpes virus

T-VEC (Talimogen Laherparepvec) je modifikovaný onkolytický virus, který byl vybrán pro svou *in vitro* onkolytickou aktivitu proti řadě nádorových buněčných linií. Tento virus byl dále geneticky modifikován odstraněním dvou genů. Delece ICP 34.5, který kóduje neurovirulentní faktor, zlepšila selektivní replikaci nádorových buněk. Delece genu ICP47, který kóduje virový inhibitor vazby peptidů na hlavní histokompatibilní komplex (MHC). Díky tomuto genu může virus zabránit detekci imunitním systémem. Kromě toho byly do genomu viru vloženy dvě kopie genů pro lidský faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů (GM-CSF). To podporuje nábor a aktivaci dendritických buněk po vstřebání antigenů z lyzujících nádorových buněk. Talimogen Laherparepvec (T-VEC; Imlygic™) byl prvním onkolytickým preratem schváleným pro použití k léčbě rakoviny, zejména u inoperabilních melanomů (Andtbacka et al, 2015; Liu et al., 2003).

V současné době probíhá několik klinických studií přípravku Talimogene Laherparepvec. Ve třetí fázi studie dostalo 436 pacientů s pokročilým nebo metastazujícím melanomem T-VEC nebo geneticky upravený onkolytický podkožní faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů (GM-CSF) v poměru dvě ku jedné. Klinické výsledky ukázaly zlepšení míry trvalé odpovědi (16,3 vs. 2,1 %), celkové míry odpovědi (26,4 vs. 5,7 %) a mediánu přežití (23,3 vs.

18,9 měsíce) u pacientů s nechirurgický resekabilním melanomem, kteří dostávali T-VEC vs. GM-CSF. Došlo také k regresi 34 % neinjekčních neviscerálních a 15 % viscerálních nádorů. Tyto studie však byly kritizovány kvůli výběru kontrolní skupiny. Studie využívající větší počet pacientů, jiné kontrolní skupiny a kombinace s jinými léky stále probíhají (Andtbacka et al., 2016; Ferrucci et al., 2021). (ClinicalTrials.gov: NCT02263508)



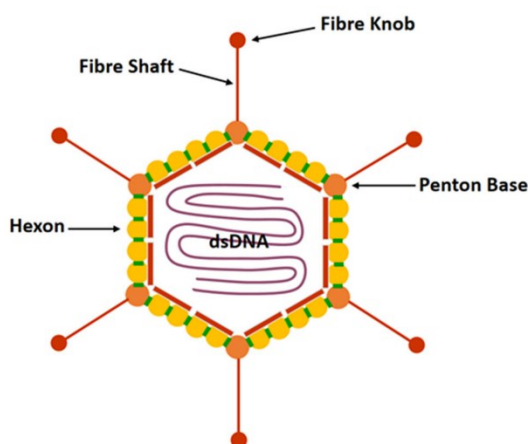
Obrázek 8 Regrese melanomu pod vlivem Talimogene Laherparepvec (Zdzienicki et al., 2021)

Na Obr. 8 znázorněný případ T-VEC léčby neresekovatelné lokoregionální recidivy po imunoterapii. Můžeme pozorovat výrazné zmenšení postižené oblasti po injekcích vstříknutých přímo do zóny melanomu (Zdzienicki et al., 2021).

Dalším příkladem geneticky modifikovaného viru je G47 Δ (DELYTACT®). Jedná se o HSV-1 třetí generace, který byl vytvořen zavedením dodatečné delece části genu α 47. To umožnilo částečně obnovit funkce genu γ 34.5 a v důsledku toho posílit replikaci viru v nádorových buňkách. Delece také způsobuje oslabení viru ve zdravých buňkách, ale zvyšuje stimulaci protinádorové imunitní odpovědi. G47 Δ je v současné době testován pro léčbu gliomu a byla také prokázána jeho účinnost u řady solidních nádorů (Todo et al., 2022).

2.5.2 Adenovirus

Adenoviry (HAdV) jsou obalené viry o velikosti 90 nm a ikosaedrickém (eikosí, dvacet; hédra, místo) tvaru s lineárním, neintegrovaným dsDNA genomem o velikosti 30-38 kb v závislosti na sérotypu (obr. 9) (Wold a Toth, 2014). HAdV patří do rodu Mastadenovirus (mastós, mléčná žláza) a dělí se na sedm druhů, označovaných písmeny A až G, s podtypy B1 a B2 (Robinson et al., 2011; Liu et al., 2011).



Obrázek 9 Struktura Adenoviru (Yang et al., 2022)

Nejvíce studovanými virologickými léky využívajícími adenovirus jsou Oncorin a CG0070. Oncorin je prvním virologickým lékem schváleným úřady pro léčbu v Číně. Tento lék se používá v kombinaci s chemoterapií k léčbě karcinomu nosohltanu. Projekt vývoje tohoto léku byl zahájen v roce 1998 a po třech fázích klinických zkoušek byl oficiálně schválen v roce 2005. Oncorin je svou konstrukcí podobný přípravku ONYX-015, oba mají delecí E1B-55kD, ale Oncorin má navíc delecí genu E3. Tento gen může vyvolat apoptózu buněk a omezit tak replikaci viru, takže jeho delece činí Oncorin bezpečnějším a účinnějším (Liang, 2018).

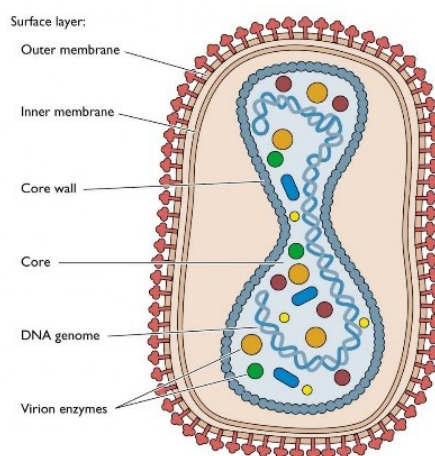
CG0070 je další perspektivní onkolytický lék využívající adenoviry. Cold Genesys je již ve fázi II studie u pacientů s neinvazivním nesvalovým karcinomem močového měchýře, kteří nereagovali na Bacillus Calmette-Guérin. Po řadě studií s použitím léku jako monoterapie bylo rozhodnuto podávat lék v kombinaci s nivolumabem (Opdivo) nebo inhibítorem kontrolních bodů pembrolizumabem. Nicméně studie vlivu CG0070 jako monoterapie stále probíhají a některé z nich jsou již ve fázi 3 klinických zkoušení (Burke et al., 2012; Packiam et al., 2018; Li et al., 2022).

Dalším selektivně modifikovaným adenovirem obsahujícím mutace p53 je již zmíněný ONYX-015. Tento lék vyvíjela společnost Onyx Pharmaceuticals pro potenciální léčbu různých solidních nádorů, včetně nádorů hlavy a krku, gastrointestinálního traktu a pankreatu (Ries a Korn, 2002). Poslední vědecké práce pocházejí z počátku roku 2000 a v současné době lze mezi dokumenty na ClinicalTrials.gov nalézt pouze jednu studii, která však byla v roce 2013 odvolána (NCT00006106). ONYX-015 byl prvním lékem, který prokázal bezpečnost adenovirů jako nové protinádorové léčby. Tyto výsledky také inspirovaly výzkum a vývoj nových onkolytických virů v Číně (Liang, 2018).

Dalším lékem, který stojí za zmínku, je rekombinantní adenovirus TP53 (komerční název Gendicine®) vyráběný čínskou společností SiBiono GeneTech Co., Ltd (<http://www.sibiono.com/en/productinfo.aspx?Cateid=87>). Tento rekombinantní virus má odstraněnou oblast E1 a místo ní obsahuje expresní kazetu TP53 divokého typu. Gendycin je v Číně schválen pro léčbu lidského spinocelulárního karcinomu hlavy a krku od roku 2003 (Qi et al., 2024).

2.5.3 Vaccinia virus

Virus Vaccinia patří do rodu ortopoxvirů z podčeledi Chordopoxvirinae. Jedná se o DNA virus s genomem o délce 192 kb, který kóduje přibližně 200 genů (obr. 10). Tento virus se již léta používá jako vakcína proti pravým neštovicím a výzkumem byla potvrzena bezpečnost použití tohoto viru při léčbě rakoviny (Thèves et al., 2016). Kromě nízké míry nežádoucích účinků má tento virus ještě jednu klíčovou vlastnost, která z něj činí vhodného kandidáta pro léčbu, a to jeho životní cyklus. Na rozdíl od jiných DNA virů zůstává virus Vaccinia v cytoplazmě buňky po celou dobu infekčního cyklu (Mondal et al., 2020).



Obrázek 10 Struktura Vaccinia viru (Harrison et al., 2004)

Nejznámějším lékem založeným na viru Vaccinia je Pexastimogene devacirepvec (Pexa-Vec, JX-594). Vyvíjí a testuje ho francouzská společnost Transgene, Inc (<https://www.transgene.fr/en/>) a korejská společnost SillaJen, Inc (<http://www.sillajen.com/eng/>). Mezi provedenými genovými modifikacemi je odstranění thymidinkinázy, enzymu v prekurzorové dráze DNA, což zvyšuje nádorovou specifitu přípravku Pexa-Vec. Byly také vloženy dva fragmenty genů GM-CSF a lac-Z, které mají vyvolat systémovou protinádorovou imunitní odpověď (Parato et al., 2012). V současné době probíhají studie fáze 1 a 2 pro léčbu kolorektálního karcinomu, hepatocelulárního karcinomu, renálního karcinomu, melanomu a karcinomu plic.

V nejnovější studii (NCT03206073) byl přípravek Pexa-Vec podáván každé 2 týdny pacientům s histologicky potvrzeným pokročilým metastazujícím kolorektálním karcinomem, u kterých došlo k progresi po nejméně dvou předchozích liniích systémové chemoterapie. Po dobu 12 dnů dostávali pacienti buď 1500 mg durvalumabu každých 28 dnů samostatně, nebo další jednorázovou dávku 300 mg tremelimumabu 1. den. Výzkumníci se zaměřili na profil bezpečnosti a proveditelnosti léku a inhibici buněčné aktivity. Výsledky prokazují bezpečnost a snášenlivost kombinované léčby. Přestože kombinace přípravku Pexa-Vec s durvalumabem nebo tremelimumabem prokázala u pacientů potenciální klinickou aktivitu, je třeba provést další studie k identifikaci prognostických biomarkerů (Monge et al., 2023).

Dalším onkolytickým lékem je Olvi-Vec (Olvimulogen Nanivacirepvec, známý také jako GL-ONC1, laboratorní název: GLV-1h68), který vyvinula společnost Genelux Corporation (<https://genelux.com/>). Virus GLV-1h68 byl odvozen z kmene viru Listerovy vakcíny. Za tímto účelem byl do lokusu F14.5L vnesen gen pro luciferázu a zelený fluorescenční protein, do lokusu TK gen pro beta-galaktosidázu E. coli a do virového lokusu HA gen pro glukuronidázu E. coli (Zhang et al., 2007). Studie profilu bezpečnosti a účinnosti probíhají od roku 2000 a ukázaly povzbudivé výsledky na zvířecích modelech pro léčbu řady typů nádorů, včetně rakoviny prsu, slinivky břišní a vaječnicků (Yu et al., 2009; Zhang et al., 2007). V současné době se společnost Genelux zaměřuje na studie přípravku Olvi-Vec pro léčbu rakoviny vaječnicků. Cílem studie (NCT05281471), která zahájila nábor v roce 2023, je vývoj a testování přípravku Olvi-Vec u pacientek s karcinomem vaječnicků rezistentním/refrakterním na platinu. V této studii budou vědci hodnotit účinnost Olvimulogen Nanivacirepvec, který má silný imunomodulační účinek na mikroprostředí nádoru, v kombinaci s následnou chemoterapií na bázi platiny a bevacizumabem. Výsledky této studie ve třetí fázi jsou očekávány v roce 2025 (Holloway et al., 2023).

2.5.4 Seneca Valley virus

Virus Seneca Valley (SVV-001 nebo NTX-010) je obalený virus z čeledi Picornaviridae, který byl izolován v roce 2002 ve Spojených státech. Jedná se o malý RNA virus (27-30 nm) s genomem 7280 bp, který se replikuje prostřednictvím meziprojektu RNA a není schopen integrace do genomu hostitele. Genom je modifikován na obou stranách: na 5' konci je kovalentně připojen virový protein VPg a na 3' konci je připojen poly(A) ocásek. Tyto modifikace a vlastnost genomu umožňují translaci RNA způsobem nezávislým na kapsidě (Hales et al., 2008).

Studie *in vivo* SVV-001 na zvířecích modelech ukázaly zajímavé výsledky. SVV-001 byl injikován myším s rhabdomyosarkomem, neuroblastomem, GBM, meduloblastomem nebo retinoblastomem, což vedlo k indukci růstu nádorových buněk a v některých případech k eradikaci nádoru (Liu et al., 2013; Yu et al., 2010).

Povzbudivé výsledky studií *in vivo* daly podnět ke klinickým zkouškám. Nejvýznamnější výsledky lze pozorovat u pacientů s pokročilým nemalobuněčným karcinomem plic a u dětských nádorů. Ve studii SVV-001 byly pacientům (ve věku ≥ 3 až ≤ 21 let) s neuroblastomem, rhabdomyosarkomem nebo vzácnými nádory s neuroendokrinními příznaky podávány různé dávky léku a byly kombinovány s cyklofosfamidem (NCT01048892). Studie dospěla k závěru, že přípravek NTX-010 je dobře snášen a nevyvolává nežádoucí účinky v monoterapii ani v kombinaci s cyklofosfamidem (Burke et al., 2015).

2.5.5 Poliovirus

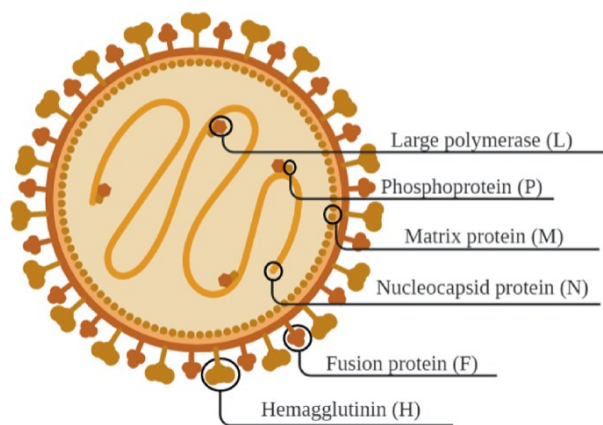
Mezi polioviry rozlišujeme jednu geneticky modifikovanou chiméru PVSRIPO (Poliovirus Sabin Rhinovirus IRES Polio ORF), obchodní název Lerapolturev, která patří do čeledi Picornaviridae. Jedná se o jednovláknový DNA virus s ikosaedrickou kapsidou o průměru 25 nm (Marchini et al., 2015). Onkolytický PVSRIPO byl odvozen nahrazením původního vnitřního vstupního místa ribozomu z lidského rhinoviru sérotypu 2. Toto vstupní místo způsobuje neuronální inkompetenci – virus není schopen využít hostitelské ribozomy a replikovat se v neuronech (Gromeier et al., 1996).

V současné době je společnost Istari Oncology, Inc. (<https://www.istarioncology.com/>) lídrem ve výzkumu onkolytických poliovirů. Společnost má tři hlavní výzkumné vektory: léčba recidivujícího glioblastomu (NCT02986178 a LUMINOS-101 (NCT04479241)), melanomu (LUMINOS-102 (NCT04577807)) a neinvazivního karcinomu močového měchýře (LUMINOS-103 (NCT04690699)). První výsledky studií glioblastomu ukazují dobrou

snášelnivost a zvýšenou míru přežití při použití v monoterapii nebo v kombinaci s pembrolizumabem (Sloan et al., 2021; Desjardins et al., 2021).

2.5.6 Measles virus

Z čeledi Paramyxoviridae můžeme vyčlenit virus spalniček, který je potenciálním onkolytickým léčivem. Tento virus je jednořetězcový RNA virus s genomem o 15 894 nukleotidech (obr. 11) (Bourhis et al., 2005).



