

Beşeri ve Veteriner Hekimlikte Onkolitik Viroterapi

Oncolytic Virotherapy in Human and Veterinary Medicine

^{ib} Erdem GÜLERSOY^a, ^{ib} Mutlu SEVİNÇ^a, ^{ib} Mahmut OK^a

^aKonya Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları ABD, Konya, TÜRKİYE

ÖZET Gen terapisi stratejileri olarak adlandırılan tedavi seçenekleri, çeşitli kanser olgularında kullanılan yeni tedavi yaklaşımlarıdır. Bu yeni tedavi yaklaşımlarından biri olan onkolitik viroterapi, en umut vaat edici anti-kanser ajanı olarak kabul edilmektedir. Uygulanan tedavi etkileri, intratümöral amplifikasyon ve sitosidal aktiviteler şeklindedir. Onkolitik viroterapi, CTLA-4 ve PD-1 proteinlere bağlanan ve bloke eden immün kontrol noktası inhibitörleri ile başarılı kanser tedavisinden sonraki muhtemelen en önemli kanser tedavisi gelişimidir. Virüs bazlı tedavilerde güvenlik oldukça önemlidir. Onkolitik virüsler genetik olarak geliştirilmiş veya normal dokuya hasar vermeden seçici bir şekilde kanserli hücrede replike olup hücreyi öldüren doğal virüsler olarak tanımlanırlar. Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör ile güçlendirilmiş ikinci jenerasyon onkolitik Herpes Simplex Virus Tip-1 (T-Vec; Talimogene laherparapvec), Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'da Food and Drug Administration tarafından onaylanmış ilk onkolitik viral ilaçtır. Faz III denemeleri, T-Vec enjekte edilmiş tümörlerin küçüldüğünü ve kanserli hastanın yaşam süresini uzattığını göstermiştir. Kuzey Amerika ve Avrupa'da onay çalışmaları devam eden diğer onkolitik aşı virüsleri Pexastimogene devacirepvec, Adenovirus CG0070 ve Reovirus'tur. Bunların dışında tümör spesifik viral replikasyona sahip ve kanserli hastanın yaşam süresini uzatan pek çok onkolitik virüs klinik denemelere dâhil edilmiştir. Hızla gelişen teknoloji ve artan klinik çalışmalar sebebiyle yakın zamanda onkolitik viroterapinin hem beşeri hem de veteriner hekimlikte tüm kanser hastaları için standart terapötik bir prosedür olması oldukça muhtemeldir.

ABSTRACT Treatment options such as gene therapy strategies are new treatment approaches used in various cancer cases. Oncolytic virotherapy, one of these new treatment approaches, is recognized as the most promising anti-cancer agent. The applied treatment effects are intratumoral amplification and cytotoxic activities. Oncolytic virotherapy is probably the most important development in cancer treatment after successful cancer treatment with immune checkpoint inhibitors that bind and block CTLA-4 and PD-1 proteins. Safety is very important in virus-based treatments. Oncolytic viruses are defined as genetically engineered or natural occurring viruses that selectively replicate the cancerous cell and kill the cell without damaging normal tissue. The second generation oncolytic herpes simplex virus type-1 (T-Vec; Talimogene laherparapvec), powered by granulocyte-macrophage colony stimulating factor, is the first oncolytic viral drug approved in the United States and Europe by Food and Drug Administration. Phase III trials have shown that T-Vec injected tumors shrink and prolong the life of the cancer patient. Other oncolytic vaccine viruses whose approval studies ongoing in North America and Europe are Pexastimogene devacirepvec, Adenovirus CG0070 and Reovirus. Apart from these, many oncolytic viruses with tumor-specific viral replication and prolonging the life of the cancer patient were included in clinical studies. Due to the rapidly developing technology and increasing clinical studies, oncolytic virotherapy is likely to be a standard therapeutic procedure for all cancer patients in both human and veterinary medicine.

Anahtar Kelimeler: Onkolitik viroterapi; kanin distemper virüs; adenovirus; newcastle disease virus; reovirus

Keywords: Oncolytic virotherapy; canine distemper virus; adenovirus; newcastle disease virus; reovirus

Kanser türlerinin tespiti için kullanılan biyobelirteçler ve anatomik/fonksiyonel görüntüleme gibi yeni teknolojiler günden güne gelişmektedir. Bu gelişmelere rağmen canlılardaki çoğu kanser olguları, tanının ilk kez konulduğu dönemde bile ilerlemiş veya yayılmıştır.¹ Kanser olgularının tespit ve tedavisindeki güncel gelişmelere rağmen özellikle ilerlemiş olgulardaki erken tanı ve tedavi, hastalarda

beklenen terapötik sonuçları sağlayamamaktadır. Örneğin pankreas kanserindeki güncel tedavi seçenekleri cerrahi müdahale ve kemo/kemoradyasyon terapilerinin kombinasyonu şeklindedir. Pankreatik kanserin erken dönemleri genellikle cerrahi müdahale ve kemoterapi veya radyoterapi ile tedavi edilir. Eğer cerrahi müdahale mümkün değilse kemo/kemoradyasyon ve palyatif

Correspondence: Erdem GÜLERSOY

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları ABD, Konya, TÜRKİYE/TURKEY

E-mail: egulersoy@selcuk.edu.tr

Peer review under responsibility of Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences.

Received: 25 Jun 2020

Accepted: 16 Sep 2020

Available online: 17 Dec 2020

2146-8850 / Copyright © 2020 by Türkiye Klinikleri. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



tedavi tek seçenektir. Günümüzde pankreas kanseri gibi hızlı ilerleyen kanser olgularında klinik görünümü ve tedavi sonuçlarını iyileştirmek için yeni tedavi yaklaşımlarına ihtiyaç duyulmaktadır.²

Gen terapisi stratejileri, çeşitli kanser olgularında yeni tedavi seçenekleri sunar. Bu yeni tedavi seçeneklerinden onkolitik viroterapi en umut vaadedici anti-kanser ajanıdır ve etkilerini intratümöral amplifikasyon ve sitosidal aktiviteler ile gösterir. Bunların arasında Herpes Simplex Virus (T-VEC, OncoVEX GM-CSF olarak da bilinen Talimogene laherparapvec) klinik çalışmalarda olumlu sonuçları doğrulanmış ve cerrahi müdahale ile uzaklaştırılmayan melanoma olgularında kullanımı Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi [US Food and Drug Administration (FDA)] tarafından onaylanmıştır. Bu sebeple çok çeşitli kanser olgularının tedavisinde onkolitik viroterapi kullanımı giderek artmaktadır.³

RNA virüs, Reverse Genetik Sistemleri (RGS)'nin geliştirilmesi ile aşı suşları, gen terapisi ve temel bilimlerde potansiyel uygulamalara sahip spesifik özellikli modifiye virüsler üretilmesi amaçlanmaktadır. Reverse ya da ters genetik sistem, DNA dizilimi ile elde edilen spesifik gen dizilerinin fenotipik etkilerini analiz ederek bir genin işlevini keşfetmeye yönelik bir yaklaşımdır. Reverse genetik, elde edilmesi güç virüs stoklarının sağlanması için kullanılabilir. Bu sebeple, yabancı genler ile;

1) Marker genlerin ekspresyonu ve in vivo olarak viral replikasyonun lokalizasyonu belirlenebilir,

2) Diğer patojenler ve vektör virüslere karşı aday multivalent aşılardan geliştirilmesi sağlanabilir,

3) Kanser tedavisinde onkolitik virüs adayları elde edilebilir.

RNA virüslerin vektör olarak kullanımı, deneysel olarak rekombinantlardaki yüksek genetik stabilite ve genetik materyallerine önemli ölçüde müdahale edilebilir olması ile ortaya konmuştur.⁴

