

Novi pristupi terapiji malignih tumora - onkolitički virusi

Hriberski, Lana

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:026826>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-14**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Lana Hriberski

**Novi pristupi terapiji malignih tumora –
onkolitički virusi**

Završni rad

Zagreb, 2022.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Lana Hriberski

**New approaches for malignant tumor
treatments – oncolytic viruses**

Bachelor thesis

Zagreb, 2022.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Molekularna biologija na Zavodu za molekularnu biologiju na Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom prof. dr. sc. Petre Korać.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Novi pristupi terapiji malignih tumora – onkolitički virusi

Lana Hriberski

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Maligni tumori su među vodećim uzrocima smrti na globalnoj razini. Razvoj učinkovitijih i specifičnijih metoda liječenja, kako bi se postigao porast stope preživljavanja bez bolesti, od iznimne je važnosti. Početkom prošlog stoljeća zabilježeno je nekoliko slučajeva remisije tumorske mase nakon virusne infekcije koji su ukazali na potencijalnu upotrebu virusa kao imunoterapijskih agensa. Razvojem genetičkog inženjerstva dizajnirani su prvi onkolitički virusi koji su selektivno uništavali tumorske stanice i aktivirali imunosni odgovor, dok su zdrave stanice ostale intaktne. Rigvir, Onkorin i T-VEC predstavljaju prva tri lijeka temeljena na djelovanju onkolitičkih virusa koja se primjenjuju u liječenju malignih tumora te se neprestano istražuju mnoge druge virusne vrste s jednakim djelovanjem u pretkliničkim ili kliničkim studijima. Onkolitička viroterapija predstavlja veoma onkoselektivnu, učinkovitu i biološki sigurnu metodu u liječenju malignih tumora, no pokazuje i određene nedostatke. Moderne tehnologije omogućavaju razvoj i modifikaciju onkolitičkih virusa, što povećava i njihov potencijal u liječenju malignih tumora, i u monoterapiji i kombiniranoj terapiji. U budućnosti, primjena onkolitičke viroterapije predstavljala bi prekretnicu u liječenju tumora.

Ključne riječi: onkolitički virus, tumorske stanice, imunosni odgovor, klinička istraživanja, terapije

(22 stranice, 3 slike, 55 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici
Mentor: prof. dr. sc. Petra Korać

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

New approaches for malignant tumor treatment – oncolytic viruses

Lana Hriberski

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Malignant tumors are among the leading causes of death worldwide. The development of more effective and specific treatment methods, to achieve an increase in disease-free survival rates, is of paramount importance. At the beginning of the last century, several cases of tumor remission after viral infection were recorded, which indicated the potential use of viruses as immunotherapeutic agents. With the development of genetic engineering, the first oncolytic viruses were designed that selectively destroyed tumor cells and activated the immune response, while the healthy cells remained intact. Rigvir, Onkorin and T-VEC represent the first three drugs based on the activity of oncolytic viruses that are used in the treatment of malignant tumors, and many other virus species with the same activity are constantly being investigated in preclinical or clinical trials. Oncolytic virotherapy represents a very oncoselective, effective and biosafe method in the treatment of cancer, but it also reveals certain disadvantages. Advancements in technology enable the development and modifications of oncolytic viruses, which increases their potential in the treatment of malignant tumors, both in monotherapy and combined therapy. In the future, the use of oncolytic virotherapy would represent a turning point in the treatment of tumors.

Keywords: oncolytic virus, tumor cells, immune response, clinical trials, therapies

(22 pages, 3 figures, 55 references, original in: Croatian)

Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: prof. dr. sc. Petra Korać

Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Dosadašnji pristupi liječenja malignih tumora i njihovi nedostaci	2
3. Onkolitički virusi.....	3
3.1. Počeci onkolitičke terapije	3
3.2. Karakteristike optimalnog virusa za onkolitičku terapiju	4
3.2.1. Selektivnost	4
3.2.2. Izbjegavanje imunosnog odgovora.....	6
3.2.3. Sigurnost.....	7
3.3. Mehanizam djelovanja onkolitičkih virusa.....	7
3.3.1. Onkoliza	7
3.3.2. Poticanje imunosnog odgovora	10
3.4. Odobreni lijekovi temeljeni na djelovanju onkolitičkih virusa.....	12
3.4.1. Rigvir.....	12
3.4.2. Onkorin.....	13
3.4.3. T-VEC	13
3.5. Prednosti i nedostaci viroterapije	15
4. Zaključak	17
5. Literatura.....	18
6. Životopis.....	22

1. Uvod

Nakupina genetski, morfološki, biokemijski i funkcionalno promijenjenih stanica određenog tkiva, koje se nekontrolirano proliferiraju i nakon što je faktor koji ih je prouzročio prestao djelovati, naziva se tumor ili neoplazma (Couch, 1996). Hiroshi Tanooka (1988) prvi je opisao metode kojima je dokazao monoklonsko podrijetlo tumora, osobitost da potječe od jedne stanice koja je nakupila specifične promjene u genomu. Uz monoklonsko porijeklo, tumorska masa je i heterogena što znači da proces njezinog nastanka nije posljedica samo jedne genetske promjene, već nakupljanja velikog broja ireverzibilnih i trajnih genetskih nestabilnosti, koje su ujedno i jedan od razloga izrazito teške izlječivosti ovih bolesti (Dagogo-Jack i Shaw, 2017). Samo nekoliko od mnogobrojnih karakteristika stanica malignih tumora koje ih razlikuju od normalnih stanica su: besmrtnost, smanjena potreba za faktorima rasta, nedostatak kontaktne inhibicije, nekontroliran rast, promjene u regulaciji staničnog ciklusa te nemogućnost ulaska u apoptozu, alteracije u staničnoj membrani, brojne metaboličke abnormalnosti, promjene u signalnim putovima i angiogeneza (Ruddon, 2003). Na nastanak malignih bolesti utječu endogeni faktori kao što su dob, spol, rasa te genetski profil, a ponajviše egzogeni faktori kao što su kemijski agensi, ionizirajuće zračenje, karcinogeni iz hrane, pušenje, alkohol, psihološki čimbenici, mikroorganizmi i mnogi drugi (Greenwald, 1992). Stupnjeviti razvoj tumora započinje nakupljanjem dovoljno nepovratnih mutacija koje će omogućiti preživljavanje i proliferaciju stanica do stadija nastanka tumorske mase sa sve agresivnijim fenotipom. Agresivniji fenotip veže se uz maligne tumore koji se razlikuju od benignih tumora po svojstvu da puno brže rastu i imaju potencijal širenja na udaljenija mjesta od primarnog tumora, tj. potencijal stvaranja metastaza (Weston i Harris, 2003).

Međunarodna agencija za istraživanje malignih bolesti (IARC, od engl. *International Agency for Research on Cancer*), u sklopu Svjetske zdravstvene organizacije (WHO, od engl. *World Health Organization*) provodi istraživanja te prikuplja podatke o incidenciji i mortalitetu malignih tumora na globalnoj razini. Prema njihovom posljednjem istraživanju procijenjeno je da je u 2020. godini novodijagnosticirano 19,3 milijuna slučajeva malignih tumora te skoro 10 milijuna smrtnih slučajeva, čineći tako maligne tumore jednim od vodećih uzroka smrti u svijetu (Sung i sur., 2021).

Velika stopa smrtnosti, neučinkovitost terapija koje se trenutno koriste te njihove popratne nuspojave, razlozi su da se pokušavaju pronaći novi pristupi liječenja malignih tumora koji će

djelovati selektivno na eliminaciju tumorskih stanica s minimalnim neželjenim učincima (Terrível i sur., 2019). Tijekom povijesti zabilježeno je nekoliko slučajeva regresije tumorskih masa kod pacijenata koji su bili spontano inficirani virusima (Russell i Peng, 2018). Primjena virusa u liječenju malignih tumora, poznata još pod nazivom onkolitička viroterapija, nakon tradicionalne kemoterapije i ciljane terapije, predstavlja metodu s najvećim potencijalom u liječenju tumorskih bolesti (Cao i sur., 2020).

2. Dosadašnji pristupi liječenja malignih tumora i njihovi nedostaci

Najčešće korištene metode u liječenju malignih tumora uključuju tradicionalno kirurško odstranjenje tumora, kemoterapiju i radioterapiju te noviji imunoterapijski pristup koji predstavlja oblik ciljane terapije. Iako navedeni pristupi povećavaju šansu za oporavak, to nije uvijek slučaj zbog njihovih postojećih ograničenja (Cao i sur., 2020).