Obrázek 11 Struktura Measles viru (Nascimento et al., 2021)

Existují dvě geneticky modifikované varianty viru spalniček – MV-CEA a MV-NIS. MV-CEA byl zkonstruován genetickou expresí lidského karcinoembryonálního antigenu a MV-NIS byl zkonstruován expresí lidského jodidového symportéru sodného. V současné době probíhá několik studií, které testují použití onkolytických virů pro léčbu rakoviny vaječníků, glioblastomu, mnohočetného myelomu, mezoteliomu, rakoviny hlavy a krku, rakoviny prsu a malignit periferních nervových pochev (Mondal et al., 2020). Například poslední studie se týkala použití MV-NIS u pacientů s SCC močového měchýře (NCT03171493). Pacienti dostali intravezikální dávku MV-NIS týden nebo 2 týdny před radikální cystektomií. Vzorky nádoru byly analyzovány před léčbou a po ní. Výsledkem byl vysoký výskyt snížení stádia nádoru a patologie pT0 v kombinaci s významným imunitním infiltrátem pozorovaným ve tkáni močového měchýře po léčbě, což svědčí o aktivitě a bezpečnosti léku (Naik et al., 2022).

Hlavní nevýhodou použití vakcíny založené na Measles viru je přítomnost protilátek proti spalničkám, které mohou interferovat se systémovým podáním viru (Russell et al., 2014). Proto se očekává, že další výzkum v této oblasti se bude zabývat bezpečností a aplikovatelností léčiva.

2.5.7 Další geneticky modifikované viry

2.5.7.1 Newcastle disease virus

Virus Newcastle disease (NDV) patří do rodu Avulavirus z podčeledi Paramyxovirinae čeledi Paramyxoviridae. Jedná se o jednovláknový RNA virus, který má spolu s obalem průměr přibližně 200-300 nm. Genom viru kóduje asi 15 200 nukleotidů v závislosti na kmeni viru (Samal, 2011).

Vlastnosti NDV z něj činí slibný vektor pro imunoterapii specifickou pro antimetastatickou aktivitu. Řada pokusů na zvířecích modelech prokázala, že geneticky modifikovaný virus zabraňuje metastatickému šíření nádorů (Heicappell a kol., 1986; Schild a kol., 1989). Poté byl výzkum přenesen na lidské buňky a byla vyvinuta autologní vakcína modifikovaná NDV z lidských nádorových buněk a testována její účinnost a bezpečnost (Schirmmacher et al., 2013; Schirmmacher, 2022). V současné době neprobíhá v této oblasti žádný další výzkum.

2.5.7.2 Vesicular stomatitis virus

Virus vezikulární stomatitidy patří do čeledi Rhabdoviridae a je to kulovitý virus o velikosti 100–400 nm. Tento RNA virus se skládá z 11kilobázového genomu, který kóduje pouze pět virových proteinů (Barber, 2004). Viry divokého typu byly testovány jako potenciální onkolytické léky, ale kvůli necílové toxicitě musely být provedeny genetické modifikace (Henao-Restrepo et al., 2015; Jenks et al., 2010). V současné době existuje několik kmenů modifikovaných virů. Genetické modifikace, které byly provedeny, zahrnují: nahrazení nebo mutaci proteinu G za účelem zacílení na povrchové receptory nádoru; modifikaci genu M za účelem snížení toxicity; nebo odstranění genu G za účelem vytvoření samostatných infekčních pseudovirů (Gao, 2024). Účinná lůžka nádorově specifických buněk pozorována v preklinických studiích podnítila vědce k dalšímu zkoumání tohoto vektoru a v současné době probíhá několik aktivních klinických studií s cílem zjistit účinnost viru vezikulární stomatitidy jakožto onkolytického činidla (ClinicalTrials.gov identifikátor: NCT03647163, NCT06265012 a NCT03865212) (Jenks et al., 2010).

2.6 Metody aplikace onkolytických léčiv

Při použití onkolytických léčiv hraje důležitou roli místo podání a následné doručení léčiva na určené místo. V této části se blíže podíváme na způsoby podání a jejich silné a slabé stránky.

2.6.1 Intratumorální (IT)

Intratumorální podání je jednou z nejčastěji používaných metod podání pro cílenou onkolytickou léčbu. Tato metoda má řadu výhod, například přesnou kontrolu koncentrace

léčiva a prevenci nežádoucích účinků v jiných orgánech (Fend et al., 2017; Bartee et al., 2017). Díky tomu je intratumorální metoda účinná pro léčbu lokálních nádorů. V současné době se používá u následujících typů rakoviny: melanom, retinoblastom, karcinom slinivky břišní, astrocytom, gliom, karcinom žaludku a kolorektální karcinom (Pascual-Pasto et al., 2019; Selman et al., 2018; Hirooka et al., 2018; Choi et al., 2018; O'Leary et al., 2018). Na druhou stranu má IT také určité nevýhody při léčbě hlubších lézí, což poměrně ztěžuje její použití *in vivo* (Komorowski et al., 2018; Selman et al., 2018).

2.6.2 Intravenózní (IV)

Další běžnou metodou aplikace je intravenózní injekce, kterou využívá mnoho vědců ve svém výzkumu. Tato metoda je vhodná v případech, kdy se nádor nachází v těžko dosažitelné oblasti (Hu et al., 2018). Tato metoda také zajišťuje rychlé doručení na požadované místo, což hraje důležitou roli v klinických studiích. Mezi nevýhody patří obtížné pronikání fyziologickými bariérami a eliminace onkolytických látek imunitním systémem. Je také třeba poznamenat, že pro zavedení onkolytického léčiva do cévního systému je nutná vysoká selektivita v cílových tkáních (Tang et al., 2019; Chen et al., 2017).

2.6.3 Intraperitoneální (IP)

Méně obvyklé metody zahrnují injekční aplikaci onkolytického léčiva do dutiny břišní. Tato metoda nevyžaduje zvláštní dovednosti, je snadno proveditelná a léčivo se vstřebává poměrně rychle. To z ní činí ideální volbu pro cílení na břišní orgány. Vzhledem k nízké účinnosti a úzkému rozsahu účinku se však tento způsob podání používá převážně v pokusech na zvířatech (Chen et al., 2017; O'Leary et al., 2018).

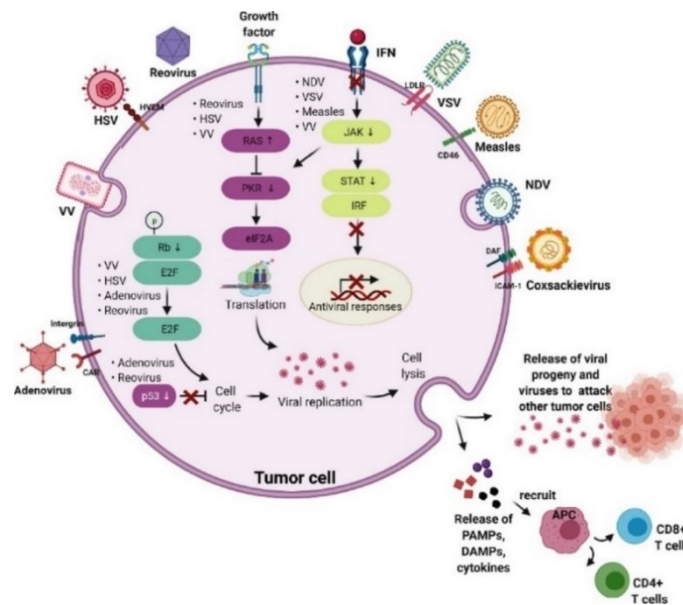
2.6.4 Další metody aplikace onkolytických léčiv

V literatuře jsou zmiňovány i další způsoby podání a doručení, například intratekální injekce a subkutánní injekce. Intratekální podání je omezeno na nervový systém a subkutánní podání bylo použito pouze u malých zvířat, kde je obtížné najít cévy. Vzhledem k jejich nízké účinnosti a úzkému rozsahu působení je jejich použití omezeno na zvířecí modely (Li et al., 2020).

2.7 Mechanismy nádorového tropismu

Důležitou otázkou při použití onkolytické viroterapie jsou mechanismy selektivity viru. Je nutné, aby viry selektivně infikovaly a ničily pouze nádorové buňky, a pokud by infikovaly zdravé buňky, tak by je ponechávaly nepoškozené. Mezi faktory, které ovlivňují selektivitu virů, patří mechanismus průniku virové částice do buňky. K tomuto účelu se využívají specifické receptorové cesty. Je známo, že nádorové buňky vysoce exprimují několik

jedinečných receptorů, na které se viry selektivně vážou a infikují buňky. Například intercelulární adhezní molekuly-1 (ICAM-1), které jsou vysoce exprimovány v nádorových buňkách, využívá k infekci virus Coxsackie (obr. 12) (Johansson et al., 2004).



Obrázek 12 Mechanismy vstupu virů do nádorových buněk (Abd-Aziz, Poh, 2021)

Mezi přístupy, které zajišťují specifčnost virové terapie, patří také využití aberantních signálních drah (obr. 12). Defekty v interferonových (IFN), p53 a retinoblastomových drahách, stejně jako indukce drah RAS/RAF/MEK/ERK, vedou ke ztrátě obranných mechanismů viru, a tím umožňují jeho replikaci (Guo et al., 2008). Za příklad může sloužit defekt interferonu. V normálních buňkách se po setkání s virem a jeho infekcí spustí mechanismus produkce specifických enzymů, které buňce pomohou zbavit se viru (například rozkladem virové RNA). U nádorových buněk s poškozeným IFN je však mechanismus odolnosti vůči virům zablokovan, což z těchto buněk činí příznivé prostředí pro replikaci virů. Tento mechanismus průniku využívají takové viry, jako Newcastle virus, virus vezikulární stomatitidy a Vaccinia virus (obr. 12) (Abd-Aziz, Poh, 2021).

2.8 Biologická bezpečnost onkolytických léčiv

Biologická bezpečnost hraje klíčovou roli při práci s onkolytickými viry a při vývoji nových léčiv. Týká se to nejen personálu a práce se samotným virem, ale především bezpečnosti pacientů a životního prostředí.

Zdravotničtí pracovníci vystavení působení onkolytických léčiv jsou rizikovou skupinou a zároveň infekce personálu může vést k virové rekombinaci. To představuje vysoké riziko vzniku patogenního transgenního viru způsobeného homologní rekombinací onkolytických a divokých virů (Yamaguchi a Uchida, 2018).

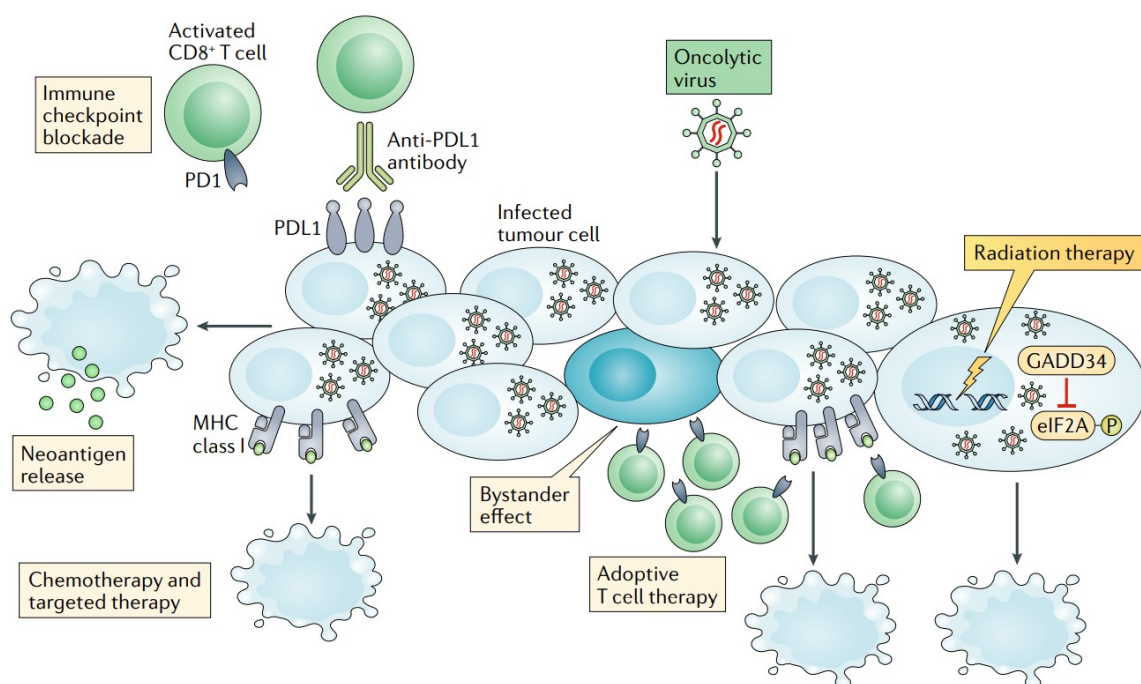
V roce 2020 Lizhi Li a kolektiv analyzovali 104 klinických studií a identifikovali nejčastější nežádoucí účinky, které pacienti po onkolytické viroterapii pociťovali. Nejčastějšími příznaky byly horečka, zimnice, myalgie, únava, nevolnost, průjem, zvracení, bolest hlavy atd. Byly hlášeny také mírné příznaky vzniku puchýřů a lokální reakce (vyrážka, erytém, periferní edém) v místech vpichu. Systémové nežádoucí reakce zahrnují také anémii, leukopenii, lymfopenii, neutropenii, trombocytopenii, poruchy jaterních funkcí a hematologické abnormality. Nejzávažnější nežádoucí účinky byly způsobeny reoviry, HSV a adenoviry: těžká hypotenze, tachykardie, pleurální výpotek, herpetická infekce, příznaky centrálního nervového systému, těžká porucha funkce jater a sepse. Většina příznaků však ustoupila po přerušení podávání onkolytického léčiva nebo symptomatické léčby (Li et al., 2020).

Onkolytické léky mohou také představovat hrozbu pro osoby v okolí pacienta, který dostává viroterapii. V klinických studiích bylo zjištěno, že pacienti, kteří dostávají vysoké dávky onkolytických léčiv, vylučují virové částice do moči, slin a dalších tělesných tekutin (Baldo et al., 2016; Harrington et al., 2017). V současné době však neexistuje dostatek studií, které by posoudily dopad těchto faktorů na osoby, které jsou v kontaktu s testovaným subjektem. V doporučeních pro používání přípravku Talimogen Laherparepvec se uvádí, že by přípravek neměly užívat těhotné ženy a osoby se sníženou imunitou, protože virové léky mohou způsobit poškození plodu (Harrington et al., 2017).

2.9 Kombinace onkolytické terapie s jinými druhy protinádorové terapie

2.9.1 Kombinace onkolytické terapie s chemoterapií

Kombinace viroterapie a dalších léčebných postupů má potenciál stát se účinnou léčbou rakoviny. V současné době existuje několik terapií kombinovaných s imunoterapií (obr. 13) schválených FDA, které byly vyvinuty na základě řady studií cytotoxické chemoterapie a viroterapie (Galluzzi et al., 2015).



Obrázek 13 Onkolytické viry jako základ kombinované terapie onkologických onemocnění (Bommareddy et al., 2018)

Mezi schválené kombinace patří kombinace standardní chemoterapie na bázi platiny a imunoterapie při léčbě nemalobuněčného karcinomu plic (Horn et al., 2018). Jedním z pozitivních doplňků chemoterapie je snížení masы nádorového onemocnění, což potencuje onkolytický účinek viroterapie (Zhu et al., 2021). Také použití chemoterapie v kombinaci s viroterapií vyvolává imunogenní buněčnou smrt a zvyšuje antigenicitu nádorových buněk (Patel a Minn, 2018; Wan et al., 2012). Na rozdíl od těchto výhod kombinované terapie existuje riziko komplikací, jako je imunosuprese a poškození terciárních lymfoidních struktur, které povedou k potlačení protinádorové imunity a sníží účinnost terapie (Sautès-Fridman et al., 2016; Zhu et al., 2021). Proto je potřeba dalšího výzkumu, který by určil optimální kombinaci, pořadí, výběr léků a základní mechanismy různých odpovědí.

2.9.2 Kombinace onkolytické terapie s radioterapií

Použití radioterapie v kombinaci s imunoterapií (obr. 13) bylo navrženo již v roce 2016, kdy byla popsána regrese buněk vzdálených neléčených nádorů po lokální radioterapii (Abuodeh et al., 2016). Mezi přínosy této kombinace lze zařadit zvýšení antigenicity nádoru radioterapií, ke kterému dochází prostřednictvím takových procesů, jako je indukce exprese MHC-I, zvýšená prezentace nádorového antigenu, indukce imunogenní buněčné smrti a modifikace DNA

a makromolekul. Radioterapie rovněž zvyšuje adhezenci nádoru aktivací imunitního systému prostřednictvím radiací indukovaného poškození DNA a úniku cytoplazmatické DNA z mikrojader i uvolňováním DAMP a cytokinů. Navzdory mnoha výhodám může mít tato léčba i negativní aspekty. Tato kombinace může přispívat k imunosupresi a iniciovat zánik normálních buněk, čímž se snižuje účinnost imunoterapie (Zhu et al., 2021). S ohledem na všechny výhody a nevýhody musí vědci na vývoji kombinace s radioimunoterapií ještě pracovat. Frakce, ozařovací plocha, objem a pořadí podání jsou důležitými faktory ovlivňující systémovou protinádorovou imunitu.