Onkolitik bir virüs, kanserli hücrelerde muhtemel bir kaç mekanizma ile lizis oluşturur. Viral onkolizis mekanizmalarından birisi, tümör hücrelerinin direkt yıkımına ya da lizisidir. Tümör hücrelerinin lizisi, bu hücrelerdeki viral replikasyonun aşırı boyutlarda olması ve virüs ile

enfekte tümör hücrelerinden virionların salınmasıdır. Viral replikasyonun aşırı boyutlarda olduğu tümörlü hücrelerde, tümör vaskülitisi tahrip olur ve daha sonra da selüler savunma mekanizmaları tetiklenerek tümör hücreleri ölür (apoptosis) ve nekroze olur.⁵ Diğer muhtemel bir mekanizmanın da, sitotoksik immün cevap ve fagositozis olduğu düşünülmektedir. Bu mekanizmada, tümör hücrelerine viral girişi takiben doğal katil hücreleri [natural killer cells (NK)] ile virüslü enfekte tümör hücrelerinin lizisini tetikleyen CD8+ sitotoksik T-hücrelerinin aktive olarak, nötrofil ve makrofajların artmış fagositik aktivite sergilemesidir.⁶ Bu sırada eş zamanlı olarak, IFN- γ , IL-12, IL-6 ve TNF- α gibi proenflamatuar sitokinlerde bir artışın olduğu ve tümör çevresinde M1-makrofaj kaynaklı tümör öldürücü faktörlerin birikimini teşvik ettiği bildirilmektedir.⁷ Buna ek olarak, IFN- γ , IL-12, NK hücreleri ve anjiyotoksik IFN- γ ile indüklenebilir protein (IP-10) arasındaki karmaşık etkileşimin başlatılması, sırasıyla tümör anjiyogenezinin (fizyolojik bir süreç olup var olan damarlardan tomurcuklanma yolu ile yeni damarların oluşması ve gelişmesi) depresyonuna ve tümör regresyonunun indüklenmesine yol açabilir. Bilindiği gibi, IL-12, NK hücreleri tarafından IFN- γ üretimine aracılık edebilir ve IP-10 birikimini uyarabilir. Buna göre, IP-10 ile uyarılan NK hücrelerinin, endotelial hücreler üzerinde, yüksek bir öldürme etkisinden dolayı tümörlerdeki büyümenin azalmasına neden olduğu gösterilmiştir.⁸ Bu mekanizmalar birlikte değerlendirildiğinde, ya onkolitik virüslerin tümör damar sistemini doğrudan enfekte etmesi ve yıkımı ile eş zamanlı olarak doğmasal bağışıklık aracılı antitümör etkilerin artırılması ya da tümörlü dokularda anjiyogenik mekanizmaların uyarılması ile neoanjiyogenezin önlediği gösterilmiştir. Bununla birlikte, onkolitik virüsler, kanserli insan ve hayvanların klinik tedavilerinde yaygın terapötik ajanlar olarak kullanılmadan önce, potansiyel viral toksisite, virüsün tümörlü dokuya etkin olmayan bir şekilde verilmesi ve virüsün tümör kitlesi boyunca yayılabilmesi gibi bazı engellerin aşılması gereklidir. Bu sorunların aşılabilmesi için son zamanlarda viral RGS yaklaşımları ile zayıflatılmış tümör seçici aşı suşlarının yanı sıra seçicilik ve etkinliği artırılmış onkolitik virüs suşlarının üretilmesi amaçlanmış ve

kullanılmaya başlanılmıştır. Örneğin, ilk olarak insanlarda doğal kızamık (MeV) enfeksiyonunu takiben Hodgkin's lenfoma vakalarında, hastalığın gerilediğine dair raporların gelmesi ile birlikte, MeV potansiyel bir onkolitik ajan olarak düşünülmüştür.⁹ Atenüe (zayıflatılmış) MeV, RGS'de yüksek afiniteli, scTCR (tek zincirli T hücre reseptörleri) ifade edilerek (eksprese) spesifik doku uyumlu kompleks ligandları (bir biyomoleküle bağlanarak kompleks oluşturan bileşik) elde edilmiştir.¹⁰ MeV'in selüler affinitesine yönelik yapılan genetik modifikasyonlar, H proteinin karboksil-terminal uzantılarına, tümöre özgü ligandların yerleştirilmesi ile gerçekleştirilmiştir. CEA (karsinoembriyonik antijen), CD20 ve CD38 tümör ilişkili ajanlara karşı tek zincirli antikolar, sırasıyla epitelyal karsinom, non-Hodgkin's lenfoma hücrelerine girişi kolaylaştırmak için rekombinant MeV suşlarının hepsinde eksprese edilmiştir. Ayrıca, integrin bağlayıcı peptitleri, RGD (siklik-arginin-glisin-aspartat) veya echistatini eksprese edebilecek şekilde tasarlanan bir MeV'in, yeni oluşacak tümör damarlaşmalarının endotel hücrelerine de başarılı bir şekilde girebildiği gösterilmiştir. Arzu edilen terapötik etki için konakçıdaki virüs patojenetisinin düşük olmasına çaba gösterilmiştir. Bu amaçla, bir sinyalizasyon SLAM (aktive edici molekül) blind rekombinant vahşi-tip MeV suşu kurtarılmış ve özellikle nektin-4 ifade edilmiş insan tümör hücrelerini enfekte edebilmesi istenmiştir. Sonuçlar, SLAM blind MeV suşunun, insan meme kanseri hücrelerini etkili bir şekilde enfekte etmesine rağmen maymunlarda immüsupresyon da dâhildâhil herhangi bir semptomu sebep olmadığını göstermiştir. Aynı zamanda, SLAM blind MeV suşunun köpek meme kanseri hücrelerini enfekte edebildiği bir çok çalışmada ortaya konmuş ve in vitro olarak da antitümör aktivitesi olduğu gösterilmiştir. Bu virüsün, aynı zamanda nektin-4 ifade eden reseptör sayısı artmış adenokarsinomlu köpeklerin tedavisinde iyi bir terapötik ajan olduğu düşünülmüştür.^{11,12}

KANSER TEDAVİSİNDE ONKOLİTİK VİRÜSLER

Kanser, genetik mutasyonlara bağlı olarak vücuttaki normal hücrelerin anormal proliferasyonu ve

büyümesi sonucu malign bir tümörün oluşumu olarak tanımlanabilir. Kanserli vakalarda, vücuttaki bazı hücrelerde anormal büyüme ve çoğalma görülür. Bu durumda vücudun normal fonksiyonları bozulur. İnsan ve hayvanlardaki birçok kanser türü, hâlâ sağlık alanındaki tüm gelişmelere rağmen modern terapilerle tedavi edilememektedir. Kabaca belli bir yaşın (>10 yaş) üzerindeki özellikle de dişi köpeklerin yaklaşık %1-2'si meme kanserinden ölmektedir. Kanserli hücrelerde, antiviral interferon (IFN) yanıt yolağındaki defektlerin yaygın olduğu bilinmektedir. Bu durum, sağlam hücrelere göre kanserli hücrelerin viral enfeksiyon gelişimine daha yatkın olduğunu gösterir.³ İnsanlarda ve veterinerlik alanında, kanser tedavilerinde kullanım için morbillivirus, adenovirus, vaccine virus (aşı virüsü), coxsackie virus ve reovirus kapsamlı bir şekilde araştırılmaktadır. Bu virüsler, çok çeşitli ilerlemiş kanserlerin tedavisi için klinik çalışmalara girmiştir.¹³ İlerlemiş kanser tedavilerinde kullanılan virüslere, onkolitik virüsler adı verilmektedir. Bu virüsler, ideal bir şekilde kanser hücrelerini enfekte eder, replike olur ve onları lize etmesine rağmen kansersiz hücrelere zarar vermez. Hücre lizisinden sonra komşu kanser hücrelerinde de enfeksiyona neden olan yeni replike olmuş virüsler, tedavinin kolayca yayılması ve etkinleşmesi için salınır. Onkolitik virüsler, kanser hücrelerine reseptör bağımlı viral girişi ve viral replikasyon gibi çeşitli düzeylerde hedeflenebilir. Son zamanlarda, kanser tedavisi için onkolitik virüsler üzerinde artan çalışmalar, virüsün viral özgüllüğü ve kanser hücrelerine onkolitik etkisini arttırmak üzerine odaklanmıştır.¹⁴

KANIN DİSTEMPER VİRÜS

Kanin distemper virüsü (CDV), son zamanlarda keşfedilen kedi morbillivirüsü (FeMV) ile birlikte MeV, sığır vebası virüsü (RPV), küçük ruminant vebası virüsü (PPRV), phocine distemper virüsü (PDV) ve deniz memelilerinin -cetacean-morbillivirüsü (CeMV) ile ilişkili, Paramyxoviridae familyasından morbillivirus cinsi zarflı negatif-RNA'lı bir virüsüdür.¹⁵⁻¹⁷ MeV'in insan ve bazı primatlar ile sınırlı dar bir doğal konak aralığı bulunmasına rağmen CDV, neredeyse tüm karada ve suda yaşayan karnivor türlerinin ve hatta primatların dâhil olduğu konakları enfekte edebilir.¹⁸⁻²⁰

Dünya çapında canlı aşı olarak zayıflatılmış CDV suşları, günümüzde rutin olarak köpek, vizon ve diğer karnivorların CDV enfeksiyonlarına karşı kullanılmaktadır. Fakat bu aşuların, gelincikler ve diğer vahşi hayvan türleri için yeteri kadar zayıflatılmış olmadığı ve uygulamadan sonra hastalık semptomları ve bazen de ölümcül enfeksiyonlara sebep olduğu rapor edilmiştir. Bu nedenle, duyarlı türlerde güvenli ve etkili CDV aşısına ihtiyaç olduğu bildirilmektedir.²¹⁻²⁵ Son zamanlarda CDV'nin, kanin neoplastik lenfositler, kanin adenofibrosarkoma hücreleri, insan meme kanseri hücreleri ve insan servikal kanser hücrelerinin de dâhil olduğu pek çok kanser hücresinde apoptozisi indüklediği bildirilmektedir. Dahası CDV tarafından oluşturulan persiste enfeksiyonun, kanin histiyositik hücre hattında anti-anjiyojenik özellikleri olduğu ortaya konmuştur.^{26,27} Bu bulgular CDV'nin hem insanlarda ve hem de hayvanlarda onkolitik gen terapisinde onkolitik virüs olarak kullanılabileceğini göstermektedir.^{28,29}