Operacija ili kirurško odstranjenje tumora bila je prva metoda koja se počela primjenjivati u liječenju tumorskih bolesti. Uglavnom se koristi za pacijente kojima je dijagnosticiran tumor u ranoj fazi, no može postati ograničavajuća metoda i za takve pacijente ovisno o lokaciji tumora (npr. ako se tumor nalazi blizu vitalnih organa kao što su velike krvne žile i srce), vrsti tumora (npr. ako se radi o sistemskom tumoru kao što je leukemija) te sposobnosti invazije tumorskih stanica (Cao i sur., 2020; DeVita i sur., 2014). S druge strane, glavno ograničenje kemoterapije i radioterapije je u tome što osim što uništavaju maligne stanice, oštećuju i stanice zdravog tkiva (Gao i sur., 2019). Mnogobrojne su nuspojave obje terapije te ih većina pacijenata teško podnosi. Imunoterapija, kao vrsta ciljane terapije, ima ograničenje u smislu samog cilja na koji djeluje, to jest prikladna je samo za dio pacijenata čiji tumor iskazuje specifična svojstva (Duan i sur., 2018). Nadalje, postoji mogućnost prejake aktivacije imunskog sustava kada imunoterapija može imati jednake nedostatke kao kemoterapija i radioterapija – uništavanje zdravih stanica (National Cancer Institute, 2019).

Budući da su navedene metode koje se koriste u onkologiji u velikoj mjeri nedostatne, pokušavaju se razviti nove metode koje će ciljano ukloniti sve maligne stanice sa smanjenom stopom potencijalno opasnih nuspojava (Cao i sur., 2020).

3. Onkolitički virusi

Onkolitički virusi su terapijski agensi koji selektivno ubijaju tumorske stanice i aktiviraju antitumorsku imunost bez uništenja normalnih, netumorskih stanica (Bai i sur., 2019; Russell i Peng, 2007). Postoje divlji tipovi virusa koji imaju svojstvo prirodnog tropizma prema stanicama tumora, kao što su neki reovirusi i virus vezikulskog stomatitisa, te genetski modificirani virusi koji su promijenjeni kako bi stekli onkotropno i onkolitičko obilježje, primjerice adenovirusi i virus herpes simpleks tip 1 (Chiocca, 2002). Znatno broj onkovirusa proučava se u kliničkim studijama te, zasad, ne pokazuju smrtne ishode ili klinički ozbiljne nuspojave. Naprotiv, obećavajuća strategija protiv malignih tumora mora biti visoko učinkovita, praćena s nikakvim ili lakšim nuspojavama te biti sigurna za upotrebu, a to su karakteristike koje se u posljednje vrijeme pripisuju i onkolitičkoj viroterapiji (Mondal i sur., 2020).

3.1. Počeci onkolitičke terapije

Princip korištenja virusa za liječenje tumora prisutan je više od 100 godina, a prva istraživanja radio je dr. George Dock još 1904. godine kada je uočio da je u pacijentici koja je bolovala od leukemije, nakon što je bila zaražena virusom gripe, došlo do remisije tumora. Nakon toga opisano je još nekoliko slučajeva u kojima je nekroza virusnih stanica uslijedila nakon virusne infekcije, primjerice 1912. godine kod pacijentice s karcinomom cerviksa koja je ugrizom psa bila zaražena virusom bjesnoće, te 1949. godine kada je 21 pacijent koji je imao Hodgkinov limfom bio uspješno tretiran s ekstraktom koji je sadržavao virus hepatitisa B (Cao i sur., 2020; Hoster i sur., 1949).

U nadolazećim desetljećima proveden je veliki broj istraživanja s divljim tipovima virusa kako bi se postiglo njihovo onkolitičko svojstvo, no zbog nepostojanja ili neusavršenosti genetičkih metoda da se regulira virusni tropizam i infektivnost, uspjeh je bio ograničen (Santos Apolonio i sur., 2021). Tek 80-ih godina prošlog stoljeća s razvojem genetičkog inženjerstva započinje razdoblje modifikacije virusnog genetskog materijala, što je omogućilo povećanje specifičnosti i učinkovitosti u infekciji promijenjenih stanica tkiva (Cao i sur., 2020; Santos Apolonio i sur., 2021). Prvi genetski izmijenjeni virus bio je virus herpes simpleks tip 1 (HSV-1, od engl. *herpes simplex virus type 1*). Taj je mutant imao mutaciju unutar gena koji

kodira enzim timidinsku kinazu što je omogućilo inhibiciju rasta stanica ljudskog glioma koje su bile implantirane u mozak miša (Martuza i sur., 1991). Do 2020. godine tri su onkolitička virusa bila u kliničkoj uporabi: Rigvir, Onkorin i T-VEC, a drugih je šest lijekova temeljenih na djelovanju virusa u prekliničkoj fazi istraživanja s obećavajućim eksperimentalnim rezultatima (Cao i sur., 2020).

3.2. Karakteristike optimalnog virusa za onkolitičku terapiju

Postoji nekoliko svojstva koje virus treba imati kako bi postao onkolitički virus. To su: selektivnost, izbjegavanje imunskog odgovora i sigurnost.

3.2.1. Selektivnost

Najvažnija karakteristika onkolitičkog virusa je da ulazi i selektivno se umnožava samo u tumorskim stanicama, bez da izaziva oštećenje stanica zdravog tkiva, što se ujedno naziva i virusnim tropizmom prema malignim stanicama (Howells i sur., 2017). Neki virusi prirodno pokazuju tumorsku selektivnost, dok se drugi genetski modificiraju kako bi se njima postigao onkolitički učinak (Chiocca, 2002). Sposobnost onkolitičkog virusa da inficira samo maligne stanice ovisi o karakteristikama tumorskih stanica i karakteristikama samog virusa te faktorima koji reguliraju vezanje i ulazak virusa u stanicu i njegovu replikaciju (Kaufman i sur., 2015).

Najčešće su receptori specifični za virus prekomjerno eksprimirani na površinama malignih stanica što virusima olakšava ulazak i ramnožavanje isključivo u njima budući da ulaze mehanizmom posredovanim receptorima (Lawler i sur., 2017). Tako, na primjer, poliovirus prepoznaje vlastiti receptor CD155 kako bi ušao u stanicu domaćina i umnožio se. Budući da mnoge ljudske tumorske stanice imaju povećan broj receptora CD155 u usporedbi s normalnim stanicama, takva prekomjerna ekspresija čini tumorske stanice podložnije vezanjem poliovirusa za stanicu i konačno uništenjem (lizom) inficiranih stanica (Vähä-Koskela i sur., 2007). No, mnogi drugi virusi za ulazak u tumorske stanice koriste receptore koji su u jednakoj količini prisutni i na normalnim stanicama. Kako bi se smanjila opasnost za zaražavanjem zdravih stanica, postoje različiti načini usmjeravanja virusa isključivo na promijenjene stanice, a neki od njih su: iskorištavanje promijenjenih antivirusnih signalnih putova i ekspresije virusnih

proteina u tumorskim stanicama, manipulacija virusnih proteina, ciljanje miRNA te genska izmjena virusa (Howells i sur., 2017).

Neki virusi pokazuju prirodnu selektivnost prema tumorskim stanicama vezanjem za postojeće receptore karakteristične za promijenjene stanice. No, postoje virusi kojima se modificiraju proteini za vezanje na stanice pomoću jednolančanih antitijela ili polipeptidnih liganada kako bi se potaknulo njihovo vezanje na receptore tumorskih stanica (Lin i sur., 2018). Receptor plazminogenog aktivatora urokinaznog tipa (uPAR, od engl. *urokinase-type plasminogen activator receptor*) eksprimiran je na mnogim tumorima. Rekombinantni urokinazni aktivator plazminogena (UPA, od engl. *urokinase plasminogen activator*) daje sposobnost virusu ospica da specifično zaražava tumorske stanice koje prekomjerno eksprimiraju uPAR putem interakcije receptor-ligand (Jing i sur., 2009).