2.9.3 Kombinace onkolytické terapie s imunoterapií

2.9.3.1 Blokáda kontrolních imunitních bodů

Blokáda kontrolních imunitních bodů (ICB) je jednou z nově schválených metod léčby rakoviny (obr. 13). Kombinace ICB s virologickou léčbou má doplňující účinek a vzájemně potencuje jejich účinnost. Použití ICB zvyšuje počet lymfocytů infiltrujících nádor (TILs), které mohou být následně využity onkolytickými viry. TILs se zapojují do imunodeficientních nádorů a způsobují uvolňování rozpustných nádorových antigenů, signálů nebezpečí a prozánětlivých cytokinů, které mohou dále zvýšit nábor T-buněk a podpořit aktivaci imunitních buněk (Bommareddy et al., 2018). Nežádoucí účinky kombinací léčiv obvykle zahrnují charakteristické účinky monoterapie a v kombinaci nezvyšují četnost ani závažnost nežádoucích účinků (Puzanov et al., 2016).

2.9.3.2 Terapie chimérickými antigenními receptory T-buněk (CAR-T)

T-buňky s chimérickými antigenními receptory se v terapii používají jako modifikované T-buňky, které mají schopnost rozpoznávat povrchové antigeny nádorových buněk pomocí transformované struktury CAR na svém povrchu (Singh a June, 2019). Kombinace terapie CAR-T a onkolytické terapie pomáhá překonat některé nevýhody T-buněčné terapie, a to špatný průnik T-buněk do mikroprostředí solidních nádorů a zhoršenou efektorovou funkci CAR-T buněk (Brown et al., 2016). V preklinických studiích bylo navrženo několik typů OV, které dodávají imunostimulační cytokiny a chemokiny nebo dokonce molekuly cílené na imunitní kontrolní body, které mohou podpořit migraci, proliferaci a aktivaci buněk CAR-T v solidních nádorech (Rosewell Shaw a Suzuki, 2018). V jiných studiích byly onkolytické viry upraveny tak, aby produkovaly protilátky proti kontrolním bodům imunitního systému a posílily tak účinky buněk CAR-T (Tanoue et al., 2017). Přestože jsou geneticky modifikované viry účinnými kurýry pro doručení cílených molekul, nízká specifita a infekčnost zůstávají hlavními problémy, které je třeba řešit v dalším výzkumu kombinované terapie.

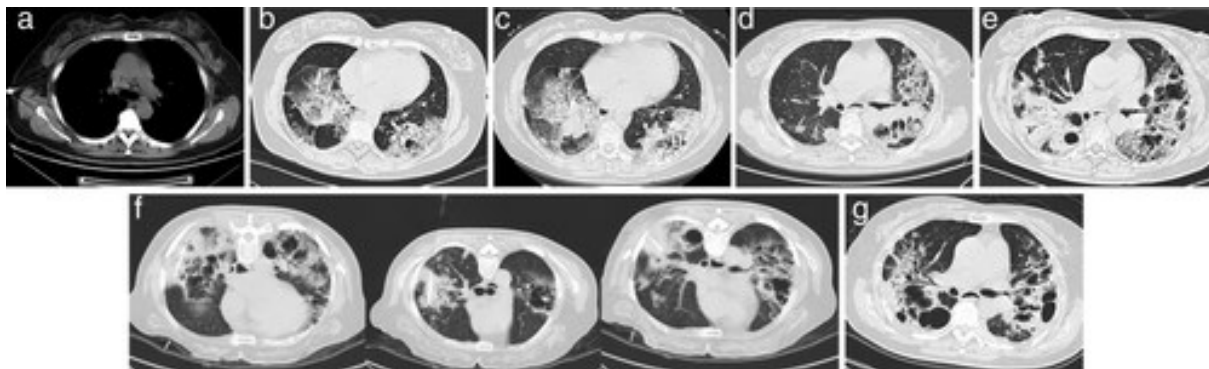
2.9.3.3 Bispecifické T buněčné inhibitory (BiTEs)

Bispecifické inhibitory T-buněk (BiTE) patří mezi bispecifické protilátky, které jsou novou třídou protinádorových léčiv. BiTE mají na jedné straně specifické protilátky proti CD3 a na druhé straně jiné specifické protilátky proti nádorovému antigenu, které slouží ke kombinaci dvou různých typů antigenů nebo epitopů (Aldoss et al., 2017). Léky založené na bispecifických inhibitory T-buněk jsou vysoce účinné při léčbě leukémie, ale mají omezené využití u solidních nádorů (Suryadevara et al., 2015). K překonání omezení léčby byla navržena kombinace BiTE a onkolytické viroterapie. Bylo vyvinuto několik onkolytických virů vyzbrojených BiTE nebo receptorem pro epidermální růstový faktor cíleným na BiTE. Tyto viry zvýšily akumulaci a perzistenci T buněk infiltrujících nádor, zlepšily protinádorovou účinnost a prodloužily přežití na různých myších modelech rakoviny v kombinaci s CAR-T terapií (Fajardo et al., 2017; Wing et al., 2018).

2.10 Vybrané klinické studie a kazuistiky

2.10.1 Oncorin na bázi Adenoviru

Výzkum Oncorinu pokračuje a v poslední době se diskutuje o jeho využití při léčbě rakoviny jater, slinivky břišní, plic a zhoubného zánětu pohrudnice. Jak je vidět z kazuistiky z roku 2021, lék má poměrně povzbudivou prognózu.



Obrázek 14 Počítačová tomografie dutiny hrudní pacientky (Zhang et al., 2021)

Na obr. 14 vidíme vývoj recidivujícího nemalobuněčného karcinomu plic u 57leté pacientky z Číny. Obr. 14 a ukazuje počítačovou tomografii provedenou 19. července 2017 (obr. 14 a), která odhalila zvětšení velikosti a počtu malých uzlin v obou plicích a zvětšené lymfatické uzliny v mediastinu. Dále na obr. 14 b až f pozorujeme progresi onemocnění v časovém období

od 18. února 2019 do 9. června 2020. Během této doby pacientka dostávala kombinovanou imunoterapii zahrnující nivolumab, chemoterapii a bevacizumab. Onemocnění však nadále progresovalo a celkový stav pacientky se zhoršil natolik, že musela přerušit chemoterapii a později ukončit všechny léčebné režimy. Následně rodina pacientky souhlasila s experimentální léčbou onkolytickými viry, která doplnila kombinovanou léčbu nivolumabem a amlotinibem. Pacientka podstoupila čtyři cykly léčby přípravkem Oncorin, po nichž CT vyšetření ze dne 16. prosince 2020 (obr. 14 g) ukázalo stabilizaci stavu pacientky i přes částečnou nekrózu plicní tkáně. Od 7. ledna 2021 se stav pacienta zlepšil a bylo rozhodnuto pokračovat v léčbě kombinovanou terapií nivolumabem a amlotinibem za pečlivého sledování (Zhang et al., 2021).

2.10.2 RIGVIR® na bázi Echoviru

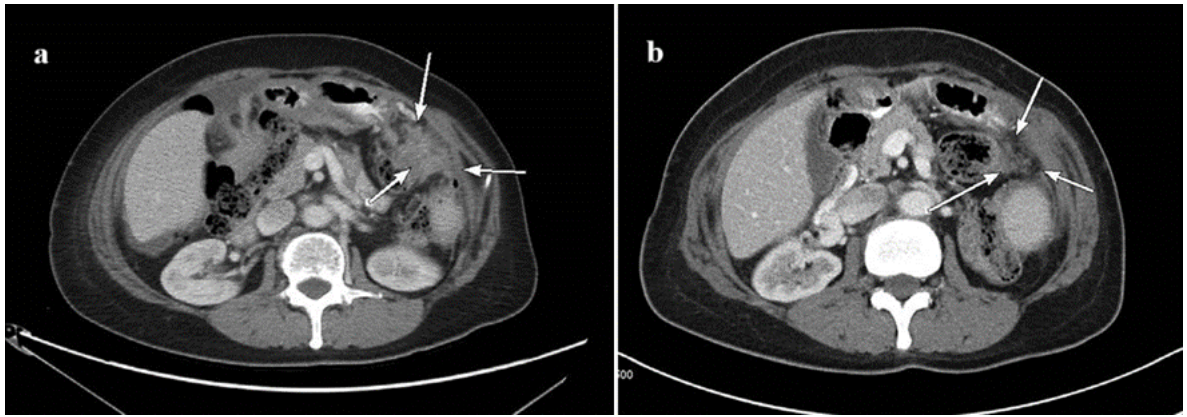
U 78leté pacientky byl diagnostikován malý vřed na dolní části paty, který vznikl z malé léze v této oblasti. V prosinci 2010 byla léze chirurgicky odstraněna s inguinální lymfadenektomií v únoru 2011. Histopatologie odhalila nádorové buňky s výrazným jaderným pleotropismem s variacemi velikosti, tvaru a barvy buněk, se zvýšeným počtem mitóz. Dále byl pozorován ložiskový melaninový pigment, nekróza, krvácení, epidermální ulcerace se středně silnou lymfocytární infiltrací, invaze do sinusoidálních lymfatických cév, avšak bez invaze do krevních cév a perineurálního nervového systému. Kromě toho byly zjištěny metastázy melanomu do pravé tříselné lymfatické uzliny. Stadium onemocnění bylo určeno jako T3bN1bM0 (rozšíření do okolních tkání, metastázy v regionálních lymfatických uzlinách, neidentifikované vzdálené metastázy). V únoru 2012 byly znovu vyšetřeny plíce a retroperitoneální dutina na přítomnost metastáz, ale výsledky počítačové tomografie byly negativní. V roce 2013 byly zjištěny kožní metastázy na plosce nohy, mediální, laterální a zadní ploše pravé holenní kosti a v pravém třísele. Dne 28. května 2012 byla provedena operace, při níž bylo odstraněno 9 podkožních a kožních lézí o průměru 0,3-1,0 cm, které nevykazovaly známky regrese. V roce 2014 bylo rozhodnuto o zahájení terapie virem RIGVIR® - intramuskulární injekce 2 ml, 106 TCID50/ml střídavě do levého a pravého svalu hýžděového a deltového. První 4 měsíce byl lék podáván každé tři týdny a poté každých 30 dní. Ke dni 12. září 2019 pacientka obdržela 62 injekcí. Během léčby pacientka nedostávala žádnou jinou léčbu kromě operace a přípravku RIGVIR®. V dubnu 2015 byly na počítačové tomografii objeveny metastázy v 5 pravostranných a 6 paraaortálních lymfatických uzlinách s kapsulární invazí. Dále byla nalezena léze o průměru 0,4 cm v bazální části levé plíce, zvětšené lymfatické uzliny v pravé retroperitoneální perikardiální oblasti a v pravé paralaterální oblasti. Bylo

rozhodnuto o chirurgickém výkonu a 28. května 2018 byla provedena resekce dvou lézí o rozměrech 10×9×4 a 7×5×3 cm. Histologické vyšetření prokázalo metastatické postižení lymfatických uzlin melanomem s regresí melanomu, která se projevila zduřením a nekrózou buněk. V únoru téhož roku bylo při vyšetření počítačovou tomografií zjištěno postižení bazální části obou plic, zvětšení lymfatických uzlin v retroperitoneální intraaortální oblasti, zvětšení lymfatické uzliny na pravé paralelní straně a zvětšení lymfatických uzlin v pravém a levém třísele. Ve srovnání s vyšetřeními z roku 2015 lze pozorovat zmenšení největších lymfatických uzlin a objevení nových. Po těchto epizodách progresu se onemocnění stabilizovalo a trvalo více než 70 měsíců intenzivní viroterapie. Poslední zmínka o pacientce pochází z roku 2020, kdy byla ve stabilizovaném stavu (Sorokins et al., 2020).

2.10.4 GL-ONC1 na bázi Vaccinia viru

V dubnu 2016 se na oddělení gynekologické onkologie obrátila 67letá pacientka s diagnózou serózního adenokarcinomu vaječníků stupně IIIB. V době přijetí byla její anamnéza bez významných změn, hladina CA-125 byla 4130 U/ml. Pacientce byly předepsány čtyři cykly neoadjuvantní léčby paklitaxelem (80 mg/m²) a karboplatinou, intervalová excize, po níž následovaly další čtyři cykly paklitaxelu (80 mg/m²) a karboplatiny (AUC = 6). Po ukončení cyklu v říjnu 2016 byla hladina CA-125 8 U/ml.

V únoru 2017 došlo u pacientky k recidivě onemocnění v peritoneu, což se shodovalo se zvýšením hladiny CA-125 na 68 U/ml. Pacientka proto zahájila další léčbu šestiměsíčním cyklem olaparibu (300 mg intravenózně) a cediranibu (20 mg). V září 2017 se hladina CA-125 zvýšila na 585 U/ml, proto bylo pacientce předepsáno pět cyklů léčby mirvetuximabem soravtansinem (5 mg/kg) a gemcitabinem (800 mg/m²). Zpočátku byla pozorována pozitivní odpověď na léčbu, přičemž hladina CA-125 klesla v prosinci 2017 na 57 U/ml. V březnu 2018 však hladina CA-125 opět stoupla na 153 U/ml, následně pacientka podstoupila kombinovanou léčbu lipozomálním doxorubicinem (40 mg/m²) a bevacizumabem (10 mg/kg). Navzdory léčbě se hladina CA-125 ještě zvýšila na 276 U/ml a pacientka zahájila dva cykly chemoterapie topotekanem (2 mg/m²), následované chemoterapií cisplatinou (30 mg/m²) a gemcitabinem (750 mg/m²). V prosinci 2018, po 4. cyklu, byla hladina CA-125 1040 U/ml, což vedlo k přerušení chemoterapeutického režimu. V lednu 2019 dosáhla hladina CA-125 hodnoty 4112 U/ml. Pacientka podstoupila počítačovou tomografii břicha a pánve (obr. 15a) a byla jí předepsána léčba GL-ONC1 v rámci klinické studie (NCT02759588).



Obrázek 15 Počítačová tomografie břicha a pánve pacientky v lednu 2019 (a) a dubnu 2019 (b) (Mori et al., 2019)

V únoru 2019 se u pacientky objevily příznaky pleurálního výpotku, ascitu a lymfedému dolních končetin. Poté jí bylo předepsáno šest cyklů paklitaxelu (175 mg/m^2), karboplatiny ($\text{AUC}=5$) a bevacizumabu (10 mg/kg). Po ukončení léčebného režimu došlo k poklesu CA-125 na 200 U/ml . V dubnu 2019, během čtvrtého cyklu chemoterapie, byla hladina CA-125 99 U/ml , přičemž došlo k poklesu pleurálního výpotku, ascitu a lymfedému dolních končetin. Počítačová tomografie prokázala výrazné zmenšení nádorových ložisek (obr. 15b) (Mori et al., 2019).

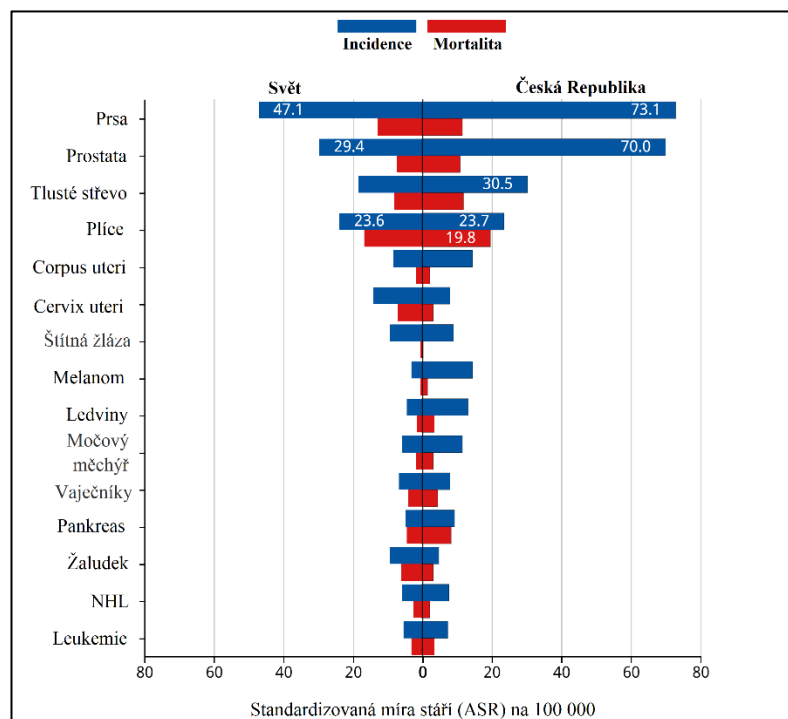
3 ADENOKARCINOM PANKREATU

3.1 Slinivka břišní

Slinivka břišní neboli pankreas je malý organ umístěn v levém hypochondriu, který hraje významnou roli v organismu člověka. Strukturálně se skládá z exokrinních a endokrinních buněk, které zajišťují metabolismus živin, regulují obsah plasmy a celkové zajišťují homeostázu. Exokrinní buňky produkují řadu trávicích enzymů (lipázy, amylázy, trypsin apod.). Endokrinní část se skládá z dvou typů buněk – α a β . Jejich hlavním úkolem je produkce inzulínu a glukagonu pro udržení stálé hladiny glukózy v krvi.