Standart RNA virüs RGS'leri, antijenomun tam bir 3' ucu, doğrudan antijenomun akış yönünde konumlandırılmış bir hepatit delta virüsünün HDV-Rbz (ribozim) sekansından otokatalitik bölünme ile üretilir. Bu bağlamda, ilk oluşturulmuş CDV RGS, tam uzunluktaki cDNA'yı kodlayan bir plazmid (3' uca 3 ekstra guanin (G) nükleotid içeren) N, P ve L proteinlerini kodlayan plazmidlerin desteklenmesi, optimal bir T7 promotörü tarafından uyarılır.^{30,31} Kurtarılan virüs, büyüme kinetiği bakımından ya da vero hücrelerinde sinitianın hacmi ve biçimi bakımından ebeveyn virüs ile önemli bir fark göstermez. Optimal T7 promotörünün kullanımı, T7 RNA polimerazın işlenebilirliği ve transkriptini artırsa da, paramyxovirus RGS'si bağlamında, optimal T7 promoteri CDV'nin kurtarıma ya da elde edilmesi üzerine karmaşık etkilere sahiptir. Çünkü ekstra 3 G nükleotid, sadece RdRp (RNA dependent RNA polymerase) kompleksi tarafından genomik terminal ve aynı zamanda Parmyxoviridae ailesinin tüm üyelerinde ortak bir özellik olan "Altı kuralı"na da müdahale eder. Bu RGS'deki T7 RNA polimeraz, sitoplazmada T7 RNA'nın yüksek miktarda ekspresyonunu sağlayan modifiye Ankara aşısının bir derivatı olan MVA-T7 tarafından aktarılır. Yine de aşı

virüsü kullanımının çeşitli dezavantajları vardır; bunlar başlıca, poxvirus aracılı yüksek sitotoksisite, kurtarılmış virüsten aşı virüsün ayrılmasındaki zorluklar, aşı virüsün kullanımında artan kısıtlamalardır. Bu olası sorunları önlemede, yardımcı T7 aşı virüsünün kullanımına alternatif olarak T7 RNA polimerazının stabil olduğu hücre hatları geliştirilmiştir. Bu amaçla en yaygın olarak kullanılan hücre hatları, T7 RNA polimerazı istikrarlı bir şekilde eksprese eden BHK (yavru hamster böbreği) kaynaklı hücre hattı olan BSR-T7 hücreleridir.^{32,33} T7 hücre hattı, aşı virüsü aracılı sistemlerden önemli ölçüde daha düşük T7 ekspresyonuna sahiptir ve T7 ekspresyonunun virüs kurtarma verimliliğindeki önemi nedeniyle RGS'lerde düşük virüs geri kazanım verimliliği ile sonuçlanır.³⁴ Optimal bir T7 promotörünün kullanımından kaynaklanan düşük kurtarma verimliliği ve BSR-T7 hücrelerinde düşük T7 ekspresyon seviyelerinin üstesinden gelmek için tek adımlı bir transfeksiyon protokolü geliştirmiştir.³⁵ Rekombinant viral antijenomun 5' ucundan hemen önce, kodon optimizasyonlu bir T7 polimerazın kullanımı ile kombine edilmiş, kendi kendine parçalanabilen bir Hammerhead-Ribozim dizisi dâhil edilerek, T7 ekspresyonunun önemli ölçüde artışı sağlanmıştır. Böylece 5 ana Paramyxoviridae cinsine ait temsili virüsler için Paramyxovirus kurtarma verimliliği elde edilmiştir. T7-promotör bazlı bir RGS yerine, alternatif olarak, RNA Pol II (polimeraz II) kontrollü antijenom ekspresyonu ve destekleyici ekspresyon plazmidleri, cDNA'larından MeV ve CDV'nin kurtarma etkinliklerini geliştirmek için kullanılmış ve Pol II transkripsiyonunun başlatılması ve durdurulmasının daha düşük hassasiyeti, virüsün "Altı kuralı"na uygun olmayan genomlardan tamamlanmasına izin vermiştir.³⁶

Günümüzde üretilmiş çeşitli RGS'lerin, B95a'da (marmoset lenfoblastoid hücreleri) CDV'nin vahşi-tip suşlarından veya vero hücrelerinden SLAM reseptörünün (Vero-SLAM) vahşi-tip CDV suşlarının saçılımını ve virülensini korumaya katkı sağladığı ortaya konmuştur. Elde edilen sonuçlar CDV'nin, yabancı proteinin yanı sıra yabancı protein ekspresyon seviyesini, virülans kaybı olmadan ekstra bir transkripsiyon ünitesi formunda gelişmiş bir EGFP'nin (yeşil floresan proteini) ekspresyonu için

bir vektör olarak kullanılabilmesini doğrulamıştır. Replikasyon etkinliği ve rekombinant virüslerin virülansı, EGFP geninin yerleştirildiği bölgeye bağlıdır. Böylece CDV için RGS yaklaşımları, vahşi tip suşların patogenezinin ve aşuların zayıflatma mekanizmalarının anlaşılmasını ve rekombinant CDV bazlı aşuların üretilmesini büyük ölçüde kolaylaştırmıştır.³⁷

Hücre reseptörlerin tanımlanması ile CDV'nin viral tropizmi ve patogenezi konusundaki bilgilerimiz oldukça gelişmiştir. Son zamanlarda tanımlanan iki hücre reseptör, SLAM/CD150 ve nektin hücre adezyon molekülü 4 (nektin-4/PVRL4), morbilliviruslerin hücreye girişi ve sonra da enfeksiyonundan sorumludur. Bu reseptörler, hem aşı hem de vahşi tip CDV suşlarında identifiye edilebilmektedir. Bilindiği gibi SLAM reseptörü, epitel hücreler dışında aktif T ve B lenfositlerin, makrofajların ve dentritik hücrelerin yüzeylerinde bulunurken, nektin-4 reseptörü ise köpeklerin santral sinir sistemi (CNS)'ndeki endotel hücreler ile polarize epitel hücrelerin apikal ve basolateral yüzeylerinde bulunur. Bu nedenle, CDV'lerin in vivo olarak SLAM ve nektin-4' reseptörleri vasıtasıyla hücreye giriş, yayılma ve patogenezi önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir.^{38,39}

Virüs bazlı tedavilerde, güvenlik çok önemlidir. Bu nedenle CDV, düşük mutasyon riski ile ilişkili segmentsiz bir genoma sahip olduğundan, patojenik bir fenotipe geri dönme olasılığı düşüktür. Canlı zayıflatılmış CDV suşları, köpeklerde invitro olarak kanser hücreleri için onkolitik bir virüs olarak etkili ve aynı zamanda SLAM ve nektin-4 reseptörleri vasıtasıyla da in vivo olarak immün ve epitel hücrelere girebilme yeteneğinde bir virüsdür. Bu nedenle, virüslerin insan ve hayvanlarda terapötik olarak kullanımlarında, olası virüs yayılımına ilişkin güvenlik konuları ele alınmalıdır. CDV'nin, dünyada insanlarda modern zamanlardaki MeV salgınları sırasında virüsün köpeklere yayılmasının bir sonucu olduğu düşünülmektedir. CDV'nin özellikle primatlarda son zamanlarda artan konakçı skalası ve insan SLAM ve nektin-4 reseptörlerini kullanmalarına izin veren vahşi-tip suşların H proteininde tek amino asit değişikliklerinin tanımlanması, CDV potansiyelinin ekolojik

boşlukları doldurduğunu göstermektedir. Bilindiği kadarıyla, hiçbir çalışmada, CDV'nin enfekte hayvanlardan, insanlara bulaşmasını gösteren zoonotik bir patojen olduğu rapor edilmemiştir. Ancak yine de mevcut MeV aşularının maymunlarda CDV enfeksiyonlarına karşı tam bir koruma sağlayamadığı gerçeğinden dolayı insanlarda onkolitik bir virüs olarak CDV kullanımındaki güvenlik sorunları dikkate alınmalıdır. Üstelik, onkolitik bir virüs olarak CDV kullanımı, yeni biyogüvenlik ve risk yönetimi sorunlarını da artırabilir. CDV kullanımını kapsayan araştırmalarda, bu etkenin yaban hayatına, kedi, köpek ve tedavi edilen hastalarla teması olan kişilere bulaşma potansiyeli riski hesaba katılmalı ve ona göre önlemleri alınmalıdır. Gerekirse, hastalık riski ya da viral terapötik ile ilişkili yan etkiler, kanser tedavisi için düşünülen CDV suşlarına karşı etkili olan antiviral ajanlar kullanılarak önenebilir.⁴⁰