Prisutnost promijenjenih antivirusnih signalnih putova u tumorskim stanicama može se iskoristiti kao dodatna strategija u postizanju selektivne replikacije onkolitičkih virusa. Tako na primjer, virus vezikulskog stomatitisa (VSV, od engl. *vesicular stomatitis virus*) sintetizira protein matriksa (M) bitan u sastavljanju virusnih dijelova te inhibiciji interferonskog (IFN) odgovora koji sudjeluje u antivirusnoj obrani. Istraživanja su pokazala da VSV s mutiranim M proteinom predstavlja zadovoljavajućeg kandidata za onkolitičku terapiju. Naime, tumorske stanice često imaju neispravan imunski odgovor posredovan IFN-om, što ih čini idealnim mjestom replikacije VSV-a s promijenjenim proteinom M. Istovremeno, normalne stanice ostaju intaktne jer mutirani protein M virusa vezikulskog stomatitisa ne može inhibirati signalni put IFN te je time aktivacija antivirusnog djelovanja omogućena (Yang i sur., 2021).

Modifikacije u području promotora specifičnih za tumore odražavaju se na transkripciju i kontrolu genske ekspresije što se također može upotrijebiti u unaprjeđenju selektivnosti onkolitičkih virusa. Stavljanje ključnih virusnih gena (kao što je gen *E1* krucijalan za virusnu replikaciju) pod promotore specifične za tumore koji su visoko eksprimirani u promijenjenim stanicama (kao što je promotor hTERT (od engl. *human telomerase reverse transcriptase*) koji održava dužinu telomera) ima za posljedicu njihovu ekspresiju isključivo u tumorskom tkivu. Ljudski TERT veoma je malo ili nije uopće ekspimiran u normalnim stanicama, stoga se onkotropni virusi u njima neće umnažati. Na ovaj način genetski je promijenjen adenovirus OBP-301 (Lin i sur., 2018).

Ciljanje miRNA je među najnovijim tehnikama koje se koriste za stimulaciju virusnog onkotropizma (Terrível i sur., 2019). MiRNA su male nekodirajuće RNA molekule koje

komplementarnim vezanjem na molekule mRNA mogu posttranskripcijski regulirati gensku ekspresiju (Hikichi i sur., 2011). Mnoge maligne stanice karakterizira poremećena ekspresija miRNA što se može iskoristiti za poticanje selektivne virusne replikacije u takvim stanicama (Hikichi i sur., 2011). Primjerice, maligne stanice pacijenata s hepatocelularnim karcinomom imaju smanjenu ekspresiju miR-199. S druge strane, normalne stanice imaju povećanu koncentraciju molekula miRNA što se može iskoristiti za utišavanje ekspresije virusnih gena. Radi toga je redizajniran genom virusa Ad-199T tako da sadrži specifične sekvencije komplementarne miR-199 u 3' netranslatirajućoj regiji gena *E1A*, ključnog za virusno umnožavanje. Takva modifikacija potiče selektivnu replikaciju u stanicama koje ne ekspimiraju miR-199, što nadalje potiče onkolizu tumorskih stanica bez učinka na normalne stanice (Callegari i sur., 2013).

Mnogim je virusima usmjerena selektivnost prema tumorskim stanicama delecijom gena ključnih za umnožavanje u zdravim stanicama. Tako je, primjerice, genetski modificiran virus vakcinije (VV, od engl. *Vaccinia virus*) tako što mu je deletiran gen koji kodira za enzim timidin kinazu (TK, od engl. *thymidine kinase*), koji ima esencijalnu ulogu u replikaciji molekule DNA. Na taj način je rekombinantnom VV spriječena replikacija u normalnim stanicama, dok mu je omogućena replikacija isključivo u tumorskim stanicama koje povećano ekspimiraju gen *TK* te nadomještaju njegov nedostatak u virusnom genomu (Howells i sur., 2017).

3.2.2. Izbjegavanje imunskog odgovora

Važno je da onkolitički virus ne bude neutraliziran od strane imunskog sustava (Maroun i sur., 2017). Izbjegavanje reakcije imunskog sustava moguće je odabirom virusa koji brzo dolaze do tumorske mase, njome se brzo šire i repliciraju.

RNA-virusi su manji od DNA-virusa stoga lakše prolaze fizičke barijere i jednostavnije difundiraju kroz tumorsku masu. Između ostalog, puno brže ubijaju tumorske stanice jer je za replikaciju dovoljan ulazak u citoplazmu, a ne i u jezgru što je slučaj za DNA-viruse. S druge strane, s manjim genomima puno je teže genetski manipulirati (Zheng i sur., 2019; Bommarreddy i sur., 2018). Također, ako je virus omotan kapsidom ili proteinskim omotačem veća je vjerojatnost da će biti eliminiran imunskim odgovorom te će mu onkolitička snaga biti umanjena (Zheng i sur., 2019). Predložene strategije za izbjegavanje virusne neutralizacije uključuju: ukapljanje onkolitičkih virusa unutar liposoma ili staničnih vektora (npr.

dendritičnih ili mezenhimskih matičnih stanica), izmjenu virusnih serotipa, kombiniranu terapiju s imunosupresantima, modificiranje proteinskog omotača i mnoge druge (Terrível i sur., 2019; Jayawardena i sur., 2020).

Već prisutna neutralizacijska antitijela u organizmu, kao posljedica prijašnjeg kontakta s virusom, negativno utječu na učinkovitost terapije. Upravo zbog toga prije prve onkolitičke terapije potrebno je proučiti povijest viroza za svakog individualnog pacijenta kako bi terapija bila progresivnija svakom sljedećom dozom (Russell i Peng, 2017).

3.2.3. Sigurnost

Glavni cilj ovog područja je razviti onkolitičke viruse koji će biti sigurni za upotrebu, bez opasnijih popratnih pojava i rizika širenja virusa u populaciji (Terrível i sur., 2019). Najčešće nuspojave nakon onkolitičke viroterapije su blagi simptomi nalik gripi, lokalna bol, svrbež, eritema i periferni edem, koji uglavnom nestanu korištenjem nesteroidnih antireumatika ili nakon nekoliko dana bez potrebe za intervencijom liječnika. U nekoliko slučajeva zabilježeni su teži simptomi, no oni nisu ugrozili živote pacijenata te su se mogli tretirati. Drugi potencijalan problem sigurnosti onkolitičkih virusa veže se uz mogućnost širenje virusa na bliske kontakte te zdravstvene djelatnike koji su bili izloženi izlučevinama pacijenata koji su primili viroterapiju (Santos Apolonio i sur., 2021).

3.3. Mehanizam djelovanja onkolitičkih virusa

Iako nije u potpunosti dokazano, smatra se da mehanizam djelovanja onkolitičkih virusa odvija kroz dva glavna koraka: izravnom lizom inficiranih stanica, tj. onkolizom, i neizravnim poticanjem antitumorskog imunskog odgovora (Davola i Mossman, 2019).