3.2 Duktální adenokarcinom pankreatu

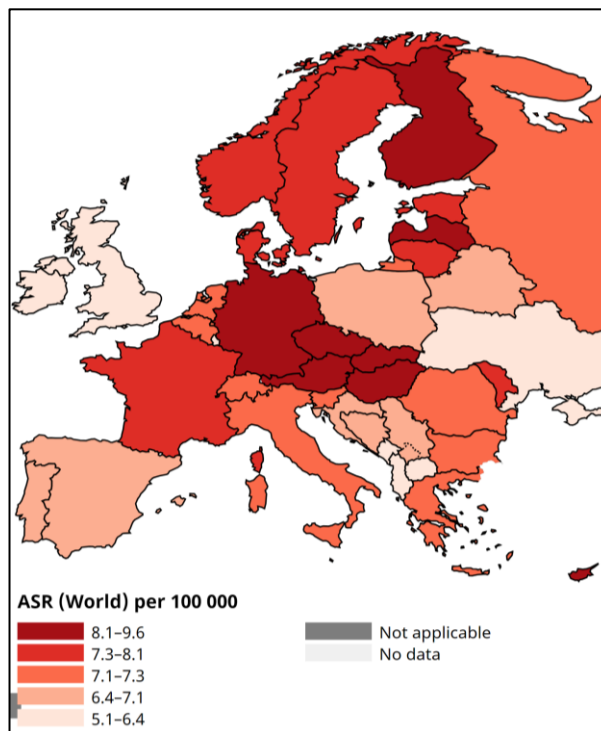
Mezi jedno z nejzhubnějších onemocnění pankreatu patří adenokarcinom slinivky břišní. Duktální adenokarcinom pankreatu (PDAC) je vysoce agresivní maligní nádor, který je charakterizován zvýšenou invazivností, rychlou progresivitou a významnou rezistencí k léčbě. Na obr. 16 pozorujeme výskyt a mortalitu různých druhů rakovin ve světě a České republice za rok 2022. Mezi nejrozšířenější karcinomy ve světě patří karcinom prsu, prostaty a plic, zatím co v České republice do těch nejrozšířenějších ještě patří karcinom tlustého střeva. Prakticky se 100% mortalitou jsou karcinomy pankreatu a žaludku.



Obrázek 16 Incidence a mortalita ve světě a České republice (Ferlay et al., 2024)

Na obr. 16 jsou znázorněna data za rok 2022 o výskytu karcinomu různých orgánů ve světě a České republice. Modrá barva zodpovídá za hodnoty incidence v populaci na 100 000, červená barva – mortalita způsobená různými druhy tumoru v populaci na 100 000.

Obr. 17 znázorňuje smrtnost způsobenou adenokarcinomem pankreatu v Evropských státech. Mezi země s nejvyšší smrtností patří Maďarsko, Česká republika a Lotyšsko, na druhou stranu státy jako Ukrajina, Irsko, Černá Hora mají nejnižší index smrtnosti pacientů s rakovinou pankreatu.



Obrázek 17 Mortalita způsobená rakovinou slinivky břišní (Ferlay et al., 2024)

Na obr. 17 jsou barevně znázorněna data o míře mortality v Evropských státech, způsobena karcinomem pankreatu. Tmavší odstíny červené barvy ukazují na velmi vysokou míru mortality – 8,1-9,6 případů na 100 000. Naopak světle béžová až bílá barva znázorňuje státy s mortalitou jenom 5,1-6,4 případů na 100 000.

3.3 Rizikové faktory

Faktory ovlivňující vznik a vývoj rakoviny slinivky břišní můžeme rozdělit na dědičného a nedědičného původu. Nedědičné faktory, jejichž původcem většinou jsou nepravdělný styl života a další onemocnění, jsou znázorněné v tab. 4. Obvykle nemůžeme posoudit, jestli

onemocnění způsobí jenom jeden faktor – u pacientů s rakovinou pankreatu se může vyskytovat i několik faktorů najednou.

Tabulka 4 Rizikové faktory pro duktální adenokarcinom pankreatu

Rizikový faktor	Popis
Kouření cigaret (Neoptolemos et al., 2004; Winter et al., 2013; Wahi et al., 2009)	Zvýšené riziko o 25 %
Chronická pankreatitida (Silverman et al., 1994; Lin et al., 2002)	Zvýšené riziko o 4–40 %
Věk (Lowenfels et al., 1993)	90 % PDAC se vyvíjí u populace starší 50 let
Pohlaví (Lowenfels et al., 1997)	Poměr mužů a žen je 1,1 až 2,0
Diabetes (Chari et al., 2008)	2x zvýšené riziko
Výživa (Maisonneuve et al., 2010)	O 20 % vyšší riziko obezity způsobené dietou
Krevní skupina (Curado et al., 2007; Shi et al., 2009; Couch et al., 2007; Murphy et al., 2002)	Vyšší riziko u A, B, AB krevních skupin
Pracovní expozice (Lal et al., 2000)	Chlorovaná uhlovodíková rozpouštědla (MR riziko 2,21), insekticidy (MR riziko 1,95)
Rasa (Giardiello et al., 2000)	Vyšší míra rizika u Afroameričanů
Infekční choroby (Lowenfels et al., 1993)	Zvýšené riziko spojené s <i>H. pylori</i> , virem hepatitidy B a periodontálním onemocněním

Dle tab. 4 vidíme, že kuřáci, lidi ve starším věku a pacienti s diabetes mellitus mají zvýšené riziko vzniku karcinomu pankreatu. Spolu s tím výživa, rasa a krevní skupina pacientů taky mají patrný efekt.

3.3.1 Dědičné faktory

Jedinci s rodinnou anamnézou a výskytem rakoviny slinivky břišní mají zvýšené riziko vzniku nádoru. Hereditární pankreatitida, syndrom Lynch a syndrom PeutzJeghers spolu s rakovinou prsu, vaječníku a prostaty taky indikují riziko vyvinutí tumoru (Wolfgang et al., 2013).

3.4 Klinické příznaky duktálního adenokarcinomu pankreatu

V roce 2014 proběhl rozsáhlý kontrolní průzkum (296 případu) pacientů s diagnózou PDAC (pancreatický duktální adenokarcinom pankreatu). V této skupině byly zhodnocené symptomy za dva roky do stanovení diagnózy. Nejčastějšími symptomy, se kterými se pacienti obraceli na svého lékaře byly: bolesti břicha, zad, hrudníku a trávicí obtíže. U 11 % pacientu před tím bylo

diagnostikován jiný typ rakoviny. V této skupině také byly vyšetřeny hodnoty bilirubinu, glukózy a hemoglobinu v séru. Objevila se tendence zvýšené hladiny glukózy a bilirubinu v nejbližší době stanovení diagnózy (Keane et al., 2014).

3.5 Diagnostika duktálního adenokarcinomu pankreatu

Při diagnostice PDAC musíme zvažovat nejenom symptomy a příznaky. Pokud se objeví žloutenka nebo bolest břicha, doporučuje se provést kompletní krevní obraz, panel biochemie krve a jaterní testy, které zahrnují sérové aminotransferázy, alkalickou fosfatázu a bilirubin. Tyto hodnoty mohou pomoci posoudit rozsah cholestázy, jaterních metastáz, hepatitidy a stavu výživy. Pacienti s bolestí v epigastriu by také měli mít změřenou sérovou lipázu, aby se vyhodnotila akutní pankreatitida.

3.5.1 Zobrazovací metody

Neinvazivní metody diagnostiky mají významnou roli v zachycení a potvrzení onemocnění. V tab. 5 jsou znázorněny metody využívané v současné době a také jejich specifita a senzitivita.

Tabulka 5 Zobrazovací metody využívané pro diagnostiku adenokarcinomu pankreatu (Goral, 2015)

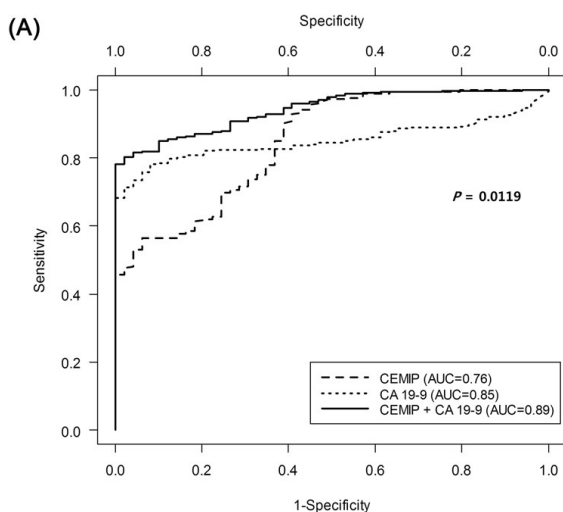
Test	Specifita	Senzitivita	Benefit pro určení rozsahu tumoru
Ultrasonografie	80%	90%	Ne
Endoskopická ultrasonografie (EUS)	90%	90%	Ano
Počítačová tomografie (CT)	90%	95%	Ano
Endoskopická retrográdní cholangiopankreatikografie (ERCP)	90%	90%	Ne
Magnetická rezonance (MR)	90%	90%	Ne
Aspirační biopsie tenkou jehlou (FNAB)	90%	98%	Ne

Mezi další metody spadají pozitronová emisní tomografie (PET) a histologie. PET může odhalit anatomické i funkční změny v orgánech, tkáních, a proto je využíván pro časnou detekci tumoru. Díky aktivnímu metabolismu nádorových buněk dochází až k 2–10násobnému pohlcení zobrazovací látky než u normálních buněk. Na snímcích se tato aktivita projevuje světlou skvrnou (Ghaneh et al., 2018). Histocytopatologická analýza je standardním vyšetřením u všech pacientů pro stanovení diagnózy před sestavením plánu léčby.

3.5.2 Tumor markery

PDAC se často diagnostikuje pomocí nádorových biomarkerů, jako jsou karcinoembryonální antigen (CA) 19-9, CA 72-4, CA 50 a CA 242 (O'Neill, Stoita, 2021). Použití více biomarkerů

najednou zvyšuje specificitu a senzitivitu diagnostiky, což následně zvyšuje šanci na časnou a přesnou diagnózu karcinomu pankreatu (obr. 18) (Lee et al., 2018).



Obrázek 18 ROC křivka pro CA 19-9 a CEMIP biomarkery v diagnostice rakoviny slinivky břišní (Lee et al., 2018)

Obr. 18 ukazuje ROC křivky pro CEMIP, CA 19-9 a jejich kombinaci používanou k diagnostice karcinomu pankreatu. Kombinací obou biomarkerů se významně zvýšila specifická a senzitivita metody (černá čára – kombinace CEMIP, CA 19-9, tečkovaná čára – CA 19-9, čárkovaná čára – CEMIP) (Lee et al., 2018).

Mnoho dalších markerů je v současné době ve vývoji nebo testování: Molekula buněčné adheze 1 související s karcinoembryonálním antigenem (CEACAM1), makrofágový inhibiční cytokin-1 (MIC-1), fibrinogen gama, sialylovaná plazmatická proteáza C1 a různé hladiny cytokinů a chemokinů (C3, C5), různé hladiny miRNA, autoprotilátky atd (O'Neill, Stoita, 2021).

3.6 Způsoby léčby adenokarcinomu pankreatu

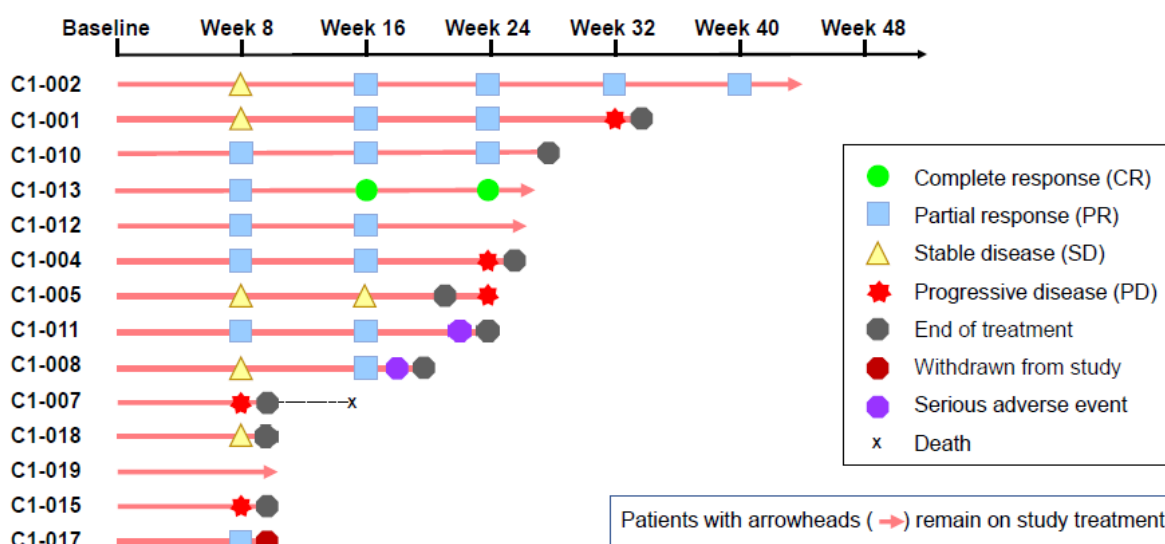
Doporučení České onkologické společnosti uvedená v Modré knize, nabízejí stručný algoritmus léčby adenokarcinomu pankreatu. Podle autorů je jedinou léčbou chirurgická resekce nádoru, zejména u pacientů bez metastáz. U pacientů ve stadiu 0, IA, IB, IIA, IIB se doporučuje podstoupit adjuvantní chemoterapii do 6 měsíců po resekci. U pacientů se zhoršujícím se stavem nebo starších 75 let se doporučuje monoterapie gemcitabinem nebo režim gemcitabin + kapecitabin. Pacienti s onemocněním diagnostikovaným ve stadiu III nebo IV by měli podstoupit paliativní chemoterapii s mFOLFIRINOX nebo gemcitabin + nab-paklitaxel,

případně jinou kombinovanou léčbu s gemcitabinem (Kiss et al., 2012). Více informací naleznete na stránkách Linkos.cz, kde jsou každoročně zveřejňována aktualizovaná doporučení (<https://www.linkos.cz/lekar-a-multidisciplinari-tym/personalizovana-onkologie/modra-kniha-cos/aktualni-vydani-modre-knihy/>).

3.7 Vybrané klinické studie a kazuistiky

3.7.1 Pelareorep (REOLYSIN®) na bázi Reoviru

V rámci studie GOBLET s přípravkem REOLYSIN® v léčbě rakoviny trávicího traktu byla provedena studie zaměřená na léčbu adenokarcinomu pankreatu. V této studii byli pacienti s lokálně pokročilým/metastatickým neresekabilním onemocněním léčeni Pelareorep, atezolizumabem a gemcitabinem/nab-paklitaxelem. Studie hodnotila míru objektivní odpovědi (ORR) a míru klinického přínosu (CBR) a odebírala vzorky krve pro další sekvenování T-buněčných receptorů (TCR-seq) s cílem posoudit dopad léčby na repertoár T-buněk.