Şimdiye kadar CDV kullanımı ile ilgili birkaç çalışma olmasına rağmen, insanlarda viroterapisinin ilerlemesi bağlamında, özellikle genetik tasarımı CDV suşlarının klinik denemelerde onkolitik bir virüs olarak kullanımı, insan ve köpeklerdeki kolorektal kanser ve yumuşak doku sarkomları gibi kanserlerin benzerliğinden dolayı artmıştır. Bu nedenle, genetik tasarımı CDV suşları, köpeklerdeki kanser vakalarının tedavisi ve aynı zamanda alışılmışın dışında yeni antitümör ilaçların geliştirilmesinin önünü açmıştır. Viral tropizm ve aşı kaynaklı immün cevap bakımından CDV ve MeV arasında birçok benzerlik bulunmasına rağmen, her iki virüs, köpeklerin beyinlerinde nektin-4 ekspresyonuna bağlı enfeksiyondan dolayı neuropatolojik lezyonlar ile birlikte konakçıların CNS'lerinde viral invazyona sebep olma potansiyelleri bakımından önemli farklılık gösterir. Bu fark, bir onkolitik virüs olarak CDV'nin, nörositomali hasta köpeklerin viroterapisinde, potansiyel bir yeteneğe sahip olabileceğini vurgulamaktadır. Ayrıca buna ek olarak bir çok karnivor türü de dâhil olmak üzere çok daha geniş bir konakçı kitlesini enfekte edebilen CDV'nin kesinlikle bir insan patojeni olan MeV'den çok daha farklı olduğu gösterilmiştir. Böylece CDV, tedavi amacıyla sadece veteriner hekimlik alanında kullanılmakla

kalmaz, aynı zamanda insanlardaki pek çok tümörde transkripsiyonel bir model olarak da kullanılabilir. İnsan kanserlerinde onkolitik CDV uygulaması, aynı zamanda MeV bazlı terapötiklerle ilgili başlıca sorun olan aşılı popülasyonlarda anti-MeV nötralle eden antikörlerin yüksek prevalansından kaçınmaktır.⁴¹

Son zamanlarda, MeV'nin onkolitik etkinliğini artırma stratejisi olarak immünoviroterapi geliştirilmiştir. İmmünoviroterapi, MeV'in onkolitik etkinliğini artırmak için immünomodülatör transgenlerin (GM-CSF, IFN- β , IL-12 ve IL-15, vb.) ve doğal anti-tümör immün yanıtı uyaran immün kontrol noktası inhibitörlerine (cytotoxic T-lymphocyte antigen-4, CTLA-4, programmed cell death-1 ve PD-1) karşı antikörlerin yerleştirilmesidir. Bu strateji, MeV'ye duyarlı farelerde değişik kanser modellerinde kullanılmış ve tümörlerde önemli ölçüde gerileme sağlayarak hayatta kalma süresini uzatmıştır. Bu durum, konakçının nötrofilleri ve tümör-infiltrate eden sitotoksik T-hücre akını ile bağlantılıdır. CTLA-4 ve PD-1, T-hücre aktivitesini sınırlayan inhibitör reseptörlerdir. Tümör hücreleri, bağışıklık sisteminden kaçmak için bu T hücreli ablasyon mekanizmasından yararlandığı gösterilmiştir. Bu nedenle, CTLA-4 ve PD-1'i ve ligandı olan PD-L1'i bloke eden antikörler, T hücrelerini tümör antijenlerine karşı hazırlayarak çok çeşitli tümör tiplerinde umut vadeden anti-tümör etkileri gösterirler. Klinik tedavilerde, immünoviroterapi, kemo ve radyoterapi de dâhil olmak üzere bir kombinasyon şeklinde kullanılmasıyla ortaya çıkan potansiyel sinerjistik gelişmeler, CDV'nin bir onkolitik ajan olarak kullanımı gelecek için hayati önem taşıyacaktır.⁴²

ADENOVİRÜS

Onkolitik adenovirus, beşeri hekimlikte pankreas kanserinde etkili onkolitik viroterapi geliştirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Adenovirüs (Ad) antitümöral etkilerini çeşitli kanser türlerinde intratümöral amplifikasyonu ve güçlü sitosidal etkileri aracılığı ile gösterir. Adenovirus vektörleri, anti-tümöral etkilerde oldukça önemli olan yüksek in vivo yabancı genetik materyal yerleştirilebilirlik etkinliği ve kapasitesi nedeni ile tercih edilmektedir.

Eşeysiz üreme (budding; tomurcuklanma) ile hücrelerden salınan zarflı virüslerin aksine Ad'nin litik yaşam siklusu enfeksiyon, replikasyon ve konak hücrenin parçalanmasından oluşur. Bu özellik, doğrudan onkolizis sağlar. Ad, genetik olarak stabildir ve hedef hücre genomu ile etkileşime girmediğinden genotoksik değildir. Adenoviral enfeksiyon, lipid membran füzyonundan daha çok protein-protein etkileşimi aracılığı ile başlar.⁴³ Kanser tedavisinde geleneksel Ad vektörü kullanımı, kısa transgen ekspresyon süresi ve immünojenite gibi problemleri akla getirebilir. Fakat, kısa transgen ekspresyon süresi tümör içerisinde progen (yavru) tümör üretimini azaltır. Ayrıca Ad ile immünojenite; T-Vec'de görülen immünostimülasyona kıyasla bir problem olarak varsayılmayabilir. Bunlar göz önünde bulundurulduğunda Ad, in vivo yabancı genetik materyal yerleştirilebilirlik uygulamaları ve kanser terapisi için oldukça uygundur.⁴⁴

Geleneksel olarak adenoviral gen terapisi, adenovirus replikasyonu ile sonuçlanan toksikasyonu önlemek için replikasyonsuz sistemlerde uygulanır. Spesifite ve güvenlikten ödün vermeden anti-tümöral etkinliği arttırmak için CRAds (koşullu replike olan adenovirüsler) geliştirilmiştir. Onkolitik ajanlar olarak CRAds, çevredeki normal hücrelere zarar vermeden sadece tümör hücrelerinde replike olur ve ürettikleri yavru virüsler çevredeki tümöral hücrelere yayılımı kolaylaştırarak terapötik etkileri oldukça artırır. CRAds'ın ilk tipinde; E1 bölgesindeki bazı mutasyonlar ve çıkarmalar (deletion), replikasyonun sadece spesifik tümörlerde olmasını sağlar.⁴⁵ CRAds'ın ikinci tipi; tümör spesifik promotörler (TSP) aracılıdır. Bu tip CRAds, kanser spesifiktir ve E1 bölgesinin promotör kontrollü transkripsiyonuna bağlıdır. Ad replikasyonu için E1A protein gerektiğinden dolayı promotör kontrollü Ad sadece promotörün aktif olduğu hücrelerde replike olabilir. Bu özellikleri sebebiyle, yeni üretilen CRAds Human Papilloma Virus (HPV) pozitif baş ve boyun skuamöz hücre karsinomu (HNSCC)'yi hedefleyebilmektedir.⁴⁶ CRAd replikasyonunun kontrolü için post-transkripsiyonel kontrol kullanılabilir. mikro-RNA (miRNA)'lar hücrenin özelliklerini belirleyen ve hücrelerden eksprese edilen kısa RNA'lardır. miRNA bağlanma sekansının

Ad'nin E1A bölgesine yerleştirilmesi ile replikasyon, sadece kanser hücreleri gibi hedef hücreler ile sınırlandırılabilir.⁴⁷

Adenovirus vektörlerinin transdüksiyonel hedefleme olarak da bilinen bağlanma ve giriş kontrolündeki yetersiz stratejiler, onkolitik adenovirus (OAd) gelişimi önündeki temel engeldir. Gastrointestinal ve pankreatik kanserler, özofageal adenokarsinomlar, ovarium kanserleri gibi pek çok kanser türündeki OAd infektivitesi yetersiz adenoviral primer reseptör (coxsackie adenovirus reseptörü: CAR) sebebi ile düşüktür. Bu sorunun çözümü, OAd içerisine CAR-bağımsız enfeksiyon alanı yerleştirilmesidir. CAR bağlanmadan sorumlu Ad vahşi-tip lif bölgesindeki "knob" alanının keşfi ile infektivite artırılmıştır. Güncel çoğu Ad vektörü 2 veya 5 alttıpe dayalıdır. Her iki alttıpe bağlanma için CAR kullanır ve kanser hücrelerinde düşük transdüksiyon etkinliğine sahiptir. Farklı olarak, primer reseptör olarak CAR kullanmayan Ad vektör serotipleri de bulunmaktadır. Örneğin Ad35 CD46'yı kullanır ve Ad3 desmogrın-2'yi ve CD46'yı başlangıç bağlanma reseptörü olarak kullanır. Bu sebeple bu virüslerin enfeksiyonu CAR'dan bağımsızdır. Adenoviral vektörlerin tropizmini değiştiren pek çok yaklaşım bulunmaktadır. Bunlardan biri; tamamen alternatif subvektör bazlı yaklaşım, diğeri ise şimerik veya mozaik bağlanma alanı ilişkili Ad2/5 bazlı yaklaşımdır. Diğer yaklaşımlar molekül bazlı köprü yaklaşımlarıdır.⁴⁸