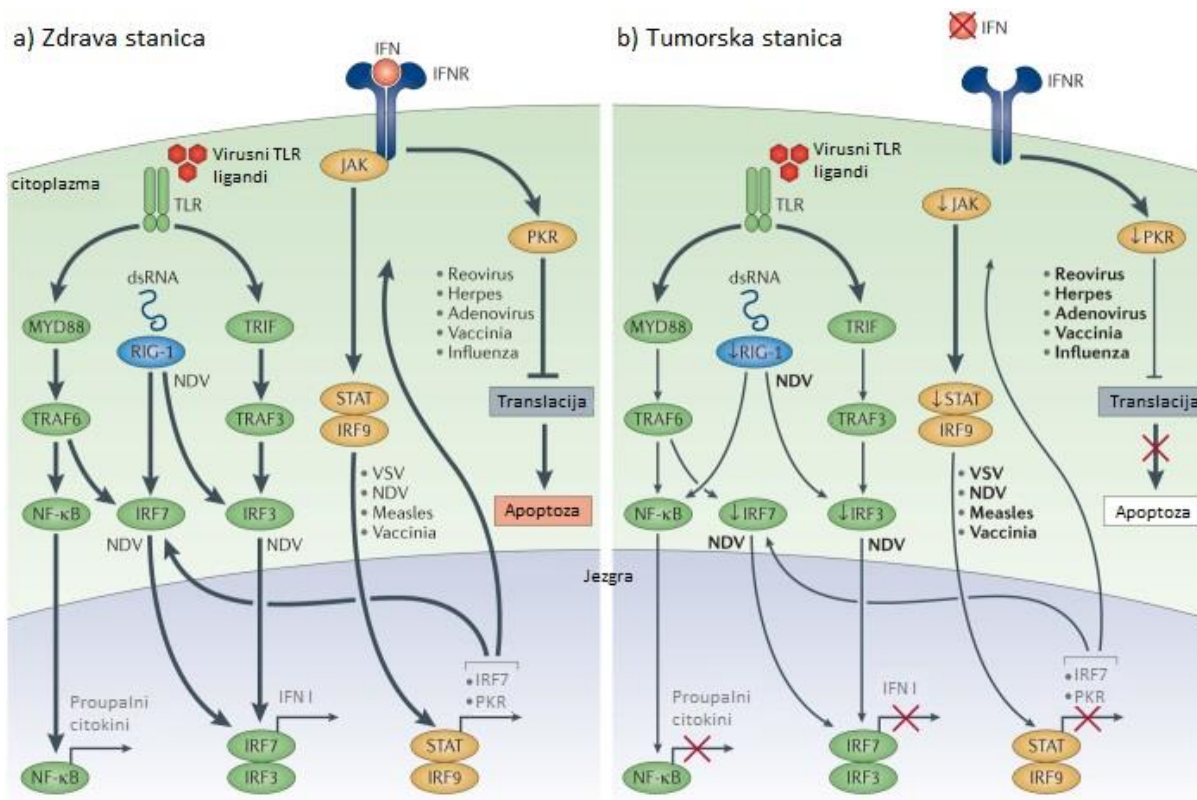
3.3.1. Onkoliza

Prvi korak onkolitičke terapije odnosi se na upotrebu onkotropnih virusa koji će potaknuti onkolizu, odnosno proces uništenja tumorskih stanica. Nakon ulaska virusa u stanicu preko specifičnog receptora, slijedi okupiranje i iskorištavanje stanične mašinerije tumorskih stanica

za sintezu vlastitih proteina i nukleinskih kiselina. Proizvodnju virusnih sastavnica prati sastavljanje novih virusa koji liziraju inficiranu stanicu te zaražavaju nezaražene atipične stanice. Mogućnost njihovog litičkog djelovanja ovisi o vrsti tumora, dozi, prirodnom ili potaknutom onkotropizmu i provođenju različitih oblika stanične smrti od strane tumorskih stanica (Kaufman i sur., 2015; Bai i sur., 2019).

U zdravim stanicama postoje različiti signalni putovi koji omogućavaju identifikaciju i eliminaciju virusa. Ulaskom virusa u organizam dolazi do aktivacije brojnih signalnih putova koji prepoznaju molekularne obrasce povezane s patogenom (PAMP, od engl. *pathogen-associated molecular pattern*) koji su dijelovi virusnih proteina, nukleinskih kiselina i proteinskog omotača. Put pokretanja antivirusnog odgovora i aktivacije imunskog sustava započinje prepoznavanjem virusnih sastavnica od strane receptora nalik proteinima Toll (TLR, od engl. *toll-like receptors*), prepoznavanjem virusnog genoma od strane gena induciranih putem retinoične kiseline (RIG-1, od engl. *retinoic acid-inducible gene 1*) ili vezanjem lokalno otpuštenih interferonskih molekula na receptor. Nakon prepoznatih komponenata, dolazi do aktivacije proteina MYD88, TRIF, IFN7 i IFN3 te NF- κ B koji pojačavaju sintezu i lokalno oslobađanje proupalnih citokina i interferona tipa 1 (IFN-1). Zatim, pod djelovanjem IFN aktiviraju se kaskadni signalni putovi koji uključuju signalne putove JAK, STAT i IRF9, koji igraju ulogu u regulaciji proteina PKR i IRF7. PKR i IRF7 su glavni faktori u obrani protiv virusne infekcije - zaustavljaju sintezu staničnih proteina, pokreću brzu staničnu smrt zaraženih stanica te pojačavaju lokalno otpuštanje citokina koji su neophodni u virusnoj obrani organizma (Slika 1. a)).

S druge strane, tumorske stanice podložnije su replikaciji onkolitičkih virusa zbog utišanih signalnih putova koji uključuju RIG-1, IRF7 te IRF3, što posljedično utječe i na otežano prepoznavanje virusnih elemenata od strane receptora TLR i RIG-1. Transformirane stanice tumora često imaju promijenjenu aktivnosti PKR i signalnog puta IFN što potiče replikaciju virusa, a ne njihovu eliminaciju kao u slučaju zdravih stanica (Slika 1. b)). Blokiran ulazak u staničnu smrt virusima daje više vremena kako bi se umnožili, a stanična smrt će se ponovno potaknuti tek nakon što završe svoj životni ciklus. Nastupljena stanična smrt može izravno uništiti maligne stanice i indirektno potaknuti aktivaciju imunskog odgovora otpuštanjem tumorskih antigena (Kaufman i sur., 2015).

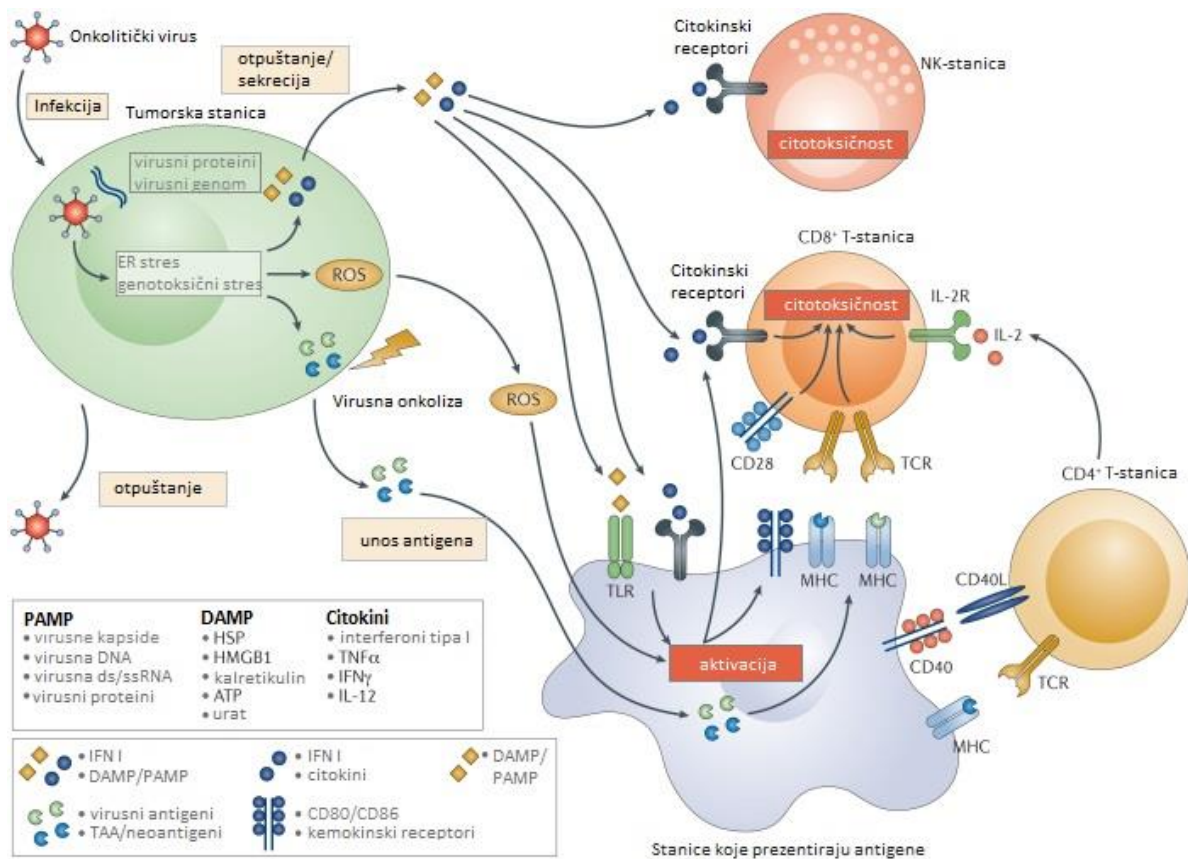


Slika 1. a) Put aktivacije antivirusnog imunskog odgovora u zdravoj stanici neposredno nakon virusne infekcije. **b)** Tumorske stanice imaju promijenjene signalne putove uključene u prepoznavanje virusnih elemenata, virusnu replikaciju i eliminaciju (preuzeto i prilagođeno iz Kaufman i sur., 2015).