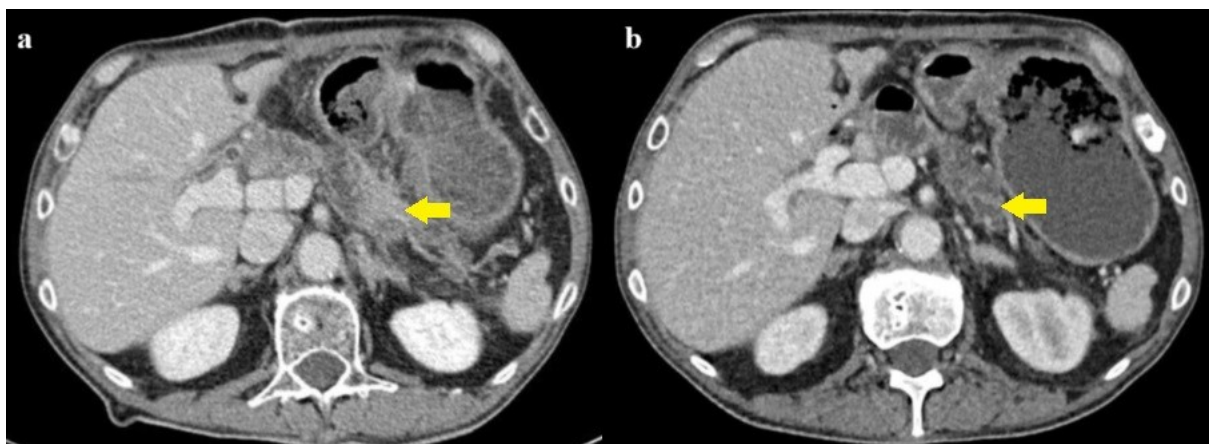


Obrázek 19 Odpověď na kombinovanou léčbu v čase (Arnold et al., 2022)

Průběžné výsledky naznačují dobrou snášenlivost a příznivý bezpečnostní profil. Sedm z deseti pacientů mělo do osmého týdne léčby částečnou odpověď a u dvou pacientů byl průběh onemocnění stabilní (obr. 19). Změny v repertoáru T-buněk, konkrétně snížení klonální diverzity a zvýšení frakce T-buněk c1d1 na c2d1, pozorované u prvních tří pacientů, budou dále hodnoceny jako možné biomarkery odpovědi na léčbu.

Pozornost si zaslouží pacient s identifikátorem C1-013. Na začátku léčby měl nádor na CT snímku velikost 30 mm (obr. 20a). Již v 16. týdnu léčby byla pozorována odpověď na

kombinovanou léčbu (obr. 20). Obrázek 13b ukazuje výsledky snímku ve 24. týdnu léčby, kde můžeme vidět zmenšení nádoru na velikost, která je příliš malá na to, aby se dala změřit.



Obrázek 20 Výchozí výsledky (a) a výsledky skenování ve 24. týdnu (b) u pacienta C1-013 (Arnold et al., 2022)

Tato studie stále probíhá, a proto je důležité i nadále sledovat pokrok v této oblasti vzhledem k výsledkům, které naznačují účinnost a dobrou tolerabilitu kombinované léčby (Arnold et al., 2022).

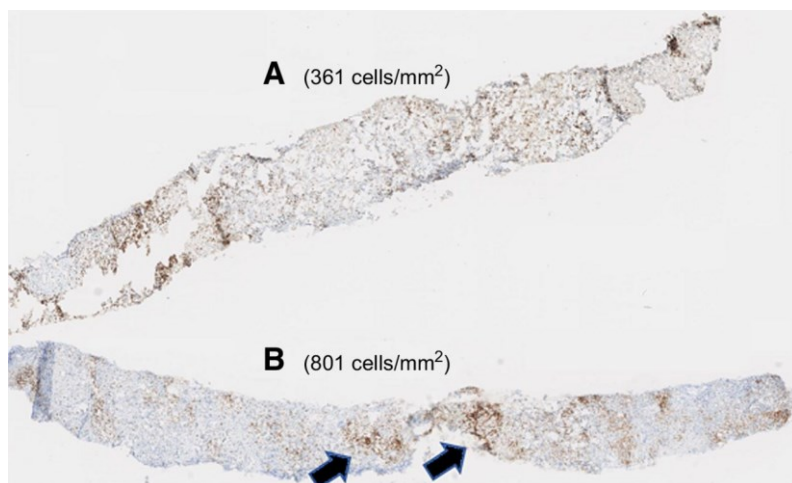
3.7.2 ParvOryx na bázi Parvoviru

Parvovirus je slibným vektorem pro léčbu rakoviny slinivky břišní. Nedávno byla provedena studie ve druhé fázi léčby metastazujícího adenokarcinomu pankreatu (NCT02653313). Do této studie byli vybráni dospělí pacienti s histologicky potvrzeným PDAC ve stadiu IV a alespoň jednou jaterní metastází. Primárním cílem studie bylo zhodnotit bezpečnost, snášenlivost, imunogenicitu a farmakokinetiku zvyšujících se dávek H-1PV. Mezi další cíle patří studium řady souběžných hodnocení nádorové tkáně a imunologických vzorců v krvi za účelem zkoumání nádorově supresivních vlastností viru. Klinická odpověď byla hodnocena podle přežití bez progresu (PFS) a celkového přežití (OS).

Každému pacientovi byla podána jedna ze tří dávek (1E09 pfu, 5E09 pfu, 1E10 pfu) a v případě výskytu nepřijatelné toxicity léčby byli pacienti vyřazeni. První dávky byly podávány intravenózně ve čtyřech stejných frakcích po 10 % celkové dávky během 4 po sobě následujících dnů. Další frakce byla podána jako jedna injekce pod ultrazvukovou kontrolou do jaterní metastáze PDAC. Poté byli pacienti pečlivě sledováni po dobu 28 dnů, po které zahájili

léčbu gemcitabinem. V případě progresu onemocnění byla podána další léčba nab-paklitaxelem. Kontrolní vyšetření byla provedena ve 2., 4. a 6. měsíci.

U pacienta č. 4 byly odebrány dva vzorky nádorové tkáně před lokální injekcí H-1PV (obr. 21 A) a 2 měsíce po ní (obr. 21 B).



Obrázek 21 Vzorky nádorové tkáně odebrané před zahájením virologické léčby (A) a 2 měsíce po jejím zahájení (B) (Hajda et al., 2021)

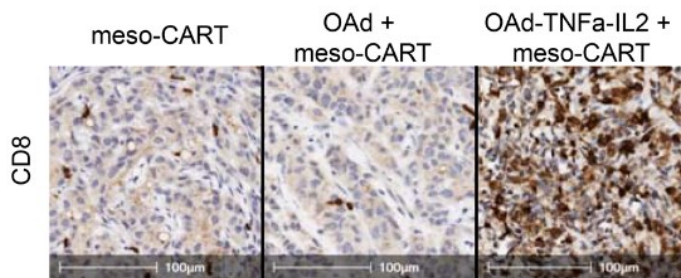
Šipky na snímku ukazují na oblasti aglomerace buněk CD3, což představuje výrazné zvýšení infiltrace T-lymfocyty po léčbě se zdvojnásobením hustoty T-lymfocytů.

Podle publikovaných výsledků byl přípravek dobře tolerován na každé úrovni dávky. Medián PFS byl 72 dní a medián OS byl 175 dní. U dvou pacientů, kteří souhlasili s dlouhodobým sběrem dat, bylo zaznamenáno prodloužené přežití 326, resp. 555 dní. Přítomnost nukleových kyselin H-1PV a reakce T-buněk v nádorech naznačují aktivaci imunitního systému po podání přípravku ParvOryx (Hajda et al., 2021).

3.7.3 OAd-TNF α -IL2 na bázi Adenoviru

V roce 2018 Watanabe a jeho kolegové navrhli použití mezo-CAR T buněk s onkolytickým adenovirem exprimujícím TNF- α a IL-2 ke zlepšení účinnosti léčby karcinomu pankreatu. Tým modifikoval onkolytický nereplikující se adenovirus sérotypu 5 kódující myší TNF- α (Ad-mTNF α) a myší IL-2 (Ad-mIL2) s CMV promotory, pro doručení genů pro cytokiny do myších nádorů. Tyto viry mohou infikovat buňky PDA7940 u imunokompetentních myší, kterým byl transplantován syntetický nádor PDA7940b. Tyto nádory byly velmi agresivní a ani opakované týdenní infuze mMeso-CAR T buněk nedokázaly potlačit růst nádoru.

V průběhu studie byly nádory myši léčených pomocí OAd-TNF α -IL2 a mezo-CAR T buněk odstraněny a analyzovány. Výsledky histopatologické analýzy, uvedené na obr. 22, ukazují počet T-buněk infiltrujících nádor.

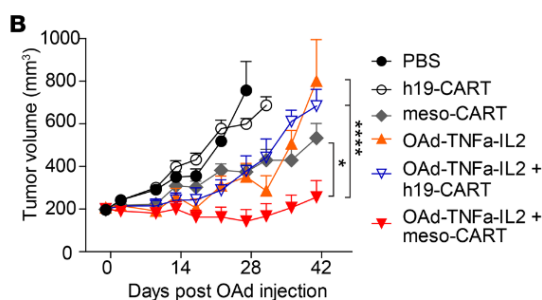


Obrázek 22 Histopatologie nádorových tkání u myši dostávající monoterapií meso-CAR T buňkami (a), kombinovanou terapií s adenovirem a meso-CAR T buňkami (b), kombinovanou terapií s modifikovaným adenovirem OAd-TNF α -IL2 s a meso-CAR T buňkami (c) (Watanabe et al., 2018)

Obr. 22 ukazuje srovnání nádorové tkáně u myši léčených monoterapií meso-CAR T buňkami (a), meso-CAR T buňkami a kombinovanou terapií s adenovirem (b) a meso-CAR T buňkami s modifikovanou kombinovanou terapií s adenovirem OAd-TNF α -IL2. Na základě výsledků uvedených na obr. 21 a dalších statistických údajů došli Watanabe a jeho kolegové k závěru, že kombinovaná terapie má významný vliv na zvýšení hladiny T buněk infiltrujících nádor a koreluje s objemem nádoru u myši.

Byla zkoumána produkce cytokinů a lýza buněk vyvolaná infekcí nádorových linií OAd-TNF α -IL2. Buněčné linie slinivky břišní se vyznačovaly zvýšenou sekrecí cytokinů a lýza nádorových buněk byla indukována v závislosti na dávce.

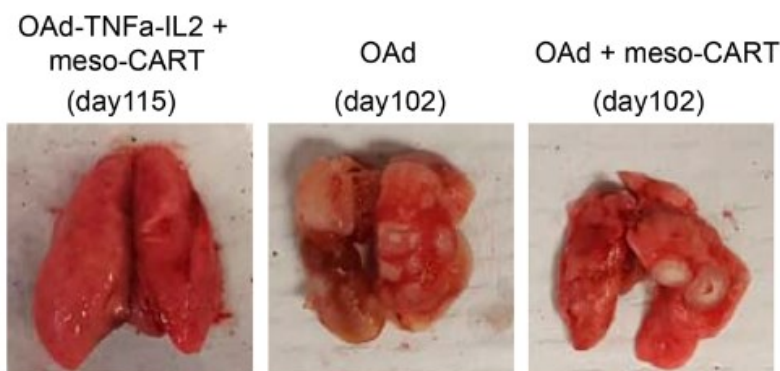
Účinnost kombinované terapie byla testována na myším modelu xenograftu nádoru AsPC-1 NSG. Obr. 23 ukazuje závislost objemu buněk na čase pro několik testovaných linií.



Obrázek 23 Objem nádoru na základě kaliperačního měření (Watanabe et al., 2018)

Monoterapie meso-CAR T buňkami (šedá přerušovaná čára) mírně inhibovala růst buněk, zatímco monoterapie OAd-TNFa-IL2 růst vůbec neinhibovala (oranžová přerušovaná čára). Kombinace OAd-TNFa-IL2 a meso-CAR T buněk (červená přerušovaná čára) však byla vysoce účinná při inhibici růstu nádoru.

Současně se studiem účinnosti zmenšení objemu nádoru byla testována kombinace OAd-TNFa-IL2 s meso-CAR T buňkami, aby se zabránilo metastázování nádoru. Za tímto účelem byly tři skupiny myši s nádory PDA7940b léčeny buď monoterapií OAd (obr. 24b), kombinovanou terapií OAd + meso-CAR T buňky (obr. 24c), nebo OAd-TNFa-IL2 s meso-CAR T buňkami (obr. 24a).



Obrázek 24 Reprezentativní plíce ze skupiny OAd-mTNFa-IL2 + meso-CAR T buněk (a), skupiny OAd (b) a skupiny OAd + meso-CAR T buněk (c) (Watanabe et al., 2018)

Na obr. 24 jsou zobrazeny plíce testovaných myši 102. den od zahájení terapie. Plíce bez metastáz (obr. 24a) byly získány od myši léčených kombinovanou terapií OAd-TNFa-IL2

a meso-CAR T buněk. Tyto plíce nevykazují žádné stopy po metastázích, na rozdíl od plic ostatních testovaných skupin (obr. 24b, c), kde můžeme jasně pozorovat četné metastáze.

Kombinovaná terapie s geneticky modifikovaným adenovirem OAd-TNFA-IL2 a meso-CAR T buňkami má mnoho perspektiv v léčbě karcinomu pankreatu. Díky vzájemně se podporujícím vlastnostem léčiv bylo prokázáno, že kombinované OAd-TNFA-IL2 a meso-CAR T buňky účinně lyzují cílové nádorové buňky, což vede k regresi nádoru a zabraňuje metastázování. Současně OAd-TNFA-IL2 aktivuje T lymfocyty, indukuje proliferaci T lymfocytů, aktivuje TIL a vyvolává odpověď T buněk na nádor (Watanabe et al., 2018).

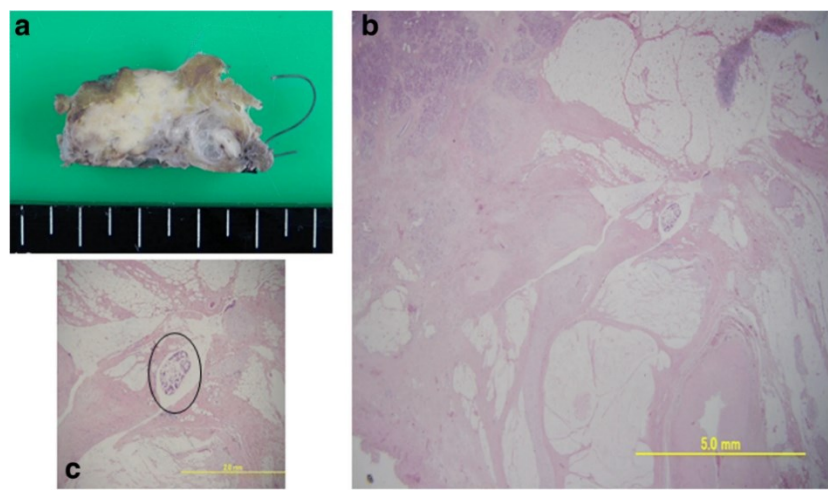
3.7.4 HF10 na bázi Herpes viru

V Japonsku proběhla v roce 2018 klinická studie fáze 1 léčby adenokarcinomu pankreatu pomocí modifikovaného herpes viru (UMIN000010150). Tým vědců k tomuto účelu použil spontánně zmutovaný virus HF10 odvozený od viru herpes simplex-1 (HSV-1). Díky absenci exprese UL43, UL49.5, UL55, UL56 a nadměrné expresi UL53 a UL54 má virus řadu příznivých vlastností pro použití v léčbě rakoviny.

Pro tuto studii byli vybráni pacienti s diagnostikovaným karcinomem pankreatu, identifikovaným pomocí aspirace tenkou jehlou a považovaným za lokálně pokročilý neresekabilní bez vzdálených metastáz (systém stagingu III (T4N0M0)). Po absolvování jednoho cyklu léčby erlotinibem a gemcitabinem byli vybráni kandidáti na základě tolerance léku. Spolu s druhým cyklem léku byly zahájeny injekce HF10. Studie zahrnovala tři kohorty po třech pacientech: první kohorta dostala dávku 1×10^6 pFU/den \times 4krát, druhá kohorta dostala 3×10^6 pFU/den \times 4krát a třetí kohorta dostala 1×10^7 pFU/den \times 4krát.

Po ukončení léčby byly shromážděny a analyzovány údaje. Studie neodhalila žádné komplikace po injekcích onkolytického léčiva. Účinnost léku byla hodnocena podle kompletní odpovědi (CR), částečné odpovědi (PR), stabilního onemocnění (SD) a progresivního onemocnění (PD) pomocí počítačové tomografie. Tři z devíti pacientů měli částečnou odpověď na léčbu, čtyři měli stabilní onemocnění a u dvou pacientů došlo k další progresi. Celková míra účinné odpovědi byla 78 %, medián PFS 6,3 měsíce a medián OS 15,5 měsíce. U dvou pacientů došlo k významnému zmenšení nádoru, což vedlo k přehodnocení resekability a chirurgickému odstranění.