Sistemik uygulamalarda onkolitik virüslerin potansi ve seçiciliği üç aşamada tanımlanır. Bunların ilki, tümör bölgesini seçici olarak hedefleyen virüs uygulamalarına imkân veren organ seviyesinde hedeflemedir. İkincisi, tümör bölgesindeki kanser hücrelerinin seçici enfeksiyonuna imkân sağlayan in situ seviyede hedeflemedir. Üçüncüsü ise, kanser hücrelerinin seçici viral replikasyonunu sağlamak için replikasyon seviyesinde kontroldür. Dahası, yapılan çalışmalarda sistemik uygulamayı takiben Ad 5/3 modifiye vektörünün, yüksek tümör transdüksiyonu gösterilmiştir. Ek olarak Ad 5/3 ile birlikte OAd kontrolünde siklooksijenaz-2 (COX-2)'nin sistemik uygulaması, vahşi-tip virüsün pozitif kontrolü kadar antitümöral etki göstermiştir. Bu sebeple Ad 5/3 ile birlikte Ad, insan kanser hücrelerini etkili bir şekilde

enfekte ederken konak hücreyi enfekte etmez. Ad'nin replikatif biyolojisini daha iyi anlamak için konakçı ile uyumlu sinerjik modeller sunulmuştur. Güncel modellerden biri Suriye hamsterlarında, hamster kanser hücre hattı sinerjik graft temellidir. Diğer bir yaklaşım, köpek osteosarkom tedavisinde koşullu replikatif kanin Ad uygulamasıdır. Bu özel modeller, bir virüsün doğal konağında onkolitik ajan olarak etkisi hakkında değerli bilgiler sağlar. Bu sebeple insan veya fare dışındaki modeller immünite gibi konakçıya spesifik fenomenlerin analizi hakkında kritik bilgi sağlar.²

Onkolitik virüsten transjen ekspresyonu, onkolitik adenovirüslerin anti-tümöral etkinliğini güçlendirmeyi hedefleyen bir yaklaşımdır. Bu yaklaşım Ad ve vaccinia onkolitik virüslerin dâhil olduğu çok çeşitli virüsleri kapsar. Bunların içindeki Ad içeren ilginç bir örnek IFN'dir. IFN alfanın güçlü antitümöral etkilerinin olduğu ve kemoterapötik ajanların ve radyoterapinin tümörisidal etkilerini arttırdığı bilinmektedir.⁴⁹ Pek çok kanser olgusu tedavisinde çoklu kemoterapiler ile radyasyon kombinasyonu kullanılmaktadır. Benzer şekilde OAd ile kombinasyon terapisi mümkündür ve umut vaat edicidir. Özellikle OAd ile radyasyon kombinasyonu sadece klinik olarak değil biyolojik olarak da ilgi çekicidir. Klinik olarak OAd'ın erken bir versiyonunun baş ve boyun tümörlerinin tedavisinde eksternal radyasyon ve 5-fluorouracil (5-FU) ile kombinasyonu oldukça başarılı klinik sonuçlar vermiştir. Koşullu replikatif OAd, cisplatin ile kombine edilip hepatoselüler karsinoma, baş ve boyun kanseri ve servikal kanser tedavilerinde genel terapötik etkileri iyileştirebilir.⁵⁰

Günümüzde onkolitik virüsler ile anti-CTLA-4 ve anti-PD-1 antikoru immün kontrol noktası inhibitörlerinin kombinasyonu umut vaadedici sonuçlar vermiştir. Örneğin, Ad 5/3-24 bazlı OAd kodlayan anti-CTLA-4 antikoru çeşitli kanser hücre hatlarında denenmiş ve pro-apoptotik etkiler in vivo ve in vitro olarak gözlenmiştir.⁵¹

NEWCASTLE DISEASE VIRUS

Viral aşı (vaccine) vektörleri, aşı antijenine karşı etkili bir şekilde immün sistemi uyarır. "Newcastle disease

virus (NDV)", beşeri ve veteriner hekimlikte aşı vektörü olarak umut vaat eden bir avian paramyxovirus'tür. Avirüent NDV suşları olan LaSota ve B1, güvenli ve etkilidir. Yine de bu suşların aşı vektörü olarak kullanımı kuşlarda ve kuş harici türlerde oldukça güvenlidir. NDV, konağın solunum sisteminde etkili bir şekilde replike olur ve antijene karşı güçlü lokal ve sistemik immün cevap oluşturur. Bir aşı vektörü ve RNA virüsü olarak NDV, yabancı sekansa iyi derecede eşlik eder ve aynı zamanda konak hücrenin DNA'sı ile sınırlı derecede rekombinasyona girer. İnsanlarda aşı vektörü olarak NDV kullanımı diğer aşı vektörlerine göre bazı avantajlar sağlar. İnsanlarda sınırlı konak çeşitliliği sebebi ve antikor yokluğu nedeniyle NDV kullanımı güvenlidir. NDV, antijenik olarak yaygın insan patojenlerinden farklıdır.⁵²

Tarihte enfeksiyöz hastalıklar sıklıkla görülmektedir. HIV, SARS-CoV ve son olarak 2009 pandemik H1N1 influenza virüsü modern dünyada ortaya çıkmış enfeksiyöz hastalıklara örnektir. Her bir hastalık, beklenmedik hastalık semptomları ve ölümler sebebi ile küresel ekonomik ve sosyal etkilere neden olur. Tarih boyunca zayıflatılmış canlı aşılarda, viral enfeksiyonlar ve hastalıklardan korunmada etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Fakat polio aşısı gibi zayıflatılmış canlı aşılarda görüldüğü gibi kullanımda güvenlik konuları tartışılmaya başlanmıştır. Spesifik olarak vektör aşılarda çeşitli avantajları;

- 1) HIV gibi uygulanabilir olmayan zayıflatılmış canlı aşılara karşı,
- 2) In vitro üremeyen virüslere karşı (insan papillomavirus, hepatitis C virus ve norovirus),
- 3) Aşı geliştirilmesine sorun teşkil eden çok bulaşıcı patojen virüslere karşı (SARS-CoV ve Ebola virüsü),
- 4) Yetersiz fiziksel stabilitesi sebebiyle enfektif virüslere karşı [respiratorik sinsityel virüs (RSV)],
- 5) Dolaşımdaki virüslerde gen değişimi yapan coronavirus, influenza virus ve enterovirus gibi virüslere karşıdır.⁵³

NDV; hızlı replike olan, tüm kuş türlerinde bulunabilen bir avian virüstür. Pek çok kuş türünde

NDV enfeksiyonları hastalığa sebep olmaz. Tavuklarda NDV, oldukça bulaşıcı respiratorik ve nörolojik hastalığa ve bu nedenle de kümes hayvancılığında dünya çapında ekonomik kayıplara sebep olur. NDV suşlarının virülensi farklılık gösterir. Tavuklarda oluşan hastalığın şiddetine göre NDV suşları; respiratorik sistemde hafif veya asemptomatik enfeksiyona sebep olan lentojenik suş, orta derecede virülense sahip mezojenik suş ve yüksek mortaliteye sahip sistemik enfeksiyona neden olan velojenik suş olarak 3 patotipe ayrılır. LaSota ve B1 gibi doğal gelişen düşük virülensli NDV suşları, kümes hayvanlarında Newcastle hastalığının kontrolünde zayıflatılmış canlı aşı olarak kullanılmaktadır. NDV başlıca kuşları etkilese de deneysel olarak kuş dışındaki canlıların da duyarlı olabileceği gösterilmiştir. NDV genomunun reverse genetik sistem ile manipüle edilmesi, NDV patogenezi ve biyolojisinin moleküler düzeyde araştırılmasının yanı sıra insan ve hayvan hastalıklarında bir aşı vektörü olarak geliştirilebilmesinin de önünü açmıştır.⁵⁴