(IFN = interferon, IFNR = interferonski receptor (od engl. *IFN receptor*), TLR = receptor nalik proteinima Toll (od engl. *toll-like receptors*), RIG-1 = gen 1 induciran putem retinoične kiseline (od engl. *retinoic acid-inducible gene 1*), MYD88 = faktor mijeloidne diferencijacije 88 (od engl. *myeloid differentiation primary response 88*), TRAF = faktor povezan s receptorom za TNF (od engl. *TNF receptor-associated factor*), TRIF = adaptacijski protein s TIR domenom koji inducira IFN- β (od engl. *TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β*), NF- κ B = jezgrin čimbenik kappa B (od engl. *nuclear factor kappa B*), IRF = interferonski regulatorni faktor (od engl. *interferon regulatory factor*), JAK = Janus kinaza, STAT = pretvarač signala i aktivator transkripcije (od engl. *signal transducer and activator of transcription*), PKR = protein kinaza R, dsRNA = dvolančana RNA (od engl. *double-stranded RNA*), NDV = virus newcastleske bolesti (od engl. *Newcastle disease virus*), VSV = virus vezikulskog stomatitisa)

3.3.2. Poticanje imunskog odgovora

Cilj onkolitičke viroterapije nije samo uništavanje tumorskih stanica. U drugom koraku aktivira se imunski sustav koji je inače utišan tumorskim mikrookolišem (Marelli i sur., 2018). Jedna od karakteristika progresije malignih tumora je izbjegavanje imunskog nadzora što tumorske stanice postižu stvaranjem imunosupresivnog mikrookoliša, primjerice, lučenjem različitih faktora rasta, smanjenom ekspresijom citokina ili promjenom nespecifičnih agresivnih makrofaga M1 u tip M2, koji potiču angiogenezu, sekreciju faktora rasta i daljnju karcinogenezu (Bai i sur., 2019; Zitvogel i sur., 2006). Virusnu infekciju tumorskih stanica karakterizira stres endoplazmatskog retikuluma i genotoksični stres koji potiču stvaranje i otpuštanje reaktivnih kisikovih spojeva, virusnih i tumorskih antigena te takozvanih „opasnih signala“ koji će potaknuti imunski odgovor (Bai i sur., 2019; Kaufman i sur., 2015). Imunostimulirajući „opasni signali“ uključuju virusne molekule PAMP, molekularne obrasce povezane s oštećenjem (DAMP, od engl. *damage-associated molecular pattern*; npr. ATP, *heat shock* proteini i kalretikulin) te citokine (interleukine, tumorski faktor nekroze (TNF- α), interferone, kemokine,...) koji se pomoću stanica koje prezentiraju antigene (APC, od engl. *antigen-presenting cells*) predstavljaju stanicama imunskog sustava, kao što su citotoksični (CD8⁺) i pomoćnički (CD4⁺) T-limfociti i NK-stanice (NK, od engl. *natural killer*) (Kaufman i sur., 2015). Također, u mikrookoliš se otpuštaju i tumorski antigeni (TAA, od engl. *tumor-associated antigens*) koji, uz otpuštene citokine i DAMP molekule, doprinose privlačenju i aktivnosti imunskih stanica (Bai i sur., 2019). Interferoni tipa 1 i molekule DAMP direktno aktiviraju NK-stanice, molekule PAMP i DAMP aktiviraju imunski sustav vezanjem na TLR-receptore stanica koje prezentiraju antigene, dok se virusni i tumorski antigeni predstavljaju CD4⁺- i CD8⁺-stanicama preko MHC-molekula (Slika 2.). Imunski sustav povezuje se i s tzv. efektom promatrača (od engl. *bystander effect*) u kojem lokalno otpuštanje tumorskih faktora može izazvati imunski odgovor i udaljenih neinficiranih tumorskih stanica koje ekspimiraju tumorske antigene (Sprague i sur., 2018).



Slika 2. Aktivacija antivirusnog i antitumorskog imunskog odgovora nakon infekcije tumorske stanice onkolitičkim virusom (preuzeto i prilagođeno iz Kaufman i sur., 2015).

(ROS = reaktivni kisikovi spojevi (od engl. *reactive oxygen species*), ER = endoplazmatski retikulum, NK-stanica = prirodna stanica ubojica (od engl. *natural killer*), CD8⁺ T-stanica = citotoksični T-limfocit, CD4⁺ T-stanica = pomoćnički T-limfocit, IL= interleukin, IL-R = interleukin receptor, CD = biljeg diferencijacije (od engl. *cluster of differentiation*), TCR = receptor T-stanica (od engl. *T-cell receptor*), CD40L = CD40 ligand, MHC = glavni kompleks histokompatibilnosti (od engl. *major histocompatibility complex*), TLR = receptor nalik proteinima Toll (od engl. *toll-like receptor*), PAMP = molekularni obrasci povezani s patogenom (od engl. *pathogen-associated molecular patterns*), dsRNA = dvolančana RNA (od engl. *double-stranded RNA*), ssRNA = jednolančana RNA (od engl. *single-stranded RNA*), DAMP = molekularni obrasci povezani s oštećenjem (od engl. *danger-associated molecular pattern signals*), HSP = protein toplinskog šoka (od engl. *heat shock protein*), HMGB1 = proteini visoke mobilnosti iz skupine 1 (od engl. *high mobility group box*), ATP = adenozin trifosfat, TNF α = tumorski faktor nekroze α (od engl. *tumor necrosis factor- α*), IFN = interferon (od engl. *interferon*), TAA = antigeni povezani s tumorom (od engl. *tumor-associated antigens*))

Onkolitički virusi ulaskom u organizam stimuliraju antivirusni imunski odgovor, odnosno stimuliraju djelovanje imunskog sustava protiv njih samih, te ujedno i protiv njihovog onkolitičkog efekta i poticanja antitumorske imunosti. Jedan od izazova unaprjeđenja onkolitičkih virusa odnosi se na uspostavu ravnoteže između antivirusne i antitumorske imunosti (Marelli i sur., 2018). Buduća istraživanja je potrebno usmjeriti prema pronalaženju ili modifikaciji virusa koji će se brzo umnožavati i širiti tumorom te inducirati najsnažniji antitumorski odgovor prije njihove eliminacije iz organizma (Li i sur., 2017).

3.4. Odobreni lijekovi temeljeni na djelovanju onkolitičkih virusa

Mnogo se virusnih sojeva tehnikama genetičkog inženjerstva izmjenjuje i ispituje u prekliničkim i kliničkim testiranjima kako bi se ustanovio njihov onkolitički i onkotropni potencijal. Zasad, tri su pokazala zadovoljavajuće rezultate i sigurnost upotrebe u terapiji tumora: Rigvir, Onkorin i T-VEC.

3.4.1. Rigvir

Rigvir ili Riga-virus je prvi nemodificirani i nepatogeni lijek koji se temelji na djelovanju onkolitičkog i onkotropnog virusa grupe ECHO tipa 7 koji spada u rod *Enterovirus* i porodicu *Picornaviridae* (Donina i sur., 2015). Prvi je odobreni lijek u terapiji melanoma u Latviji od 2004. godine, no mnoge države ga i dalje ne priznaju zbog nedostatka objavljenih medicinskih dokaza o njegovim biološkim karakteristikama i djelotvornosti (Donina i sur., 2015; Cao i sur., 2020). Među malobrojnim istraživanjima provedenih na njemu koji su dostupni na engleskom jeziku, izdvaja se istraživanje koje je pokazalo da pacijenti koji su preoperativno primili terapiju Rigvirom imaju bolju prognozu preživljavanja od pacijenata koji su prošli samo kirurško odstranjivanje tumorske mase. Rezultati su se odnosili samo na pacijente s malignim tumorom kože u ranoj fazi nastanka, dok značaj terapije za pacijente s melanomom visokog stupnja nije istražen (Cao i sur., 2020). No, to otvara prostor za daljnja istraživanja koja su potrebna kako bi se otkrio mehanizam djelovanja lijekova temeljenih na Riga-virusu jer predstavljaju obećavajuću imunoterapijsku metodu kao monoterapija te kao kombinatorna terapija (Cao i sur., 2020).