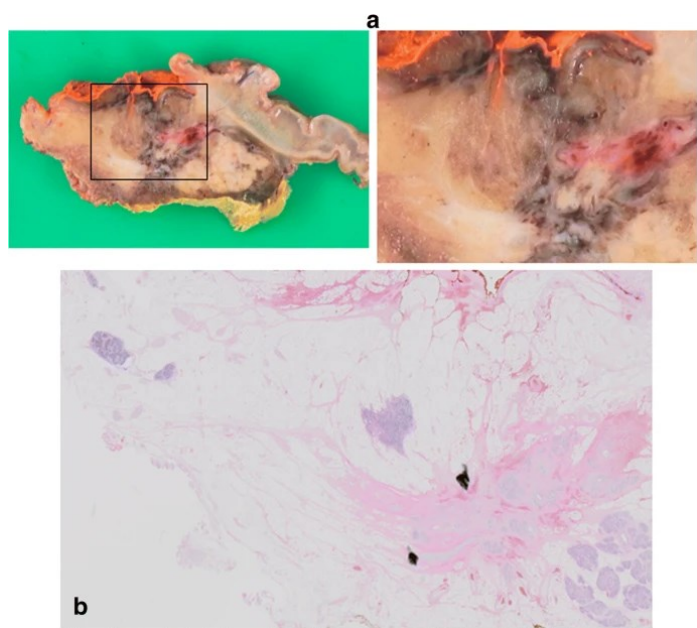
Jedním z těchto pacientů byla 66letá žena z první kohorty, která po ukončení klinické studie podstoupila radioterapii 1,8 Gy \times 28krát. Pět měsíců po zahájení studie podstoupila distální pankreatektomii (obr. 25).



Obrázek 25 Resekční vzorek pankreatu pacientky (a), histopatologická analýza tkáně (b), mikrofotografie zbývající nádorové tkáně (c) (Hirooka et al., 2018)

Řezový vzorek prokázal 99% vymizení nádorových buněk ve tkáni a jejich nahrazení vazivovou tkání (obr. 25 b). Drobné zbytky nádorové tkáně byly zjištěny pomocí vysokovýkonné fotomikrofotografie (obr. 25 c). Bohužel šest měsíců po operaci došlo u pacientky k peritoneální diseminaci, takže doba přežití byla 22 měsíců.

Další pacient, 65letý muž z druhé kohorty, podstoupil po studii radioterapii 1,8 Gy×28krát. Pankreatoduodenektomii podstoupil 7 měsíců po zahájení studie (obr. 26 a).



Obrázek 26 Řez vzorkem hlavy pankreatu (a vlevo), zvětšený snímek (a vpravo), histopatologická analýza tkáně (b) (Hirooka et al., 2018)

Histopatologická analýza prokázala 90% vymizení nádorových buněk s fibrózou (obr. 26 b). Šest měsíců po operaci byla zjištěna recidiva v mezenterických lymfatických uzlinách, takže tento pacient měl dobu přežití 39,6 měsíců.

ZÁVĚR

Tato práce poskytuje stručný úvod do problematiky rakoviny. Toto téma je důležité vzhledem k vysoké úmrtnosti na zhoubné novotvary. V současné době není možné určit pouze jednu konkrétní příčinu vzniku nádorového onemocnění, protože riziko obvykle zvyšuje kumulace několika faktorů dohromady – genetických predispozic, faktorů životního prostředí a životního stylu. Je také obtížné určit konkrétní příznaky, protože se mohou lišit v závislosti na stádiu onemocnění, jeho lokalizaci a individuálních vlastnostech každého pacienta.

Diagnostika rakoviny zahrnuje řadu postupů, včetně histopatologického vyšetření a detekce nádorových markerů. Pro přesnější diagnózu je nutné zahrnout několik markerů najednou, protože jediný marker ještě nemůže zaručit maximální specifčnost a senzitivitu. Nové poznatky přináší pohled na nádorové onemocnění nejen z hlediska samotných nádorových buněk, ale také z hlediska nádorového mikroprostředí. Takový krok umožní rozšířit znalosti a využít je ke zlepšení diagnostiky a léčby. V současné době stále neexistuje jediná léčebná metoda, která by zaručovala 100% uzdravení pacientů s rakovinou. Proto se používá komplexní léčba, která zahrnuje řadu různých metod.

Jednou z nejslibnějších oblastí je onkolytická terapie, která v posledních desetiletích nabírá na síle. Tento typ léčby spočívá v použití virů, které infikují a ničí nádorové buňky. Dosavadní výzkumy ukazují slibné výsledky nejen na modelech *in vitro* a na zvířatech, ale také při léčbě lidí. Pro dosažení maximálních výsledků se virologická léčba často kombinuje s jinými typy onkolytické léčby.

Onkolytická viroterapie se používá také k léčbě adenokarcinomu slinivky břišní, což je nejčastější typ rakoviny slinivky. Byly provedeny nebo stále probíhají různé studie s cílem určit optimální dávku, způsob podání a kombinaci léčby. Vzhledem k objevení problémů, jako jsou vedlejší účinky, toxicita nebo nedostatečná odpověď na léčbu, je zatím předčasné hovořit o použití onkolytické viroterapie jako rutinní léčby. Proto je třeba tuto oblast dále zkoumat – objevovat nové vlastnosti virů a jejich genomu a také rozšiřovat poznatky v oblasti onkologie pro včasnou detekci a úspěšnou terapii zhoubných nádorů.

POUŽITÁ LITERATURA

1. ABD-AZIZ, N. a POH, C. L. Development of oncolytic viruses for cancer therapy. *Translational Research*. 2021, 237, 98-123.
2. ABUODEH, Y.; VENKAT, P. a KIM, S. Systematic review of case reports on the abscopal effect. *Current Problems in Cancer*. 2016, 40(1), 25-37.
3. ALBERTS, P.; TILGASE, A.; RASA, A.; BANDERE, K. a VENSKUS, D. The advent of oncolytic virotherapy in oncology: The Rigvir® story. *European Journal of Pharmacology*. 2018, 837, 117-126.
4. ALDOSS, I.; BARGOU, R. C.; NAGORSEN, D.; FRIBERG, G. R.; BAEUERLE, P. A. et al. Redirecting T cells to eradicate B-cell acute lymphoblastic leukemia: bispecific T-cell engagers and chimeric antigen receptors. *Leukemia*. 2017, 31(4), 777-787.
5. AMIN, M. B.; EDGE, S. B.; GREENE, F. L.; BYRD, D. R.; BROOKLAND, R. K. et al. (ed.). AJCC Cancer Staging Manual. 8. *Springer Cham*. 2016, 8.
6. ANDTBACKA, R. H. I.; CURTI, B.; DANIELS, G. A.; HALLMEYER, S.; WHITMAN, E. D. et al. Clinical Responses of Oncolytic Coxsackievirus A21 (V937) in Patients With Unresectable Melanoma. *Journal of Clinical Oncology*. 2021, 39(34), 3829-3838.
7. ANDTBACKA, R. H. I.; ROSS, M.; PUZANOV, I.; MILHEM, M.; COLLICHIO, F. 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*. 2016, 23(13), 4169-4177.
8. ANDTBACKA, R. H.I.; KAUFMAN, H. L.; COLLICHIO, F.; AMATRUDA, T.; SENZER, N. et al. Talimogene Laherparepvec Improves Durable Response Rate in Patients With Advanced Melanoma. *Journal of Clinical Oncology*. 2015, 33(25), 2780-2788.
9. ANGELOVA, A. a ROMMELAERE, J. Immune System Stimulation by Oncolytic Rodent Protoparvoviruses. *Viruses*. 2019, 11(5).
10. ANNELS, N. E.; MANSFIELD, D.; ARIF, M.; BALLESTEROS-MERINO, C.; SIMPSON, G. R. et al. Phase I Trial of an ICAM-1-Targeted Immunotherapeutic-Coxsackievirus A21 (CVA21) as an Oncolytic Agent Against Non Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Clinical Cancer Research*. 2019, 25(19), 5818-5831.
11. ARNOLD, D.; COLLIENNE, M.; STEIN, A.; UNGERECHTS, G.; GOEKKURT, E. et al. 650 Pelareorep combined with atezolizumab and chemotherapy demonstrates encouraging results as first-line treatment in advanced or metastatic pancreatic ductal

- adenokarcinoma (PDAC) patients – interim results from the GOBLET study. *Regular and Young Investigator Award Abstracts*. 2022, A680-A680.
12. ARYAL, S. (ed.), 2024. Structure of Herpes simplex virus 1 (HSV-1). In: ARYAL, S. *Microbe Notes*. Dostupné z: <https://microbenotes.com/herpes-simplex-virus-1-hsv-1/>.
 13. ASADA, T. Treatment of human cancer with mumps virus. *Cancer*. 1974, 34(6), 1907-1928.
 14. BALDO, A.; GALANIS, E.; TANGY, F. a HERMAN, P. Biosafety considerations for attenuated measles virus vectors used in virotherapy and vaccination. *Hum Vaccin Immunother*. 2016, 12(5), 1102-1116.
 15. BARBER, G. N. Vesicular Stomatitis Virus as an Oncolytic Vector. *Viral Immunology*. 2004, 17(4), 516-527.
 16. BARTEE, M. Y.; DUNLAP, K. M. a BARTEE, E., Tumor-Localized Secretion of Soluble PD1 Enhances Oncolytic Virotherapy. *Cancer Research*. 2017, 77(11), 2952-2963.
 17. BILGE-DAGALP, S.; FARZANI, T. A.; DOGAN, F.; AKKUTAY YOLDAR, Z.; OZKUL, A. et al. Development of a BoHV-4 viral vector expressing tgD of BoHV-1 and evaluation of its immunogenicity in mouse model. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2021, 52(3), 1119-1133.
 18. BOMMAREDDY, P. K.; SHETTIGAR M. a KAUFMAN H. L. Integrating oncolytic viruses in combination cancer immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*. 2018, 18(8), 498-513.
 19. BOURHIS, J.; RECEVEUR-BRÉCHOT, V.; OGLESBEE, M.; ZHANG, X.; BUCCELLATO, M. et al. The intrinsically disordered C-terminal domain of the measles virus nucleoprotein interacts with the C-terminal domain of the phosphoprotein via two distinct sites and remains predominantly unfolded. *Protein Science*. 2005, 14(8), 1975-1992.
 20. BRADLEY, S.; JAKES, A.; HARRINGTON, K.; PANDHA, H.; MELCHER, A. et al. Applications of coxsackievirus A21 in oncology. *Oncolytic Virotherapy*. 2014, 3, 47–55.
 21. BRETSCHER, C. a MARCHINI, A. H-1 Parvovirus as a Cancer-Killing Agent: Past, Present, and Future. *Viruses*. 2019, 11(6).
 22. BROWN, C. E.; ALIZADEH, D.; STARR, R.; WENG, L.; WAGNER, J. R. et al. Regression of Glioblastoma after Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy. Online. *New England Journal of Medicine*. 2016, 375(26), 2561-2569.

23. BROWN, J. S.; AMEND, S. R.; AUSTIN, R. H.; GATENBY, R. A.; HAMMARLUND, E. U. et al. Updating the Definition of Cancer. *Molecular Cancer Research*. 2023, 21(11), 1142-1147.
24. BURKE, J. M.; LAMM, D. L.; MENG, M. V.; NEMUNAITIS, J. J.; STEPHENSON, J. J. et al. A First in Human Phase 1 Study of CG0070, a GM-CSF Expressing Oncolytic Adenovirus, for the Treatment of Nonmuscle Invasive Bladder Cancer. *Journal of Urology*. 2012, 188(6), 2391-2397.
25. BURKE, M. J.; AHERN, C.; WEIGEL, B. J.; POIRIER, J. T.; RUDIN, C. M. et al. Phase I trial of Seneca Valley Virus (NTX-010) in children with relapsed/refractory solid tumors: A report of the Children's Oncology Group. *Pediatric blood & cancer*. 2015, 62(5), 743-750.
26. CAMERON, C.; HOTA-MITCHELL, S.; CHEN, L.; BARRETT, J.; CAO, J. et al. The Complete DNA Sequence of Myxoma Virus. *Virology*. 1999, 264(2), 298-318.
27. CAO, X.; CHARI, S.; GARCIA, B. A.; PETERSEN, G. M. a ZARET, K. S. Detection of early pancreatic ductal adenokarcinoma with thrombospondin-2 and CA19-9 blood markers. *Science Translational Medicine*. 2017, 9(398).
28. CERVERA-CARRASCON, V.; HAVUNEN, R. a HEMMINKI, A. Oncolytic adenoviruses: a game changer approach in the battle between cancer and the immune system. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2019, 19(5), 443-455.
29. COLLIENNE, M.; LOGHMANI, H.; HEINEMAN, T. a ARNOLD, D. GOBLET: a phase I/II study of pelareorep and atezolizumab +/- chemo in advanced or metastatic gastrointestinal cancers. *Future Oncology*. 2022, 18(26), 2871-2878.
30. COUCH, F.J.; JOHNSON, M.R.; RABE, K.G.; BRUNE, K.; DE ANDRADE, M. et al. The prevalence of BRCA2 mutations in familial pancreatic cancer. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2007, 16(2), 342-346.
31. CUNLIFFE, T. G.; BATES, E. A. a PARKER, A. L. Hitting the Target but Missing the Point: Recent Progress towards Adenovirus-Based Precision Virotherapies. *Cancers*. 2020, 12(11).
32. CURADO, M.P.; EDWARDS, B.; SHIN, H.R.; STORM, H.; FERLAY, J. et al. (ed.). Cancer incidence in five continents. *IARC Scientific Publications*. 2007, 160(IX), 67-71.
33. DAVISON, A. J. Herpesvirus systematics. *Veterinary Microbiology*. 2010, 143(1), 52-69.

34. DE VISSER, K. E. a JOYCE, J. A. The evolving tumor microenvironment: From cancer initiation to metastatic outgrowth. *Cancer Cell*. 2023, 41(3), 374-403.
35. DESJARDINS, A.; GROMEIER, M.; FRIEDMAN, H.; LANDI, D.; FRIEDMAN, A. et al. IMMU-26. SAFETY AND EFFICACY OF PVSRIPO IN RECURRENT GLIOBLASTOMA: LONG-TERM FOLLOW-UP AND INITIAL MULTICENTER RESULTS. *Neuro-Oncology*. 2021, 23(6), vi97-vi97.
36. EDGE, S. B.; BYRD, D. R.; COMPTON, C. C.; FRITZ, A. G.; GREENE, F. L. et al. (ed.). AJCC CANCER STAGING MANUAL. *Springer*. 2015.
37. EYRE, H.; KAHN, R. a ROBERTSON, R. M. Preventing Cancer, Cardiovascular Disease, and Diabetes. *Diabetes Care*. 2004, 27(7), 1812-1824.
38. FAJARDO, C. A.; GUEDAN, S.; ROJAS, L. A.; MORENO, R.; ARIAS-BADIA, M. et al. Oncolytic Adenoviral Delivery of an EGFR-Targeting T-cell Engager Improves Antitumor Efficacy. *Cancer Research*. 2017, 77(8), 2052-2063.
39. FEND, L.; YAMAZAKI, T.; REMY, C.; FAHRNER, C.; GANTZER, M. et al. Immune Checkpoint Blockade, Immunogenic Chemotherapy or IFN- α Blockade Boost the Local and Abscopal Effects of Oncolytic Virotherapy. *Cancer Research*. 2017, 77(15), 4146-4157.
40. FERLAY, J.; ERVIK, M.; LAM, F.; LAVERSANNE, M. a COLOMBET, M. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Online. In: Age-Standardized Rate (World) per 100 000, Incidence and Mortality, Both sexes, in 2022. 2024, Dostupné z: <https://gco.iarc.who.int/today>.
41. FERRUCCI, P. F.; PALA, L.; CONFORTI, F. a COCOROCCHIO, E. Talimogene Laherparepvec (T-VEC): An Intralesional Cancer Immunotherapy for Advanced Melanoma. *Cancers*. 2021, 13(6).
42. FRANCESCHI, S.; BIDOLI, E.; HERRERO, R a MUÑOZ, N. Comparison of cancers of the oral cavity and pharynx worldwide: etiological clues. *Oral Oncology*. 2000, 36(1), 106-115.
43. FREI, L.; STIEGER, R.; BAYERL, C.; BREITENSTEIN, S. a STAERKLE, R. F. Resectable adenokarcinoma developing in the remnant pancreas 7 years after partial pancreatoduodenectomy for invasive ductal adenokarcinoma of the pancreas: a case report. *Journal of medical case reports*. 2017, 11(194).
44. GALLUZZI, L.; BUQUÉ, A.; KEPP, O.; ZITVOGEL, L. a KROEMER, G. Immunological Effects of Conventional Chemotherapy and Targeted Anticancer Agents. *Cancer Cell*. 2015, 28(6), 690-714.