Newcastle disease virus vektörünün diğer replike olabilen virüslere göre bazı avantajları bulunmaktadır. Avirüent NDV suşları kuş ve kuş harici türlerde güvenlidir. NDV, in vivo replike olur ve immün sistem uyarımı yapar. Genomları daha çok sayıda protein kodlayan adenovirus, herpesvirus ve poxvirus vektörlerinin aksine NDV sadece 7 protein kodlar ve immün cevap bakımından ekspres edilen yabancı antijen ve vektör protein arasında daha az yarışma sağlar. NDV, sitoplazmada replike olur, konağın DNA'sı ile birleşmez ve persiste enfeksiyona sebep olmaz. NDV, intranasal yolla enfeksiyon oluşturur ve hem mukozal hem de sistemik immün cevaba neden olur.⁵⁵ NDV'nin integral membran proteinleri HN ve F olarak adlandırılır. HN proteini, virionun sialik asit içeren hücre yüzey reseptörüne bağlanmasından sorumludur. F proteini ise plazma membrana bağlanarak virüsün konak hücreye girişini sağlar.⁵⁶ Avirüent NDV suşları olan LaSota ve B1 güvenilirlikleri sebebi ile aşı vektörü olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Mezojenik ve velojenik NDV suşları, tavuklardaki virülensi nedeniyle aşı vektörü olarak kullanılmamaktadır. Mezojenik BC (Beaudette C) suşunun insan dışındaki primatlarda

değerlendirildiği deneysel bir çalışmada LaSota suşuna göre daha yüksek antikor cevabı oluşturduğu ve bu nedenle daha etkili bir aşı vektörü olabileceği bildirilmiştir.⁵⁷ İnsanlarda NDV'nin aşı vektörü olarak kullanımının pek çok avantajı vardır. Doğal konaklarının kısıtlı olması sebebiyle insanlarda kullanımı güvenlidir. İnsan dışındaki primatlarda, intranasal ve intratraheal inokulasyonu herhangi bir semptomu sebep olmamıştır ve replikasyonu solunum sistemi ile sınırlı kalmıştır. Aşı vektörü olarak NDV, giderek daha büyük bir problem hâline gelen SARS-CoV için değerlendirilmiş ve mezojenik BC ve F proteini, BC suşuna göre modifiye edilmiş lentojenik LaSota suşu üretilmiştir. Üretilen bu NDV vektörleri SARS-CoV'nin temel protektif antijeni olan spike S glikoproteinini eksprese edecek şekilde üretilmiştir. Afrika yeşil maymunlarında yapılan iki doz immünizasyon, nötralize edici antikor cevabı uyarılmış ve SARS-CoV saçılımını düşürmüştür. Viral titrasyonun NDV-BC vektörü ile nazal konhalarda, trahede ve akciğerde sırasıyla 13.276 ve 1.102 kat daha düşük olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar ile SARS-CoV'a karşı NDV'nin yüksek koruyucu etkinliği sebebiyle topikal respiratorik aşı vektörü olarak kullanılabilirliğini doğrulamıştır.⁵⁸

REOVIRUS

Bir memeli orthoreovirus olan reovirus, kanser terapötüğü olarak geliştirilmekte olan onkolitik virüslerden biridir. Doğal gelişen reovirus enfeksiyonları ile ilişkili klinik bulgular, reovirusun immün sistemi baskılanmış hastalarda kanser viroterapi için ideal bir aday olmasını sağlamaktadır. Çok sayıda Faz I ve Faz II klinik denemeler, T3 Dearing (T3D) suşu bazlı reovirusun (Pelareorep), immüsupresif terapiler gören çeşitli kanser hastalarında güvenli olduğunu göstermiştir. Bu sebeple, reovirus enfeksiyonu; kemoterapötik ilaçlara karşı kanser hücrelerini hassas hale getirir ve hücre ile ilişkili immüniteyi uyararak hem immünterapötik bir ajan hem de iyi bir kombinasyon terapisi adayı olarak kabul edilir.^{59,60}

EGFR (Epidermal büyüme faktör reseptör) ekspresyonu, çoğu insan tümöründe artar ve Ras aracılığı ile artan uyarım, tümör hücre proliferasyonunu

ve bazı kanser tiplerinde hayatta kalmayı arttırabilir. Ras uyarımı, pek çok bakımdan reovirus replikasyonunu, enfeksiyöz partiküllerin üretimini ve hücrelerden apoptozise bağlı projenik virionların salınımını arttırır. Reovirus virionunun hücreye giriş sırasında proteolitik ayrışımı, reovirus enfeksiyonuna karşı duyarlılığın belirlenmesi ve reovirus onkolizisi açısından oldukça önemlidir. Ras, reovirus onkolizisine katkıda bulursa da, Ras'tan bağımsız mekanizmalar ile de kanser hücreleri öldürülebilir. Örneğin, baş ve boyun kanseri ve akciğer kanser hücre hatlarının reovirus ile yok edilmesi Ras transformasyonu ile korelasyon göstermez. Çoğu kanser hücrelerinin reovirus ile enfeksiyonu, reovirusun hücreye girişinde görevli hücre yüzey reseptörü JAM-A ile korelasyon içerisindedir. Yine de, "Junctional Adhesion Molecule A) (JAM-A)" ekspresyonu, tüm kanser hücrelerinin enfeksiyonu için esansiyel değildir. Örneğin 2D kültür şartlarında reovirus ile glioblastoma enfeksiyonu JAM-A'ya bağlı iken, 3D kültür şartlarında JAM-A'dan bağımsızdır. Bu veriler hücrel mikroçevrenin reovirus onkolizisine duyarlılığı etkilediğini gösterir.^{61,62}

SONUÇ

Günümüzde, ideal bir onkolitik virüsün geliştirilmesinde;

- 1) Seçici olarak tümör dokusunu hedefleyen onkolitik virüsler,
- 2) Solid (katı) tümör dokularında nispeten zayıf viral yayılım,
- 3) Bağışıklık sistemi normal (immünokompetan) konakçılarda yetersiz viral replikasyon ve
- 4) Antiviral ve antitümöral bağışıklık oranı arasındaki dezavantaj gibi bazı sınırlamalar vardır.

Veterinerlik alanında adenovirus, reovirus, vaccine virus ve CDV gibi pek çok virüs, onkolitik ajanlar olarak bildirilmektedir. Bunlardan onkolitik bir virüs olarak CDV'nin avantajı, DNA virüslerine kıyasla nispeten küçük hacme sahip olmalarıdır. CDV; yapay eklentiler yanında virüsün sadece birkaç proteini de eksprese edilebilir. Bu yüzden canlı üzerindeki aşırı immüne cevap minimize edilebilir. Morbilliviruslerin bir üyesi olarak CDV'nin diğer bir avantajı, MeV ile birçok benzerliği paylaşması ve

doğal olarak zayıflatılmış aşı suşlarının da, birçok kanser hücrelerini enfekte ederek apoptosisi indüklemesi, onkolitik tedavide ilginç bir aday olarak kabul edilmesini sağlamıştır. Köpeklerde CDV Onderstepoort suşu ile hücre zarlarının yüzeyinde SLAM eksprese eden GLGL-90 kronik büyük granüler lenfositik T-hücre leukemi hücreleri ve 17-71 akut B-hücre lenfoma hücreleri dâhil lenfoid hücre hatlarının enfeksiyonunda, tümör hücrelerinde apoptoz oranında artışa neden olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde, CDV Lederle suşu ile enfeksiyondan sonra da, insan servikal tümör hücrelerinde (HeLa hücreleri) apoptoz oranları artmıştır. Enfekte tümör hücrelerindeki apoptozun, intrinsik yollar ile tetiklendiği, tümör hücrelerinde yapışik caspase-3 proteinin aktif formunun miktarındaki artış ile ortaya konur. Bunlara ilave olarak, köpeklerde CDV Onderstepoort suşunun, histiyositik sarkom hücre hatlarını (CCT ve DH82 hücreleri) enfekte ettiği ve CCT hücrelerinde apoptoza sebep olduğu belirlenmiştir.⁶³ Onderstepoort suşu ile DH82 hücrelerinin persistent enfeksiyonunun, aktive edilmiş M1'in ve alternatif olarak da aktive edilmiş M2 makrofajları ile birlikte immün yanıtın aktivasyonunu uyaran transdüksiyon genlerinde artmış mRNA transkriptlerine yol açtığı gösterilmiştir. Ayrıca, Onderstepoort suşu ile enfekte olmuş DH82 hücrelerinin, matris metalloproteinaz-2 (MMP-2), matris metalloproteinaz-1'in doku inhibitörü (TIMP-1) ve TIMP-2'nin ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir. Son zamanlarda, insan adenokarsinomları, meme tümörü ve bunun yanı sıra köpeklerde adenofibrosarkomların Snyder Hill ve Lederle CDV suşları ile enfeksiyonunun, TNF- α kaynaklı protein 8 (TNFAIP8) ifadesi ile ilişkili gecikmiş apoptosiz ya da tümör hücrelerinin ölümüne yol bildirilmiştir. Bu nedenle, insanlarda ve köpeklerde meme tümör hücrelerinin tedavisinde CDV'nin potansiyel bir aday olabileceği ileri sürülmektedir.²⁷

Sonuç olarak, yakın zamanda hem beşeri hem de veteriner hekimlikte kanser tedavisi için onkolitik viroterapinin standart yaklaşım olacağını söylemek mümkündür. Onkolitik aktivite kapsamında spesifik antitümör immünitesinin uyarılması, antitümöröral etkilerin ortaya çıkmasında ve immünoterapi ile kombine edildiğinde tedavi sonuçlarının iyileşmesinde anahtar rol oynar. Fonksiyonel transgenler ile onkolitik virüslerin güçlendirilmesi, gelecekte kanser tipi ve derecesine göre uygun onkolitik virüsün seçimine imkân tanıyacaktır.⁶⁴ Bu sebeple kanser tedavisinde, kanser hastaları için uygun virüsün tedavi seçeneği olarak sunulacağı yeni bir dönem başlamıştır.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Mahmut Ok, Mutlu Sevinç, Erdem Gülersoy;
Tasarım: Mahmut Ok, Mutlu Sevinç, Erdem Gülersoy;
Denetleme/Danışmanlık: Mahmut Ok, Mutlu Sevinç; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Mahmut Ok, Mutlu Sevinç, Erdem Gülersoy; **Analiz ve/veya Yorum:** Mahmut Ok, Mutlu Sevinç;
Kaynak Taraması: Mahmut Ok, Mutlu Sevinç, Erdem Gülersoy;
Makalenin Yazımı: Mahmut Ok, Mutlu Sevinç, Erdem Gülersoy;
Eleştirel İnceleme: Mahmut Ok, Mutlu Sevinç, Erdem Gülersoy;
Kaynaklar ve Fon Sağlama: Mahmut Ok, Mutlu Sevinç;
Malzemeler: Mahmut Ok, Mutlu Sevinç.