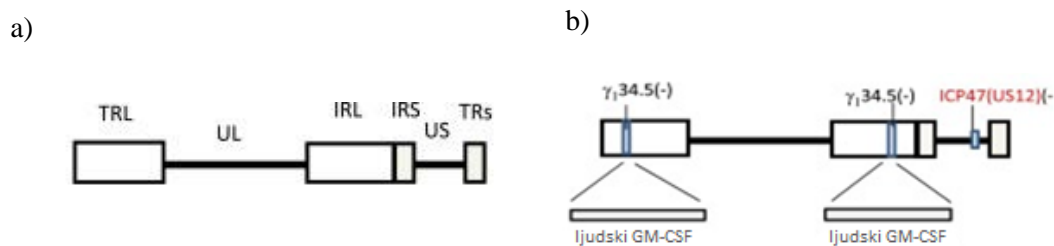
3.4.2. Onkorin

Onkorin, poznat još kao H101, lijek je temeljen na rekombinantnom onkolitičkom adenovirusu (Ad) tipa 5 koji je prvi puta odobren 2005. godine u Kini od strane Državne agencije za hranu i lijekove za liječenje malignih tumora glave i vrata (Zhang i sur., 2021; Terrível i sur., 2019). Veoma je sličan svom prethodniku ONYX-015 koji je genetski modificiran delecijom gena *E3* i gena koji kodira protein E1B 55k (E1B). Posljednje navedenom mutacijom omogućeno mu je selektivno repliciranje isključivo u tumorskim stanicama s promjenama u genu za tumorski supresor p53 koji ima glavnu ulogu u kontroli staničnog ciklusa i aktivaciji programirane stanične smrti, apoptoze (Mijit i sur., 2020). Virusni protein E1B ima snažno represivno djelovanje na p53 što virusu omogućava inhibiciju apoptoze i replikaciju virusnih elemenata u zdravim stanicama. No, u trenutku infekcije organizma s Ad H101 s deletiranim genom *E1B* replikacija postaje specifična za tumorske stanice (Russell i Peng, 2018). U usporedbi s tradicionalnim terapijama, onkolitičku viroterapiju s Onkorinom prate značajno blaže nuspojave i poboljšana kvaliteta života (Cao i sur., 2020).

3.4.3. T-VEC

Talimogene laherparepvec, ili skraćeno T-VEC, u listopadu 2015. godine utvrđen je kao prvi onkolitički lijek koji u potpunosti zadovoljava zahtjevima Američke agencije za hranu i lijekove te Europske agencije za lijekove (Ferrucci i sur., 2021). Koristi se kao terapija za uznapredovali i neoperativni melanom (Ledford, 2015). Nastao je genetskom izmjenom virusa herpes simpleks tipa 1 (HSV-1) koji ima deleciju obje kopije gena $\gamma 34.5$ te u genu $\alpha 47$ (Conry i sur., 2018). Gen $\gamma 34.5$ kodira protein ICP34.5 koji služi kao bitan okidač u aktivaciji translacijske mašinerije zaraženih stanica. Kada virus uđe u stanicu, aktivira se kinaza PKR koja fosforilacijom deaktivira aktivnost eukariotskog faktora inicijacije translacije 2A (eIF-2A). Međutim, virusi kao što je HSV-1 kodiraju protein ICP34.5 koji aktivira proces defosforilacije eIF-2A te omogućava nastavak sinteze proteina (Liu i sur., 2003). Stoga, delecija $\gamma 34.5$ u HSV-1 kao posljedicu ima virusnu replikaciju isključivo u stanicama malignih tumora budući da im je signalni put PKR promijenjen (Terrível i sur., 2019). Druga mutacija, ona gena $\alpha 47$, ima dvostruku funkciju: prvo, pojačava procesiranje tumorskih antigena na zaraženim stanicama i njihovo predočavanje imunskim stanicama, te drugo, pojačava ranu ekspresiju gena *US11* koji utišava signalni put PKR, potiče virusnu replikaciju u tumorskim stanicama i

litičku aktivnost virusa T-VEC (Terrível i sur., 2019; Ferrucci i sur., 2021). Na mjesto deletiranog gena za ICP34.5 unesene su dvije kodirajuće sekvence za ljudski faktor stimulacije kolonija granulocita i makrofaga (GM-CSF, od engl. *granulocyte macrophage colony-stimulating factor*). Kazeta GM-CSF kodira citokin čija je uloga poticanje proizvodnje i aktivacija dendritičnih stanica te prezentacija tumorskih antigena limfocitima. Ove modifikacije pokazale su značajni onkolitički efekt HSV-1 bez narušavanja sigurnosti same terapije (Terrível i sur., 2019) (Slika 3.).



Slika 3. Usporedba divljeg tipa HSV-1 i genetski modificiranog HSV-1, T-VEC. **a)** divlji tip HSV-1. **b)** T-VEC nastao insercijom dvije kazete za GM-CSF na mjesto deletiranog gena $\gamma_{34.5}$ te povećanom ekspresijom gena *US11* pod utjecajem promotora ICP47 (preuzeto i prilagođeno iz Yura, 2016).

(GM-CSF = faktor stimulacije kolonija granulocita i makrofaga (od engl. *granulocyte macrophage colony-stimulating factor*), UL = jedinstvene duge sekvence (od engl. *unique long*), US = jedinstvene kratke sekvence (od engl. *unique short*), TRL = duga terminalna ponavljanja (od engl. *terminal repeat long*), IRL = duga unutrašnja ponavljanja (od engl. *internal repeat long*), TRS = kratka terminalna ponavljanja (od engl. *terminal repeat short*), IRS = kratka unutrašnja ponavljanja (od engl. *internal repeat short*), ICP = protein zaražene stanice (od engl. *infected cell protein*))

Klinička istraživanja monoterapije pokazala su da rekombinantni HSV-1 može potaknuti lokalni i sistemski odgovor antitumorske imunosti u pacijenata koji boluju od melanoma osiguravajući tako smanjenje tumorske mase, porast stope preživljavanja te nuspojave blagog stupnja, kao što su simptomi slični gripi. Zadovoljavajući rezultati potaknuli su daljnja istraživanja onkolitičke viroterapije u kombinaciji s drugim metodama liječenja malignih tumora, posebice inhibitorima kontrolnih točaka staničnog ciklusa. Tako na primjer, T-VEC u kombinatornoj terapiji s protutijelom anti-CTLA-4, znanim kao Ipilimumab, povećavajući broj T-limfocita u tumorskom supresivnom mikrookolišu značajno poboljšava odgovor na imunoterapiju (Ferrucci i sur., 2021). Prema registru kliničkih istraživanja

Nacionalne knjižnice medicine Sjedinjenih Američkih Država (NLM, od engl. *National Library of Medicine*) pokušava se testirati djelovanje T-VEC-a i na druge tipove malignih tumora, kao što su karcinom gušterače, dojke i hepatocelularni karcinom.

T-VEC predstavlja napredak za sigurnije i učinkovitije liječenje neoperativnih malignih tumora kože, a ima i potencijal za širu upotrebu. Daljnja istraživanja pomoći će proširiti terapijski potencijal T-VEC-a, naročito u kombinaciji s drugim imunoterapijskim pristupima (Kohlhapp i Kaufman, 2016).

3.5. Prednosti i nedostaci viroterapije

Poznavanje te razumijevanje prednosti i nedostataka onkolitičke viroterapije esencijalan je putokaz za daljnja unaprjeđenja ove terapije. Postoje brojne prednosti zbog kojih se terapija onkolitičkim virusima razlikuje od aktualnih terapijskih pristupa, a neke od njih su: visoka specifičnost isključivo za tumorske stanice, uzrokovanje nikakve ili minimalne sistemske reakcije i otpornosti, sposobnost ciljanja različitih onkogenih putova te mogućnost osiguravanja dodatnih mjera sigurnosti i učinkovitosti genetskom modifikacijom virusa. Nakon ulaska u organizam farmakološko djelovanje mnogih lijekova vremenom se smanjuje. To nije slučaj i za viruse koji povećavaju broj svojih kopija konstantnim ciklusima sinteze, potičući tako dugotrajniji antitumorski odgovor imunskog sustava (Chiocca i Rabkin, 2014). Jedna od prednosti je i visoki terapijski učinak kombinacije onkolitičke viroterapije s drugim terapijama koji proizlazi iz njihovih sinergističkih interakcija (Marchini i sur., 2015).