45. GAO, Y. Oncolytic Therapy of Solid Tumors by Modified Vesicular Stomatitis Virus. *DNA and Cell Biology*. 2024, 43(2), 57-60.
46. GHANEH, P.; HANSON, R.; TITMAN, A.; LANCASTER, G.; PLUMPTON, C. et al. PET-PANC: multicentre prospective diagnostic accuracy and health economic analysis study of the impact of combined modality 18fluorine-2-fluoro-2-deoxy-d-glucose positron emission tomography with computed tomography scanning in the diagnosis and management of pancreatic cancer. *Health technology assessment*. 2018, 22(7), 1-114.
47. GIARDIELLO, F.M.; BRENSINGER, J.D.; TERSMETTE, A.C.; GOODMAN, S.N.; PETERSEN, G.M. et al. Very high risk of cancer in familial Peutz-Jeghers syndrome. *Gastroenterology*. 2000, 119(6), 1447-1453.
48. GOBEIL, P. A. M.; LEIB, D. A. a DERMODY, T. S. Herpes Simplex Virus γ 34.5 Interferes with Autophagosome Maturation and Antigen Presentation in Dendritic Cells. *MBio*. 2012, 3(5).
49. GOONETILLEKE, K.S. a SIRIWARDENA, A.K. Systematic review of carbohydrate antigen (CA 19-9) as a biochemical marker in the diagnosis of pancreatic cancer. *European journal of surgical oncology: the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology*. 2007, 33(3), 266-270.
50. GORAL, V. Pancreatic Cancer: Pathogenesis and Diagnosis. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*. 2015, 16(14), 5619-5624.
51. GROMEIER, M; ALEXANDER, L a WIMMER, E. Internal ribosomal entry site substitution eliminates neurovirulence in intergeneric poliovirus recombinants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1996, 93(6), 2370-2375.
52. GUO, Z. S.; THORNE, S. H. a BARTLETT, D. L. Oncolytic virotherapy: Molecular targets in tumor-selective replication and carrier cell-mediated delivery of oncolytic viruses. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*. 2008, 1785(2), 217-231.
53. HAJDA, J.; LEUCHS, B.; ANGELOVA, A. L.; FREHTMAN, V.; ROMMELAERE, J. et al. Phase 2 Trial of Oncolytic H-1 Parvovirus Therapy Shows Safety and Signs of Immune System Activation in Patients With Metastatic Pancreatic Ductal Adenokarcinoma. *Clinical Cancer Research*. 2021, 27(20), 5546-5556.
54. HAJDA, Jacek; LEUCHS, Barbara; ANGELOVA, Assia L.; FREHTMAN, Veronika; ROMMELAERE, Jean et al. Phase 2 Trial of Oncolytic H-1 Parvovirus Therapy Shows Safety and Signs of Immune System Activation in Patients With Metastatic Pancreatic Ductal Adenokarcinoma. *Clinical Cancer Research*. 2021, 27(20), 5546-5556.

55. HALES, L. M.; KNOWLES, N. J.; REDDY, P. S.; XU, L.; HAY, C. et al. Complete genome sequence analysis of Seneca Valley virus-001, a novel oncolytic picornavirus. *Journal of General Virology*. 2008, 89(5), 1265-1275.
56. HARRINGTON, K.; MICHIELIN, O.; MALVEHY, J.; PEZZANI GRÜTER, I.; GROVE, L. et al. A practical guide to the handling and administration of talimogene laherparepvec in Europe. *OncoTargets and Therapy*. 2017, 10, 3867-3880.
57. HARRISON, S. C.; ALBERTS, B.; EHRENFELD, E.; ENQUIST, L.; FINEBERG, H. et al. Discovery of antivirals against smallpox. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2004, 101(31), 11178-11192.
58. HEICAPPELL, R.; SCHIRRMACHER, V.; VON HOEGEN, P.; AHLERT, T. a APPELHANS, B. Prevention of metastatic spread by postoperative immunotherapy with virally modified autologous tumor cells. I. Parameters for optimal therapeutic effects. *International Journal of Cancer*. 1986, 37(4) 569-577.
59. HENAO-RESTREPO, A. M.; LONGINI, I. M.; EGGER, M.; DEAN, N. E.; EDMUNDS, W. J. et al. Efficacy and effectiveness of an rVSV-vectored vaccine expressing Ebola surface glycoprotein: interim results from the Guinea ring vaccination cluster-randomised trial. *The Lancet*. 2015, 38(9996), 857-866.
60. HIROOKA, Y.; KASUYA, H.; ISHIKAWA, T.; KAWASHIMA, H.; OHNO, E. et al. A Phase I clinical trial of EUS-guided intratumoral injection of the oncolytic virus, HF10 for unresectable locally advanced pancreatic cancer. *BMC Cancer*. 2018, 18(1).
61. HOLLOWAY, R. W.; THAKER, P.; MENDIVIL, A. A.; AHMAD, S.; AL-NIAIMI, Ahmed N et al. A phase III, multicenter, randomized study of olvimulogene nanivacirepvec followed by platinum-doublet chemotherapy and bevacizumab compared with platinum-doublet chemotherapy and bevacizumab in women with platinum-resistant/refractory ovarian cancer. *International Journal of Gynecologic Cancer*. 2023, 33(9), 1458-1463.
62. HORN, L.; MANSFIELD, A. S.; SZCZĘSNA, A.; HAVEL, L.; KRZAKOWSKI, M. et al. First-line atezolizumab plus chemotherapy in extensive-stage small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*. 2018, 379(23), 2220–2229.
63. HU, C.; LIU, Y.; LIN, Y.; LIANG, J.; ZHONG, W. et al. Intravenous injections of the oncolytic virus M1 as a novel therapy for muscle-invasive bladder cancer. *Cell Death Disease*. 2018, 9(3).

64. CHARI, S.T.; LEIBSON, C.L.; RABE, K.G.; TIMMONS, L.J.; RANSOM, J. et al. Pancreatic cancer-associated diabetes mellitus: prevalence and temporal association with diagnosis of cancer. *Gastroenterology*. 2008, 134(1), 95-101.
65. CHAURASIYA, S.; CHEN, N. G. a FONG, Y. Oncolytic viruses and immunity. *Current opinion in immunology*. 2018, 51, 83–90.
66. CHEN, C.; WANG, P.; HUTZEN, B.; SPRAGUE, L.; SWAIN, H. M. et al. Cooperation of Oncolytic Herpes Virotherapy and PD-1 Blockade in Murine Rhabdomyosarcoma Models. *Scientific Reports*. 2017, 7(1).
67. CHOI, A. H.; O'LEARY, M. P.; LU, J.; KIM, S.; FONG, Y. et al. Endogenous Akt Activity Promotes Virus Entry and Predicts Efficacy of Novel Chimeric Orthopoxvirus in Triple-Negative Breast Cancer. *Molecular Therapy - Oncolytics*. 2018, 9, 22-29.
68. JENKS, N.; MYERS, R.; GREINER, S. M.; THOMPSON, J.; MADER, E. K. et al. Safety Studies on Intrahepatic or Intratumoral Injection of Oncolytic Vesicular Stomatitis Virus Expressing Interferon- β in Rodents and Nonhuman Primates. *Human Gene Therapy*. 2010, 21(4), 451-462.
69. JOHANSSON, E. S., Li XING, R. H. CHENG a D. R. SHAFREN. Enhanced Cellular Receptor Usage by a Bioselected Variant of Coxsackievirus A21. *Journal of Virology*. 2004, 78(22), 12603–12612.
70. KAUR, S.; SMITH, L.M.; PATEL, A.; MENNING, M.; WATLEY, D.C. et al. A Combination of MUC5AC and CA19-9 Improves the Diagnosis of Pancreatic Cancer: A Multicenter Study. *The American journal of gastroenterology*. 2017, 12(1), 172-183.
71. KEANE, M.G.; HORSFALL, L.; RAIT, G. a PEREIRA, S.P. A case-control study comparing the incidence of early symptoms in pancreatic and biliary tract cancer. *BMJ open*. E005720. 2014, 4(11).
72. KELLY, E. a RUSSELL, S. J. History of Oncolytic Viruses: Genesis to Genetic Engineering. *Molecular Therapy*. 2007, 15(4), 651-659.
73. KISS, I.; ADÁMKOVÁ, D.; ANDRAŠINA, T.; ARENBERGER, P.; BABJUK, M. et al. *ZHOUBNÝ NOVOTVAR SLINIVKY BŘIŠNÍ (C25)*. Modrá kniha České onkologické společnosti. Brno: Masarykův onkologický ústav, 2012, 1-6.
74. KOMOROWSKI, M.; TISONCZYK, J.; KOLAKOWSKA, A.; DROZDZ, R. a KOZBOR, D. Modulation of the Tumor Microenvironment by CXCR4 Antagonist-Armed Viral Oncotherapy Enhances the Antitumor Efficacy of Dendritic Cell Vaccines against Neuroblastoma in Syngeneic Mice. *Viruses*. 2018, 10(9).

75. KOO, M. M.; SWANN, R.; MCPHAIL, S.; ABEL, G. A; ELLISS-BROOKES, L. et al. Presenting symptoms of cancer and stage at diagnosis: evidence from a cross-sectional, population-based study. *The Lancet Oncology*. 2020, 21(1), 73-79.
76. KUMAR, P.; CHAUDHARY, B.; YADAV, N.; DEVI, S.; PAREEK, A. et al. Recent Advances in Research and Management of Human Monkeypox Virus: An Emerging Global Health Threat. *Viruses*. 2023, 15(4), 937.
77. LAL, G.; LIU, G.; SCHMOCKER, B.; KAURAH, P.; OZCELIK, H. et al. Inherited predisposition to pancreatic adenocarcinoma: role of family history and germ-line p16, BRCA1, and BRCA2 mutations. *Cancer research*. 2000, 60(2), 409-416.
78. LAWRENCE, R.; WATTERS, M.; DAVIES, C. R.; PANTEL, K. a LU, Y. Circulating tumour cells for early detection of clinically relevant cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2023, 20(7), 487-500.
79. LEE, H. S.; JANG, C. Y.; KIM, S. A.; PARK, S. B.; JUNG, D. E. et al. Combined use of CEMIP and CA 19-9 enhances diagnostic accuracy for pancreatic cancer. *Scientific Reports*. 2018, 8(1), 3383.
80. LEON, M. E.; PERUGA, A.; MCNEILL, A.; KRALIKOVA, E.; GUHA, N. et al. European Code against Cancer, 4th Edition: Tobacco and cancer. *Cancer Epidemiology*. 2015, 39(1), 20-33.
81. LEWANDOWSKA, A.; RUDZKI, M.; RUDZKI, S.; LEWANDOWSKI, T. a LASKOWSKA, B. Environmental risk factors for cancer – review paper. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2019, 26(1), 1-7.
82. LI, L.; LIU, S.; HAN, D.; TANG, B. a MA, J. Delivery and Biosafety of Oncolytic Virotherapy. *Frontiers in Oncology*. 2020, 10, 475.
83. LI, R.; STEINBERG, G.; SHAH, P.; UCHIO, E.; LAMM, D. et al. Abstract CT036: CORE1. *Cancer Research*. 2022, 82(12).
84. LIANG, M., 2018. Oncorine, the World First Oncolytic Virus Medicine and its Update in China. *Current Cancer Drug Targets*. 2018, 18(2), 171-176.
85. LIN, Y.; TAMAKOSHI, A.; KAWAMURA, T.; INABA, Y.; KIKUCHI, S. et al. A prospective cohort study of cigarette smoking and pancreatic cancer in Japan. *Cancer Causes Control*. 2002, 13(3), 249-254.
86. LIU, B. L.; ROBINSON, M.; HAN, Z.; BRANSTON, R. H.; ENGLISH, C. et al. ICP34.5 deleted herpes simplex virus with enhanced oncolytic, immune stimulating, and anti-tumour properties. *Gene Therapy*. 2003, 10(4), 292-303.

87. LIU, E. B.; FERREYRA, L.; FISCHER, S. L.; PAVAN, J. V.; NATES, S. V. et al. Genetic Analysis of a Novel Human Adenovirus with a Serologically Unique Hexon and a Recombinant Fiber Gene. *PLoS ONE*. 2011, 6(9).
88. LIU, Z.; ZHAO, X.; MAO, H.; BAXTER, P. A.; HUANG, Y. et al. Intravenous injection of oncolytic picornavirus SVV-001 prolongs animal survival in a panel of primary tumor-based orthotopic xenograft mouse models of pediatric glioma. *Neuro-Oncology*. 2013, 15(9), 1173-1185.
89. LOWENFELS, A. B.; MAISONNEUVE, P.; CAVALLINI, G.; AMMANN, R. W.; LANKISCH, P. G. et al. Pancreatitis and the Risk of Pancreatic Cancer. *New England Journal of Medicine*. 1993, 328(20), 1433-1437.
90. LOWENFELS, A. B.; MAISONNEUVE, P.; DIMAGNO, E. P.; ELITSUR, Y.; GATES, L. K. et al. Hereditary Pancreatitis and the Risk of Pancreatic Cancer. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*. 1997, 89(6), 442-446.
91. MA, W.; HE, H. a WANG, H. Oncolytic herpes simplex virus and immunotherapy. Online. *BMC Immunology*. 2018, 19(1), 1-11.
92. MAISONNEUVE, P. a LOWENFELS, A. B. Epidemiology of Pancreatic Cancer: An Update. 2010, 28, 645-656.
93. MANSO, L.; VILLAGRASA, P.; CHIC, N.; BERMEJO, B.; CEJALVO, J. et al. 806 Changes in T cell clonality in AWARE-1 study, a window-of-opportunity study with atezolizumab and the oncolytic virus pelareorep in early breast cancer. *Late-breaking abstracts*. 2020, 482.
94. MANTWILL, K.; KLEIN, F. G.; WANG, D.; HINDUPUR, S. V.; EHRENFELD, M. et al. Concepts in Oncolytic Adenovirus Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, 22(19).
95. MARCHINI, A.; BONIFATI, S.; SCOTT, E. M.; ANGELOVA, A. L. a ROMMELAERE, J. Oncolytic parvoviruses: from basic virology to clinical applications. *Virology Journal*. 2015, 12(1).
96. MIKROSTOKER, 2024. Structure of the coxsackie virus enterovirus vector image. In: VectorStock. Dostupné z: <https://www.vectorstock.com/royalty-free-vector/structure-of-the-coxsackie-virus-enterovirus-vector-16907635>.
97. MILLER, K. D.; NOGUEIRA, L.; DEVASIA, T.; MARIOTTO, A. B.; YABROFF, K. R. et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2022. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2022, 72(5), 409-436.

98. MILLER, K.; ZHAO, F.; CLARK, A.; WILKINSON, G.; LAEUFLE, R. et al. Abstract OT-13-02: Bracelet-1 (pre0113). *Cancer Research*. 2021, 81(4).
99. MONDAL, M.; GUO, J.; HE, P. a ZHOU, D. Recent advances of oncolytic virus in cancer therapy. *Human vaccines & immunotherapeutics*. 2020, 16(10), 2389-2402.
100. MONGE, C.; XIE, C.; MYOJIN, Y.; COFFMAN, K.; HRONES, D. M. et al. Phase I/II study of PexaVec in combination with immune checkpoint inhibition in refractory metastatic colorectal cancer. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. 2023, 11(2).
101. MORI, K. M.; GIULIANO, P. D.; LOPEZ, K. L.; KING, M. M.; BOHART, R. et al. Pronounced clinical response following the oncolytic vaccinia virus GL-ONC1 and chemotherapy in a heavily pretreated ovarian cancer patient. *Anti-Cancer Drugs*. 2019, 30(10), 1064-1066.
102. MÜLLER, L.; BERKELEY, R.; BARR, T.; ILETT, E. a ERRINGTON-MAIS, F. Past, Present and Future of Oncolytic Reovirus. *Cancers*. 2020, 12(11).
103. MURPHY, K. M.; BRUNE, K. A.; GRIFFIN, C.; SOLLENBERGER, J. E.; PETERSEN, G. M. et al. Evaluation of candidate genes MAP2K4, MADH4, ACVR1B, and BRCA2 in familial pancreatic cancer: deleterious BRCA2 mutations in 17%. *Cancer research*. 2002, 62(13), 3789-3793.
104. NAIK, S.; LEIBOVICH, B. C.; MIEST, T.; BARDOT, S.; YOUNG, P. R et al. Safety and efficacy of neoadjuvant intravesical oncolytic MV-NIS in patients with urothelial carcinoma. *Journal of Clinical Oncology*. 2022, 40(6), 509-509.
105. NASCIMENTO, I. J. S.; SANTOS-JÚNIOR, P. F. S. a SILVA-JÚNIOR, E. F. Brief Introduction of Measles Virus and Its Therapeutic Strategies. *Human Viruses: Diseases, Treatments and Vaccines*. 2021, 503-530.
106. NEOPTOLEMOS, J. P.; STOCKEN, D. D.; FRIESS, H.; BASSI, C.; DUNN, J. A. et al. A Randomized Trial of Chemoradiotherapy and Chemotherapy after Resection of Pancreatic Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2004, 350(12), 1200-1210.
107. NEUHouser, M. L.; ARAGAKI, A. K.; PRENTICE, R. L.; MANSON, J. E.; CHLEBOWSKI, R. et al. Overweight, Obesity, and Postmenopausal Invasive Breast Cancer Risk. *JAMA Oncology*. 2015, 1(5), 611-621.
108. O'LEARY, M. P.; WARNER, S. G.; KIM, S.; CHAURASIYA, S.; LU, J. et al. A Novel Oncolytic Chimeric Orthopoxvirus Encoding Luciferase Enables Real-Time View of Colorectal Cancer Cell Infection. *Molecular Therapy - Oncolytics*. 2018, 9, 13-21.
109. OKUNO Y., ASADA T., YAMANISHI K., OTSUKA E., TAKAHASHI M.. Nihon Rinsho. *Japanese journal of clinical medicine*. 1977, 35(9), 2867-2872.