KAYNAKLAR

1. Hall NC, Zhang J, Povoski SP, Martin EW, Knopp MV. New developments in imaging and functional biomarker technology for the assessment and management of cancer patients. *Expert Rev Med Devices*. 2009;6(4):347-51.[Crossref] [PubMed]
2. Yamamoto M. Conditionally replicative adenovirus for gastrointestinal cancers. *Expert Opin Biol Ther*. 2004;4(8):1241-50.[Crossref] [PubMed]
3. Andtbacka RH, Kaufman HL, Collichio F, Amatruda T, Senzer N, Chesney J, et al. Talimogene Laherparepvec Improves Durable Response Rate in Patients With Advanced Melanoma. *J Clin Oncol*. 2015;33(25):2780-8.[Crossref] [PubMed]
4. Billeter MA, Naim HY, Udem SA. Reverse genetics of measles virus and resulting multivalent recombinant vaccines: applications of recombinant measles viruses. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2009;329:129-62.[Crossref] [PubMed] [PMC]
5. Breitbach CJ, Paterson JM, Lemay CG, Falls TJ, McGuire A, Parato KA, et al. Targeted inflammation during oncolytic virus therapy severely compromises tumor blood flow. *Mol Ther*. 2007;15(9):1686-93.[Crossref] [PubMed]
6. Gentschev I, Ehrig K, Donat U, Hess M, Rudolph S, Chen N, et al. Significant Growth Inhibition of Canine mammary carcinoma xenografts following treatment with oncolytic vaccinia virus GLV-1h68. *J Oncol*. 2010;20(10):736907.[Crossref] [PubMed] [PMC]
7. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol*. 2003;3(1):23-35. [Crossref] [PubMed]
8. Sgadari C, Angiolillo AL, Tosato G. Inhibition of angiogenesis by interleukin-12 is mediated by the interferon-inducible protein 10 *Blood*. 1996;87(9):3877-82.[Crossref] [PubMed]
9. Zygiert Z. Hodgkin's disease: remissions after measles. *Lancet*. 1971;1(7699):593.[Crossref] [PubMed]
10. Peng KW, Holler PD, Orr BA, Kranz DM, Russell SJ. Targeting virus entry and membrane fusion through specific peptide/MHC complexes using a high-affinity T-cell receptor *Gene Ther*. 2004;11(15):1234-9.[Crossref] [PubMed]
11. Leonard VH, Hodge G, Reyes-Del Valle J, McChesney MB, Cattaneo R. Measles virus selectively blind to signaling lymphocytic activation molecule (SLAM; CD150) is attenuated and induces strong adaptive immune responses in rhesus monkeys. *J Virol*. 2010;84(7):3413-20.[Crossref] [PubMed] [PMC]
12. Noyce RS, Delpeut S, Richardson CD. Dog nectin-4 is an epithelial cell receptor for canine distemper virus that facilitates virus entry and syncytia formation. *Virology*. 2013;436(1):210-20.[Crossref] [PubMed]
13. Hwang CC, Igase M, Sakurai M, Haraguchi T, Tani K, Itamoto K, et al. Oncolytic reovirus therapy: Pilot study in dogs with spontaneously occurring tumours. *Vet Comp Oncol*. 2018;16(2):229-38.[Crossref] [PubMed]
14. Takano A, Ishikawa N, Nishino R, Masuda K, Yasui W, Inai K, et al. Identification of nectin-4 oncoprotein as a diagnostic and therapeutic target for lung cancer. *Cancer Res*. 2009;69(16):6694-703.[Crossref] [PubMed]
15. Woo PC, Lau SK, Wong BH, Fan RY, Wong AY, Zhang AJ, et al. Feline morbillivirus, a previously undescribed paramyxovirus associated with tubulointerstitial nephritis in domestic cats. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109(14):5435-40.[Crossref] [PubMed] [PMC]
16. Maes P, Amarasinghe GK, Ayllón MA, Basler CF, Bavari S, Kuhn JH, et al. Taxonomy of the order Mononegavirales: second update 2018. *Arch Virol*. 2019;164(4):1233-44.[Crossref] [PubMed] [PMC]
17. Gülersoy E, Ok M, Sevinç M, Durgut MK, Naseri AA. [Case of A 13-Year-Old Dog with Old Dog Encephalitis: A Rare Form of Canine Distemper]. *Kocatepe Vet J*. 2020;13(2):224-7.
18. Qiu W, Zheng Y, Zhang S, Fan Q, Liu H, Zhang F, et al. Canine distemper outbreak in rhesus monkeys, China. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(8):1541-3.[Crossref] [PubMed] [PMC]
19. Sakai K, Nagata N, Ami Y, Seki F, Suzuki Y, Iwata-Yoshikawa N, et al. Lethal canine distemper virus outbreak in cynomolgus monkeys in Japan in 2008. *J Virol*. 2013;87(2):1105-14.[Crossref] [PubMed] [PMC]
20. Martinez-Gutierrez M, Ruiz-Saenz J. Diversity of susceptible hosts in canine distemper virus infection: a systematic review and data synthesis. *BMC Vet Res*. 2016;12:78. [Crossref] [PubMed] [PMC]
21. Hartley WJ. A post-vaccinal inclusion body encephalitis in dogs. *Vet Pathol*. 1974;11(4):301-12.[Crossref] [PubMed]
22. Carpenter JW, Appel MJ, Erickson RC, Novilla MN. Fatal vaccine-induced canine distemper virus infection in black-footed ferrets. *J Am Vet Med Assoc*. 1976;169(9):961-4.[PubMed]
23. McInnes EF, Burroughs RE, Duncan NM. Possible vaccine-induced canine distemper in a South American bush dog (*Speothos venaticus*). *J Wildl Dis*. 1992;28(4):614-7.[Crossref] [PubMed]
24. Sutherland-Smith MR, Rideout BA, Mikolon AB, Appel MJ, Morris PJ, Shima AL, et al. Vaccine-induced canine distemper in European mink, *Mustela lutreola*. *J Zoo Wildl Med*. 1997;28(3):312-8.[PubMed]
25. Martella V, Blixenkroner-Møller M, Elia G, Lucente MS, Cirone F, Decaro N, et al. Lights and shades on an historical vaccine canine distemper virus, the Rockborn strain. *Vaccine*. 2011;29(6):1222-7.[Crossref] [PubMed]
26. Suter SE, Chein MB, von Messling V, Yip B, Cattaneo R, Vernau W, et al. In vitro canine distemper virus infection of canine lymphoid cells: a prelude to oncolytic therapy for lymphoma. *Clin Cancer Res*. 2005;11(4):1579-87.[Crossref] [PubMed]
27. Garcia JA, Ferreira HL, Vieira FV, Gameiro R, Andrade AL, Eugénio FR, et al. Tumour necrosis factor-alpha-induced protein 8 (TNFAIP8) expression associated with cell survival and death in cancer cell lines infected with canine distemper virus. *Vet Comp Oncol*. 2017;15(2):336-44.[Crossref] [PubMed]
28. Del Puerto HL, Martins AS, Milsted A, Souza-Fagundes EM, Braz GF, Hissa B, et al. Canine distemper virus induces apoptosis in cervical tumor derived cell lines. *Virol J*. 2011;8:334.[Crossref] [PubMed] [PMC]
29. Li P, Wang J, Chen G, Zhang X, Lin D, Zhou Y, et al. Oncolytic activity of canine distemper virus in canine mammary tubular adenocarcinoma cells. *Vet Comp Oncol*. 2019;17(2):174-83.[Crossref] [PubMed]
30. Gassen U, Collins FM, Duprex WP, Rima BK. Establishment of a rescue system for canine distemper virus. *J Virol*. 2000;74(22):10737-44.[Crossref] [PubMed] [PMC]
31. von Messling V, Zimmer G, Herrler G, Haas L, Cattaneo R. The hemagglutinin of canine distemper virus determines tropism and cytopathogenicity. *J Virol*. 2001;75(14):6418-27.[Crossref] [PubMed] [PMC]
32. Buchholz UJ, Finke S, Conzelmann KK. Generation of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) from cDNA: BRSV NS2 is not essential for virus replication in tissue culture, and the human RSV leader region acts as a functional BRSV genome promoter. *J Virol*. 1999;73(1):251-9.[Crossref] [PubMed] [PMC]
33. Anderson DE, von Messling V. Region between the canine distemper virus M and F genes modulates virulence by controlling fusion protein expression. *J Virol*. 2008;82(21):10510-8.[Crossref] [PubMed] [PMC]
34. Elroy-Stein O, Moss B. Cytoplasmic expression system based on constitutive synthesis of bacteriophage T7 RNA polymerase in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990;87(17):6743-7.[Crossref] [PubMed] [PMC]