Onkolitička terapija ima i nekoliko ograničenja. Glavno ograničenje je dostava onkolitičkih virusa do tumora. Naime, postoje dva glavna načina dostave: lokalno, odnosno intratumorsko, te sistemsko koje uključuje intravenozno i intraperitonealno primanje terapije. Ograničenje lokalne dostave je u tome što se ne može uvijek primijeniti, posebice kada se radi o nepristupačnim i multifokusnim tumorima (Santos Apolonio i sur., 2021). Ograničenja sistemske dostave su potencijalna toksičnost, koja može biti posljedica nespecifičnog unosa onkovirusa od strane zdravih organa (npr. jetre), te nezadovoljavajuća učinkovitost koja se često očituje u veoma brzom neutralizaciji virusa od strane imunskog sustava prije nego li je virus uspio inficirati tumorsku stanicu (Ferguson i sur., 2012). Naime, intravenoznom dostavom lijeka baziranog na onkolitičkim virusima može biti smanjena količina virusa koja će dospjeti do tumorske mase zbog prisutnosti cirkulirajućih neutralizirajućih antitijela te T-limfocita,

uglavnom zbog prijašnjeg kontakta s virusom. Takva smanjena količina onkovirusa bit će nedostatna kako bi se potaknula značajna remisija tumorskih stanica, dok bi povećanje doze virusa kao posljedicu imalo potencijalnu upalu, oštećenje ili otkazivanje organa (Davis i Fang, 2005). Stoga se kao moguća rješenja predlažu modifikacije proteinskog omotača virusa s polietilen glikolom, upotreba liposoma, nanočestica, imunomodulatornih faktora, ultrazvučnog navođenja te magnetno ciljanje. U dostavi virusa važnu ulogu ima i njegova sposobnost prelaska fizičkih barijera u organizmu. Istraživanja su pokazala da je nemogućnost virusa da prođe fizičke barijere (npr. endotel, ekstracelularni matriks,...) jedan od razloga neučinkovitog djelovanja terapije zbog spriječenog širenja i djelovanja onkolitičkih virusa, a rješenje bi moglo biti genetička izmijena ekspresije virusnih molekula (Santos Apolonio i sur., 2021). Tako je, primjerice, modificiran Adenovirus kako bi sintetizirao molekule relaksin i potaknuo razgradnju hijaluronske kiseline, remodelirajući ekstracelularni matriks čineći ga podložnijim medijem za prolazak onkolitičkih virusa i njihovo umnožavanje (Rosewell Shaw i Suzuki, 2016).

Dodatno, sigurnost onkolitičke viroterapije zahtijeva daljnja istraživanja pogotovo za starije pacijente i imunokompromitirane osobe, koje zbog oslabjelog imunosnog sustava imaju veću mogućnost razvoja negativnih nuspojava i kroničnih infekcija (Marelli i sur, 2018). Pretklinička i klinička istraživanja pokazala su da trudnice također trebaju izbjegavati određene onkolitičke viruse, kao što je T-VEC (Santos Apolonio i sur., 2021). Tijekom daljnjeg usavršavanja terapije, u obzir treba uzeti nedostatak smjernica za skladištenje, korištenje i davanje terapije, te potencijalnih upozorenja i postupaka u slučaju kontaminacija i izlaganja terapeutika (Kaufman i sur., 2015).

4. Zaključak

Iako klasične metode liječenja malignih tumora kod većine pacijenata povećaju šanse za oporavak, mnoga ograničenja i neželjeni učinci mogu smanjiti njihovo antitumorsko djelovanje i sigurnost primjene. Pojava onkolitičke viroterapije omogućila je napredak u razvoju antitumorskih terapija strategijom selektivne eliminacije stanica tumora te izbjegavanjem stanica zdravog tkiva. Brojne prednosti onkolitičke viroterapije, kao što su visoka selektivnost za umnažanje u tumorskim stanicama, niska vjerojatnost rezistencije i izazivanja težih nuspojava te dugotrajniji imunosni odgovor, rezultiraju visokim terapijskim učinkom. Posebice, razvijena terapijska efikasnost proizlazi iz terapije onkolitičkih virusa u kombinaciji s drugim metodama liječenja. Iako se terapija pokazala uspješnom u brojnim slučajevima, postoje sljedeća ograničenja: neefikasna dostava virusa u tumorsku masu, neutralizacija virusa antivirusnim imunskim odgovorom, djelomično nepoznat mehanizam djelovanja, nemogućnost pristupa terapiji osobama s kroničnim bolestima i mnoge druge. Razumijevanje nedostataka te provođenje dodatnih kliničkih istraživanja, usavršit će, već sada, potencijalno najučinkovitiju terapiju za maligne tumore te omogućiti napredak u liječenju onkoloških pacijenata, a nova saznanja u području virologije, onkologije i molekularne genetike dovest će do unaprjeđenja njezine efikasnosti, selektivnosti i biološke sigurnosti.

5. Literatura

- Bai Y., Hui P., Du X., Su X. (2019): Updates to the antitumor mechanism of oncolytic virus. *Thoracic Cancer* 10(5): 1031-1035
- Bommarreddy P.K., Shettigar M., Kaufman H. (2018): Integrating oncolytic viruses in combination cancer immunotherapy. *Nature Reviews Immunology* 18(8): 498-513
- Callegari E., Elamin B. K., D'Abundo L., Falzoni S., Donvito G., Moshiri F., Milazzo M., Altavilla G., Giacomelli L., Fornari F., Hemminki A., Di Virgilio F., Gramantieri L., Negrini M., Sabbioni S. (2013): Anti-tumor activity of a miR-199-dependent oncolytic adenovirus. *PLoS one* 8(9):e73964
- Cao G.-d., He X.-b., Sun Q., Chen S., Wan K., Xu X., Feng X., Li P.-p., Chen B. i Xiong M.-m. (2020): The oncolytic virus in cancer diagnosis and treatment. *Frontiers in Oncology* 10:1786
- Chiocca E. A. (2002): Oncolytic viruses. *Nature Reviews Cancer* 2: 938-950
- Chiocca E. A. i Rabkin S.D. (2014): Oncolytic viruses and their application to cancer immunotherapy. *Cancer Immunology Research* 2(4): 295-300
- Conry R. M., Westbrook B., McKee S. Norwood T. G. (2018): Talimogene laherparepvec: First in class oncolytic virotherapy. *Human Vaccines&Immunotherapeutics* 14(4): 839-846
- Couch D. B. (1996): Carcinogenesis: Basic Principles. *Drug and Chemical Toxicology* 19(3): 133-148
- Dagogo-Jack I. i Shaw T. A. (2017): Tumour heterogeneity and resistance to cancer therapies. *Nature Reviews Clinical Oncology* 15: 81-94
- Davis J. J., Fang B. (2005): Oncolytic virotherapy for cancer treatment: challenges and solutions. *The Journal of Gene Medicine* 7(11): 1380-1389
- Davola M. E. i Mossman K. L. (2019): Oncolytic viruses: how „lytic“ must they be for therapeutic efficacy? *OncImmunity* 8(6): e1581528
- DeVita V. T., Hellman i Rosenberg S. A. (2014): Solid Tumors of Childhood: Surgery. U: DeVita V. T., Lawrence T. S., Rosenberg S. A. (ur.). Principles & Practice of Oncology. 10 izdanje. Wolters Kluwer Health Adis (ESP), str: 1471
- Dock G. (1904): The influence of complicating diseases upon leukaemia: Cases of Tuberculosis and Leukoemia. *The American Journal of the Medical Sciences* 127(4): 1827-1924
- Doniņa S., Strēle I., Proboka G., Auziņš J., Alberts P., Jonsson B., Venskūs D. i Muceniece A. (2015): Adapted ECHO-7 virus Rigvir immunotherapy (oncolytic virotherapy) prolongs survival in melanoma patients after surgical excision of the tumour in a retrospective study. *Melanoma Research* 25(5): 421-426