110. OKUNO Y., ASADA T., YAMANISHI K., OTSUKA T., TAKAHASHI M., TANIOKA, T., AOYAMA, H., FUKUI, O., MATSUMOTO, K., UEMURA, F., a WADA, A. *Nihon rinsho. Japanese journal of clinical medicine*. 1977, 35(10), 3820–3825.
111. O'NEILL, R. S. a STOITA, A. Biomarkers in the diagnosis of pancreatic cancer: Are we closer to finding the golden ticket? *World Journal of Gastroenterology*. 2021, 27(26), 4045-4087.
112. PACKIAM, V. T.; LAMM, D. L.; BAROCAS, D. A.; TRAINER, A.; FAND, B. et al. An open label, single-arm, phase II multicenter study of the safety and efficacy of CG0070 oncolytic vector regimen in patients with BCG-unresponsive non–muscle-invasive bladder cancer: Interim results. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*. 2018, 36(10), 440-447.
113. PARATO, K. A.; BREITBACH, C. J.; LE BOEUF, F.; WANG, J.; STORBECK, C. et al. The Oncolytic Poxvirus JX-594 Selectively Replicates in and Destroys Cancer Cells Driven by Genetic Pathways Commonly Activated in Cancers. *Molecular Therapy*. 2012, 20(4), 749-758.
114. PASCUAL-PASTO, G.; BAZAN-PEREGRINO, M.; OLACIREGUI, N. G.; RESTREPO-PERDOMO, C. A.; MATO-BERCIANO, A. et al. Therapeutic targeting of the RB1 pathway in retinoblastoma with the oncolytic adenovirus VCN-01. *Science Translational Medicine*. 2019, 11(476).
115. PATEL, S. A. a MINN, A. J. Combination Cancer Therapy with Immune Checkpoint Blockade: Mechanisms and Strategies. *Immunity*. 2018, 48(3), 417-433.
116. POMERANTZ, M. M. a FREEDMAN, M. L. The Genetics of Cancer Risk. *The Cancer Journal*. 2011, 17(6), 416-422.
117. POSTRZECH, K.; WELZ, K.; KOPYRA, J. a REICH, A. Evaluation of the impact of ultraviolet B radiation on the epidermal barrier. *Dermatology Review/Przegląd Dermatologiczny*. 2010, 97(3), 171-175.
118. PRESTWICH, R. J.; ERRINGTON, F.; DIAZ, R. M.; PANDHA, H. S.; HARRINGTON, K. J. et al. The Case of Oncolytic Viruses Versus the Immune System: Waiting on the Judgment of Solomon. *Human Gene Therapy*. 2009, 20(10), 1119-1132.
119. PUZANOV, I.; MILHEM M. M.; MINOR D. et al. Talimogene Laherparepvec in Combination With Ipilimumab in Previously Untreated, Unresectable Stage IIIB-IV Melanoma. *Journal of Clinical Oncology*. 2016, 34(22), 2619-2626.

120. QI, L.; LI, G.; LI, P.; WANG, H.; FANG, X. et al. Twenty years of Gendicine® rAd-p53 cancer gene therapy: The first-in-class human cancer gene therapy in the era of personalized oncology. *Genes & diseases*. 2024, 11(4), 101-155.
121. RAHMAN, M. M. a MCFADDEN, G. Oncolytic Virotherapy with Myxoma Virus. *Journal of Clinical Medicine*. 2020, 9(1).
122. REDAELLI, M.; MUCIGNAT-CARETTA, C.; CAVAGGIONI, A.; CARETTA, A.; D'AVELLA, D. et al. Bovine herpesvirus 4 based vector as a potential oncolytic-virus for treatment of glioma. *Virology Journal*. 2010, 7(1).
123. RIES, S. a KORN, W. M. ONYX-015: mechanisms of action and clinical potential of a replication-selective adenovirus. *British Journal of Cancer*. 2002, 86(1), 5-11.
124. ROBINSON, C. M.; SINGH, G.; HENQUELL, C.; WALSH, M. P.; PEIGUE-LAFEUILLE, H. et al. Computational analysis and identification of an emergent human adenovirus pathogen implicated in a respiratory fatality. *Virology*. 2011, 409(2), 141-147.
125. ROSEWELL SHAW, A. a SUZUKI, M. Oncolytic Viruses Partner With T-Cell Therapy for Solid Tumor Treatment. *Frontiers in Immunology*. 2018, 9(2103).
126. RUSSELL, S. J.; FEDERSPIEL, M. J.; PENG, K.; TONG, C.; DINGLI, D. et al. Remission of Disseminated Cancer After Systemic Oncolytic Virotherapy. *Mayo Clinic Proceedings*. 2014, 89(7), 926-933.
127. SAMAL, S.K. (ed.). Newcastle disease and related avian paramyxoviruses. *The Biology of Paramyxoviruses*. 2011, 69–114.
128. SAUTÈS-FRIDMAN, C.; LAWAND, M.; GIRALDO, N. A.; KAPLON, H.; GERMAIN, C. et al. Tertiary Lymphoid Structures in Cancers: Prognostic Value, Regulation, and Manipulation for Therapeutic Intervention. *Frontiers in Immunology*. 2016, 7(407).
129. SELMAN, M.; OU, P.; ROUSSO, C.; BERGERON, A.; KRISHNAN, R. et al. Dimethyl fumarate potentiates oncolytic virotherapy through NF-kappaB inhibition. *Science Translational Medicine*. 2018, 10(425).
130. SHI, C.; HRUBAN, R. H. a KLEIN, A. P. Familial Pancreatic Cancer. 2009, 365-374.
131. SCHIFFMAN, J. D.; FISHER, P. G. a GIBBS, P. Early Detection of Cancer: Past, Present, and Future. *American Society of Clinical Oncology Educational Book*. 2015, 35, 57-65.
132. SCHILD, H.; VON HOEGEN, P. a SCHIRRMACHER, V. Modification of tumor cells by a low dose of Newcastle disease virus. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 1989, 28(1), 22-28.

133. SCHIRRMACHER, V. Molecular Mechanisms of Anti-Neoplastic and Immune Stimulatory Properties of Oncolytic Newcastle Disease Virus. *Biomedicines*. 2022, 10(3), 562.
134. SCHIRRMACHER, V.; FOURNIER, P. a SCHLAG, P. Autologous tumor cell vaccines for post-operative active-specific immunotherapy of colorectal carcinoma: long-term patient survival and mechanism of function. *Expert Review of Vaccines*. 2013, 13(1), 117-130.
135. SCHULZ, M.; HOFFMANN, K.; WEIKERT, C.; NÖTHLINGS, U.; SCHULZE, M. B. et al. Identification of a dietary pattern characterized by high-fat food choices associated with increased risk of breast cancer: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *British Journal of Nutrition*. 2008, 100(5), 942-946.
136. SIFRI, R.; GANGADHARAPPA, S. a ACHESON, L. S. Identifying and Testing for Hereditary Susceptibility to Common Cancers. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2004, 54(6), 309-326.
137. SILVERMAN, D. T.; DUNN, J. A.; HOOVER, R. N.; SCHIFFIMAN, M.; LILLEMOR, K. D. et al. Cigarette Smoking and Pancreas Cancer: a Case--Control Study Based on Direct Interviews. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*. 1994, 86(20), 1510-1516.
138. SIN, J.; MANGALE, V.; THIENPHRAPA, W.; GOTTLIEB, R. A. a FEUER, R. Recent progress in understanding coxsackievirus replication, dissemination, and pathogenesis. *Virology*. 2015, 484, 288-304.
139. SINGH, N. a JUNE, C. H. Boosting engineered T cells. *Science*. 2019, 365(6449), 119-120.
140. SLOAN, A.; BUERKI, R.; LANDI, D.; DESJARDINS, A.; FRIEDMAN, A. et al. CTIM-18. LUMINOS-101: INITIAL SAFETY AND TOLERABILITY OF PVSRIPO AND PEMBROLIZUMAB COMBINATION THERAPY IN RECURRENT GLIOBLASTOMA. *Neuro-Oncology*. 2021, 23(6), vi53–vi54.
141. SOROKINS, V.; TILGASE, A.; OLMANE, E.; ISAJEV, S.; ZABLOCKA, T. et al. A progressive stage IIIB melanoma treated with oncolytic ECHO-7 virus: A case report. *SAGE Open Medical Case Reports*. 2020, 8.
142. STANFORD, M. M.; WERDEN, S. J. a MCFADDEN, G. Myxoma virus in the European rabbit: interactions between the virus and its susceptible host. *Veterinary Research*. 2007, 38(2), 299-318.

143. SUNG, H.; FERLAY, J.; SIEGEL, R. L.; LAVERSANNE, M.; SOERJOMATARAM, I. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2021, 71(3), 209-249.
144. SURYADEVARA, C. M.; GEDEON, P. C.; SANCHEZ-PEREZ, L.; VERLA, T.; ALVAREZ-BRECKENRIDGE, C. et al. Are BiTEs the “missing link” in cancer therapy? *OncoImmunology*. 2015, 4(6).
145. TANG, B.; GUO, Z. S.; BARTLETT, D. L.; LIU, J.; MCFADDEN, G. et al. A cautionary note on the selectivity of oncolytic poxviruses. *Oncolytic Virotherapy*. 2019, 8, 3-8.
146. TANOUE, K.; ROSEWELL SHAW, A.; WATANABE, N.; PORTER, C.; RANA, B. et al. Armed Oncolytic Adenovirus–Expressing PD-L1 Mini-Body Enhances Antitumor Effects of Chimeric Antigen Receptor T Cells in Solid Tumors. *Cancer Research*. 2017, 77(8), 2040-2051.
147. THÈVES, C.; CRUBÉZY, E.; BIAGINI, P.; DRANCOURT, M. a RAOULT, D. History of Smallpox and Its Spread in Human Populations. *Microbiology Spectrum*. 2016, 4(4).
148. TILGASE, A.; GRĪNE, L.; BLĀĶE, I.; BORODUŠĶIS, M.; RASA, A. et al. Effect of oncolytic ECHO-7 virus strain Rigvir on uveal melanoma cell lines. *BMC Research Notes*. 2020, 13(1), 222.
149. TILGASE, A.; PATETKO, L.; BLĀĶE, I.; RAMATA-STUNDA, A.; BORODUŠĶIS, M. et al. Effect of the oncolytic ECHO-7 virus Rigvir® on the viability of cell lines of human origin in vitro. *Journal of Cancer*. 2018, 9(6), 1033-1049.
150. TODO, T.; INO, Y.; OHTSU, H.; SHIBAHARA, J. a TANAKA, M. A phase I/II study of triple-mutated oncolytic herpes virus G47Δ in patients with progressive glioblastoma. *Nature Communications*. 2022, 13(1).
151. TOOLAN, H. W.; DALLDORE, G.; BARCLAY, M.; CHANDRA, S. a MOORE, A. E. AN UNIDENTIFIED, FILTRABLE AGENT ISOLATED FROM TRANSPLANTED HUMAN TUMORS. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1960, 46(9), 1256-1258.
152. TOOLAN, H. W.; SAUNDERS, E. L.; SOUTHAM, C. M.; MOORE, A. E. a LEVIN, A. G. H-1 Virus Viremia in the Human. *Experimental Biology and Medicine*. 1965, 119(3), 711-715.

153. WAHI, M. M.; SHAH, N.; SCHROCK, C. E.; ROSEMURGY, A. S. a GOLDIN, S. B. Reproductive Factors and Risk of Pancreatic Cancer in Women: A Review of the Literature. *Annals of Epidemiology*. 2009, 19(2), 103-111.
154. WAN, S.; PESTKA, S.; JUBIN, R. G.; LYU, Y.; TSAI, Y. et al. Chemotherapeutics and Radiation Stimulate MHC Class I Expression through Elevated Interferon-beta Signaling in Breast Cancer Cells. *PLoS ONE*. 2012, 7(3).
155. WATANABE, K.; LUO, Y.; DA, T.; GUEDAN, S.; RUELLA, M. et al. Pancreatic cancer therapy with combined mesothelin-redredirected chimeric antigen receptor T cells and cytokine-armed oncolytic adenoviruses. *JCI Insight*. 2018, 3(7).
156. WING, A.; FAJARDO, C. A.; POSEY, A. D.; SHAW, C.; DA, T. et al. Improving CART-Cell Therapy of Solid Tumors with Oncolytic Virus-Driven Production of a Bispecific T-cell Engager. *Cancer Immunology Research*. 2018, 6(5), 605-616.
157. WINTER, J. M.; YEO, C. J. a BRODY, J. R. Diagnostic, prognostic, and predictive biomarkers in pancreatic cancer. *Journal of Surgical Oncology*. 2013, 107(1), 15-22.
158. WOLD, W. a TOTH, K. Adenovirus Vectors for Gene Therapy, Vaccination and Cancer Gene Therapy. *Current Gene Therapy*. 2014, 13(6), 421-433.
159. WOLFGANG, C. L.; HERMAN, J. M.; LAHERU, D. A.; KLEIN, A. P.; ERDEK, M. A. et al. Recent progress in pancreatic cancer. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2013, 63(5), 318-348.
160. YAMAGUCHI, T. a UCHIDA, E. Oncolytic Virus: Regulatory Aspects from Quality Control to Clinical Studies. *Current Cancer Drug Targets*. 2018, 18(2), 202-208.
161. YANG, K.; FENG, S. a LUO, Z. Oncolytic Adenovirus, a New Treatment Strategy for Prostate Cancer. *Biomedicines*. 2022, 10(12), 3262.
162. YU, L.; BAXTER, P. A.; ZHAO, X.; LIU, Z.; WADHWA, L. et al. A single intravenous injection of oncolytic picornavirus SVV-001 eliminates medulloblastomas in primary tumor-based orthotopic xenograft mouse models. *Neuro-Oncology*. 2010, 13(1), 14-27.
163. YU, Y. A.; GALANIS, C.; WOO, Y.; CHEN, N.; ZHANG, Q. et al. Regression of human pancreatic tumor xenografts in mice after a single systemic injection of recombinant vaccinia virus GLV-1h68. *Molecular Cancer Therapeutics*. 2009, 8(1), 141-151.
164. ZDZIENICKI, M.; RUTKOWSKI, P.; MULDER, E. a GRUNHAGEN, D. J. Talimogene Laherparepvec (T-VEC). *New Therapies in Advanced Cutaneous Malignancies*. 2021, 265-277.

165. ZHANG, Q.; LI, Y.; ZHAO, Q.; TIAN, M.; CHEN, L. et al. Recombinant human adenovirus type 5 (Oncorine) reverses resistance to immune checkpoint inhibitor in a patient with recurrent non-small cell lung cancer: A case report. *Thoracic Cancer*. 2021, 12(10), 1617-1619.
166. ZHANG, Q.; YU, Y. A.; WANG, E.; CHEN, N.; DANNER, R. L. et al. Eradication of Solid Human Breast Tumors in Nude Mice with an Intravenously Injected Light-Emitting Oncolytic Vaccinia Virus. *Cancer Research*. 2007, 67(20), 10038-10046.
167. ZHAO, Y.; LIU, Z.; LI, L.; WU, J.; ZHANG, H. et al. Oncolytic Adenovirus: Prospects for Cancer Immunotherapy. *Frontiers in Microbiology*. 2021, 12.
168. ZHU, S.; ZHANG, T.; ZHENG, L.; LIU, H.; SONG, W. et al. Combination strategies to maximize the benefits of cancer immunotherapy. *Journal of hematology & oncology*. 2021, 14(1), 156.