35. Beaty SM, Park A, Won ST, Hong P, Lyons M, Vigant F, et al. Efficient and Robust Paramyxoviridae Reverse Genetics Systems. *mSphere*. 2017;2(2):e00376-16.[Crossref] [PubMed] [PMC]
36. Martin A, Staeheli P, Schneider U. RNA polymerase II-controlled expression of antigenomic RNA enhances the rescue efficacies of two different members of the Mononegavirales independently of the site of viral genome replication. *J Virol*. 2006;80(12):5708-15.[Crossref] [PubMed] [PMC]
37. Ludlow M, Nguyen DT, Silin D, Lyubomska O, de Vries RD, von Messling V, et al. Recombinant canine distemper virus strain Snyder Hill expressing green or red fluorescent proteins causes meningoencephalitis in the ferret. *J Virol*. 2012;86(14):7508-19.[Crossref] [PubMed] [PMC]
38. Tatsuo H, Ono N, Yanagi Y. Morbilliviruses use signaling lymphocyte activation molecules (CD150) as cellular receptors. *J Virol*. 2001;75(13):5842-50.[Crossref] [PubMed] [PMC]
39. Pratakipriya W, Ping Teh AP, Radtanakaitanon A, Pirarat N, Thi Lan N, Takeda M, et al. Expression of canine distemper virus receptor nectin-4 in the central nervous system of dogs. *Sci Rep*. 2017;7(1):349.[Crossref] [PubMed] [PMC]
40. Bieringer M, Han JW, Kendl S, Khosravi M, Plattet P, Schneider-Schaulies J. Experimental adaptation of wild-type canine distemper virus (CDV) to the human entry receptor CD150. *PLoS One*. 2013;8(3):e57488.[Crossref] [PubMed] [PMC]
41. de Vries RD, Ludlow M, Verburgh RJ, van Amerongen G, Yüksel S, Nguyen DT, et al. Measles vaccination of nonhuman primates provides partial protection against infection with canine distemper virus. *J Virol*. 2014;88(8):4423-33.[Crossref] [PubMed] [PMC]
42. Backhaus PS, Veinalde R, Hartmann L, Dunder JE, Jeworowski LM, Albert J, et al. Immunological effects and viral gene expression determine the efficacy of oncolytic measles vaccines encoding IL-12 or IL-15 agonists. *Viruses*. 2019;11(10):914.[Crossref] [PubMed] [PMC]
43. Shenk T. Adenoviridae: the viruses and their replication. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields virology*. Vol. 2. Lippincott-Raven; Philadelphia, PA; 1996. p. 2111-48.
44. Killock D. Skin cancer: T-VEC oncolytic viral therapy shows promise in melanoma. *Nat Rev Clin Oncol*. 2015;12(8):438.[Crossref] [PubMed]
45. Bischoff JR, Kirn DH, Williams A, Heise C, Horn S, Muna M, et al. An adenovirus mutant that replicates selectively in p53-deficient human tumor cells. *Science*. 1996;274(5286):373-6.[Crossref] [PubMed]
46. LaRocca CJ, Han J, Salzwedel AO, Davydova J, Herzberg MC, Gopalakrishnan R, et al. Oncolytic adenoviruses targeted to human papilloma virus-positive head and neck squamous cell carcinomas. *Oral Oncol*. 2016;56:25-31.[Crossref] [PubMed] [PMC]
47. Stoff-Khalili MA, Rivera AA, Nedeljkovic-Kurepa A, DeBenedetti A, Li XL, Odaka Y, et al. Cancer-specific targeting of a conditionally replicative adenovirus using mRNA translational control. *Breast Cancer Res Treat*. 2008;108(1):43-55.[Crossref] [PubMed] [PMC]
48. Wesseling JG, Bosma PJ, Krasnykh V, Kashentseva EA, Blackwell JL, Reynolds PN, et al. Improved gene transfer efficiency to primary and established human pancreatic carcinoma target cells via epidermal growth factor receptor and integrin-targeted adenoviral vectors. *Gene Ther*. 2001;8(13):969-76.[Crossref] [PubMed]
49. Nukui Y, Picozzi VJ, Traverso LW. Interferon-based adjuvant chemoradiation therapy improves survival after pancreaticoduodenectomy for pancreatic adenocarcinoma. *Am J Surg*. 2000;179(5):367-71.[Crossref] [PubMed]
50. Hsu KF, Wu CL, Huang SC, Hsieh JL, Huang YS, Chen YF, et al. Conditionally replicating E1B-deleted adenovirus driven by the squamous cell carcinoma antigen 2 promoter for uterine cervical cancer therapy. *Cancer Gene Ther*. 2008;15(8):526-34.[Crossref] [PubMed]
51. Dias JD, Hemminki O, Diaconu I, Hirvonen M, Bonetti A, Guse K, et al. Targeted cancer immunotherapy with oncolytic adenovirus coding for a fully human monoclonal antibody specific for CTLA-4. *Gene Ther*. 2012;19(10):988-98.[Crossref] [PubMed]
52. Belshe RB, Edwards KM, Vesikari T, Black SV, Walker RE, Hultquist M, et al.; CAIV-T Comparative Efficacy Study Group. Live attenuated versus inactivated influenza vaccine in infants and young children. *N Engl J Med*. 2007;356(7):685-96.[Crossref] [PubMed]
53. Bukreyev A, Collins PL. Newcastle disease virus as a vaccine vector for humans. *Curr Opin Mol Ther*. 2008;10(1):46-55.[PubMed]
54. Samal SK. Newcastle disease and related avian paramyxoviruses. In: *The Biology of Paramyxoviruses*; Norfolk, UK: Caister Academic Press; 2011. p.69-114.
55. Peeters BP, de Leeuw OS, Koch G, Gielkens AL. Rescue of Newcastle disease virus from cloned cDNA: evidence that cleavability of the fusion protein is a major determinant for virulence. *J Virol*. 1999;73(6):5001-9.[Crossref] [PubMed] [PMC]
56. Panda A, Huang Z, Elankumaran S, Rockemann DD, Samal SK. Role of fusion protein cleavage site in the virulence of Newcastle disease virus. *Microb Pathog*. 2004;36(1):1-10.[Crossref] [PubMed] [PMC]
57. Bukreyev A, Huang Z, Yang L, Elankumaran S, St Claire M, Murphy BR, et al. Recombinant newcastle disease virus expressing a foreign viral antigen is attenuated and highly immunogenic in primates. *J Virol*. 2005;79(21):13275-84.[Crossref] [PubMed] [PMC]
58. Nakaya T, Cros J, Park MS, Nakaya Y, Zheng H, Sagrera A, et al. Recombinant Newcastle disease virus as a vaccine vector. *J Virol*. 2001;75(23):11868-73.[Crossref] [PubMed] [PMC]
59. Miest TS, Cattaneo R. New viruses for cancer therapy: meeting clinical needs. *Nat Rev Microbiol*. 2014;12(1):23-34.[Crossref] [PubMed] [PMC]
60. Zhao X, Chester C, Rajasekaran N, He Z, Kohrt HE. Strategic Combinations: The Future of Oncolytic Virotherapy with Reovirus. *Mol Cancer Ther*. 2016;15(5):767-73.[Crossref] [PubMed]
61. van Houdt WJ, Smakman N, van den Wollenberg DJ, Emmink BL, Veenendaal LM, van Diest PJ, et al. Transient infection of freshly isolated human colorectal tumor cells by reovirus T3D intermediate subviral particles. *Cancer Gene Ther*. 2008;15(5):284-92.[Crossref] [PubMed]
62. Thirukkumaran CM, Shi ZQ, Luider J, Kopciuk K, Gao H, Bahlis N, et al. Reovirus as a viable therapeutic option for the treatment of multiple myeloma. *Clin Cancer Res*. 2012;18(18):4962-72.[Crossref] [PubMed]
63. Pfankuche VM, Spitzbarth I, Lapp S, Ulrich R, Deschl U, Kalkuhl A, et al. Reduced angiogenic gene expression in morbillivirus-triggered oncolysis in a translational model for histiocytic sarcoma. *J Cell Mol Med*. 2017;21(4):816-30.[Crossref] [PubMed] [PMC]
64. Fukuhara H, Ino Y, Todo T. Oncolytic virus therapy: A new era of cancer treatment at dawn. *Cancer Sci*. 2016;107(10):1373-9.[Crossref] [PubMed] [PMC]