- Duan X., Chan C. i Lin W. (2018): Nanoparticle-mediated immunogenic cell death enables and potentiates cancer immunotherapy. *Angewandte Chemie (Internation ed. in English)* 58(3): 670-680
- Ferguson M.S., Lemoine N.R., Wang Y. (2012): Systemic delivery of oncolytic viruses: hopes and hurdles. *Advances in virology* 2012: 805629
- Ferrucci P. F., Pala L., Conforti F., Cocorocchio E. (2021): Talimogene Laherparepvec (T-VEC): An Intralesional Cancer Immunotherapy for Advanced Melanoma. *Cancers (basel)* 13(6): 1383
- Gao Q., Zhou G., Lin S. J., Paus R., Yur Z. (2019): How chemotherapy and radiotherapy damage the tissue: Comparative biology lessons from feather and hair models. *Experimental dermatology* 28(4): 413-418
- Greenwald, H. P. (1992) Who survives Cancer? Berkeley: University of California Press. Poglavlje 4: Can Cancer Be prevented? <http://ark.cdlib.org/ark:/13030/ft9b69p365/> (pristupljeno 2.07.2022.)
- Hikichi M., Kidokoro M., Haraguchi T., Iba H., Shida H., Tahara H. i Nakamura T. (2011): MicroRNA Regulation of Glyctoprotein B5R in oncolytic vaccinia virus reduced vez pathogenicity without impairing its antitumor effifacy. *Molecular Therapy* 19(6): 1107-1115
- Hoster H. A., Zanes R. R., von Haam E. (1949): Studies in Hodgkin's Syndrome: The IX. Association of „Viral“ Hepatitis and Hodgkin's Disease. *Cancer Research* 9 (8): 473-480
- Howells A., Marelli G., Lemoine N.R., Wang Y. (2017): Oncolytic viruses – interaction of virus and tumor cells in the battle to eliminate cancer. *Frontiers in Oncology* 7: 195
- Jayawardena N., Poirier J. T., Burga L. N., Bostina M. (2020): Virus-receptor interactions and virus neutralization: insights for oncolytic virus development. *Oncolytic virotherapy* 9: 1-15
- Jing Y., Tong C., Zhang J., Nakamura T., Iankov I., Russell J. S. i Merchan J. R. (2009): Tumor and vascular targeting of a novel oncolytic measles virus retargeted against the urokinase receptor. *Cancer Research* 69(4): 1459-1468
- Kaufman H.L., Kohlhapp F., Zloza A. (2015): Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs. *Nature Reviews Drug Discovery* 14: 642-662
- Kohlhapp J. F., Kaufman H. L. (2016): Mechanism of action for Talimogene laherparepvec, a new oncolytic virus immunotherapy. *Clinical Cancer Research* 22(5): 1048-1054
- Lawler S. E., Speranza M., Cho C. i sur. (2017): Oncolytic viruses in cancer treatment. *Jama Oncology* 3(6): 841-849
- Ledford H. (2015): Cancer-fighting viruses win approval. *Nature* 526; 622-623
- Li X., Wang P., Du X., Liu M., Huang Q., Wang Y., Wang S. (2017): The Efficacy of oncolytic adenovirus is mediated by T-cell responses against virus and tumor in Syrian hamster model. *Clinical Cancer Research* 23(1): 239-249

Lin C.-Z., Xiang G.-L., Zhu X.-H., Xiu L.-L., Sun J.-X. i Zhang X.-Y. (2018): Advances in the mechanisms of action of cancer-targeting oncolytic viruses. *Oncology Letters* 15(4): 4053-4060

Liu B. L., Robinson M., Han Z., Branston R. H., English C., Reay P., McGrath Y., Thomas S. K., Thornton M., Bullock P., Love C. A., Coffin R. S. (2003): ICP34.5 deleted herpes simplex virus with enhances oncolytic, immune stimulating, and anti-tumor properties. *Gene Therapy* 10: 292-303

Marchini A., Bonifati S., Scott E.M., Angelova A.L i Rommelaere J. (2015): Oncolytic parvoviruses: from basic virology to clinical applications. *Virology Journal* 12, 6

Marelli G, Howells A., Lemoine N., Wang Y. (2018): Oncolytic viral therapy and the immune system: A double-edged sword against cancer. *Frontiers in Immunology* 9

Maroun J., Muñoz-Alía M., Ammayappan A., Schulze A., Peng K., Russel S. (2017): Designing and building oncolytic viruses. *Future Virology* 12: 193-213

Martuza R.L, Malick A., Markert J. M., Ruffner K. L., Coen D. M. (1991): Experimental therapy of human glioma by means of a genetically engineered virus mutant. *Science* 252 (5007): 854-856

Mijit M., Caracciolo V., Melillo A., Amicarelli F., Giordano A. (2020): Role of p53 in the regulation of cellular senescence. *Biomolecules* 10(3): 420

Mondal M., Guo J., He P., Zhou D. (2020): Recent advances of oncolytic virus in cancer therapy. *Human Vaccines & Immunotherapeutics* 16(10): 2389-2402

National Cancer Institute (2019): New drugs, new side effects: complications of cancer immunotherapy. <https://www.cancer.gov/> (pristupljeno 2.07.2022.)

Ruddon R. W. (2003): What makes a cancer cell a cancer cell? U: Kufe D. W., Pollock R. E., Weichselbaum R. R. i sur. (ur.). Holland-Frei Cancer Medicine. 6. izdanje. Hamilton (ON): BC Decker: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (pristupljeno 2.07.2022.)

Russell L. i Peng K. W. (2018): The emerging role of oncolytic virus therapy against cancer. *Chinese Clinical Oncology* 7(2): 16

Russell S. J. , Peng K. W. (2017): Oncolytic virotherapy: A contest between apples and oranges. *Molecular Therapy* 25; 1107-1116

Russell S. J. i Peng K. W. (2007): Viruses as anticancer drugs. *Trends in Pharmacological Sciences* 28(7): 326-333

Santos Apolonio J., Lima de Souza Gonçalves V., Cordeiro Santos M. L., Silva Luz M., Silva Souza J. V., Rocha Pinheiro S. L., de Souza W. R., Sande Loureiro M., de Melo F. F. (2021): Oncolytic virus therapy in cancer: A current review. *World Journal Virology* 10(5): 229-255

Rosewell Shaw A., Suzuki M. (2016): Recent advances in oncolytic adenovirus therapies for cancer. *Current opinion in virology* 21: 9-15

- Sprague L., Braidwood L., Conner J., Cassady K. A., Benencia F. I Cripe T. P. (2018): Please stand by: how oncolytic viruses impact bystander cells. *Future Virology* 13(9)
- Sung H., Siegel L. R., Jemal A., Ferlay J., Laversanne M., Soerjomataram I., Bray F. (2021): Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 71(3): 209-249
- Tanooka H. (1988): Monoclonal growth of cancer cells: experimental evidence. *Japanese Journal of Cancer Research (GANN)* 79: 657-665
- Terrível M., Gromicho C. i Mator A. M. (2019): Oncolytic viruses: what to expect from their use in cancer treatment. *Microbiology and Immunology* 64(7): 477-492
- Vähä-Koskela M. J. V. ,Heikkilä J. E., Hinkkanen A. E.(2007): Oncolytic viruses in cancer therapy. *Cancer Letters* 254(2): 178-216
- Weston A. And Harris C. C. (2003): Multistage Carcinogenesis. U: Kufe D. W., Pollock R. E., Weichselbaum R. R. i sur. (ur.). Holland-Frei Cancer Medicine. 6. izdanje. Hamilton (ON): BC Decker. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (pristupljeno 2.07.2022.)
- Yang L., Gu X., Yu J., Ge S. i Fan X. (2021): Oncolytic virotherapy: From bench to bedside. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 9: 790150
- Yura Y. (2016): Presage of oncolytic virotherapy for oral cancer with herpes simplex virus. *Japanese Dental Science Review* 53(2): 53-60
- Zhang Q., Li Y., Zhao Q., Tian M., Chen L., Miao L. i Zhou Y. (2021): 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* 12(10): 1617-1619
- Zheng M., Huang J., Tong A., Yang H. (2019): Oncolytic viruses for cancer therapy: barriers and recent advances. *Molecular Therapy – Oncolytics* 15: 234-247
- Zitvogel L., Tesniere A. I Kroemer G. (2006): Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion. *Nature Reviews Immunology* 6, 715-727

6. Životopis

Zovem se Lana Hriberski i rođena sam u Zagrebu 2000. godine, gdje sam završila osnovnu školu i opći program II. gimnazije. Nakon završene srednje škole, upisujem preddiplomski sveučilišni studij Molekularne biologije na Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studija sudjelovala sam na edukativnom projektu BIUS-ove Sekcije za sisavce „Mala škola mamalogije“ u Mrkoplju, volontirala u Prirodoslovnom muzeju za „Noć muzeja“ u sklopu kolegija Zoologija te na popularno-znanstvenoj manifestaciji „Dan i noć na PMF-u“. Laboratorijsku stručnu praksu sam odradila u Klinici za Tumore, u sklopu Kliničko bolničkog centra Sestre Milosrdnice, gdje je započeo moj veliki interes za područje biomedicine.