FABAD J. Pharm. Sci., 46, 1, 79-92, 2021

REVIEW ARTICLES

İyonlaştırıcı Radyasyon ve Onkolitik Virüsler ile Kombine Tedavinin Etkileri

Meliha EKİNCİ*, Derya İLEM-ÖZDEMİR**°

The Effects of Combination Therapy of Ionizing Radiation and Oncolytic Viruses

SUMMARY

Cancer is the leading cause of death worldwide. Treatment methods in cancer consist of radiation therapy, surgery, chemotherapy, immunotherapy and hormonal therapy. Ionizing radiation therapy, which deprives cancer cells of its ability to reproduce, remains an important component of cancer treatment, with about 50% of all cancer patients receiving radiation therapy during the disease, and contributes to 40% of curative treatment for cancer. Due to the side effects of these routine cancer treatments, the need for new therapeutic strategies has increased. With the development of oncolytic viruses in the last 20 years, a new area called virotherapy has been created in the treatment of cancer. Oncolytic viruses are a new biological therapeutic group with a wide spectrum of anticancer activity, with low human toxicity. Studies have shown that oncolytic viruses, which can be designed to selectively infect and / or multiply in cancer cells, have an increased antitumoral effect on tumor xenografts combined with ionizing radiation. In this review, treatment methods with ionizing radiation and oncolytic viruses are described and examples from current studies are presented.

Key Words: *Ionizing radiation, oncolytic virus, cancer, therapy, virotherapy, xenografts.*

İyonlaştırıcı Radyasyon ve Onkolitik Virüsler ile Kombine Tedavinin Etkileri

ÖZ

Kanser, dünya çapında en önde gelen ölüm nedenidir. Kanserde tedavi yöntemleri, radyasyon tedavisi, cerrahi, kemoterapi, immünoterapi ve hormonal tedaviden oluşur. Kanser hücrelerini çoğalma yeteneğinden mahrum bırakan iyonlaştırıcı radyasyon tedavisi, hastalık süresince radyasyon tedavisi alan tüm kanser hastalarının yaklaşık %50'si ile kanser tedavisinin önemli bir bileşeni olmaya devam etmekte ve kanser için küratif tedavinin %40'ına katkıda bulunmaktadır. Rutinde uygulanan bu kanser tedavilerinin yan etkileri nedeniyle, yeni terapötik stratejilere duyulan ihtiyaç artmıştır. Son 20 yılda onkolitik virüslerin gelişmesiyle kanser tedavisinde viroterapi olarak adlandırılan yeni bir alan yaratılmıştır. Onkolitik virüsler, insan toksisitesinin az olduğu, geniş bir antikanser aktivitesi spektrumuna sahip yeni bir biyolojik terapötik gruptur. Yapılan çalışmalarda, kanser hücrelerinde seçici olarak enfekte olacak ve / veya çoğalacak şekilde tasarlanabilen onkolitik virüslerin, tümör ksenograftları üzerinde iyonlaştırıcı radyasyon ile kombine halde kullanımlarının artmış antitümöral etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu derlemede iyonlaştırıcı radyasyon ve onkolitik virüslerle tedavi şekilleri anlatılmış ve güncel çalışmalardan örnekler sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: *İyonlaştırıcı radyasyon, onkolitik virüs, kanser, tedavi, viroterapi, ksenograft.*

Received: 3.06.2020
Revised: 27.08.2020
Accepted: 18.09.2020

* ORCID: 0000-0003-1319-3756, Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Radyofarmasi Anabilim Dalı, 35100 Bornova, İzmir, Türkiye.
** ORCID: 0000-0002-1062-498X, Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Radyofarmasi Anabilim Dalı, 35100 Bornova, İzmir, Türkiye.

° Corresponding Author: Derya İLEM-ÖZDEMİR
Tel: 232 311 3282; e-mail: deryailem@gmail.com

GİRİŞ

Kanser, dünya çapında en önde gelen ölüm nedenidir. Kanserin tedavisinde radyasyon tedavisi, cerrahi, kemoterapi, immünoterapi ve hormonal tedavi gibi pek çok yaklaşım mevcuttur. Bu yaklaşımlardan biri olan iyonize radyasyon tedavisi, şu anda glioblastom, servikal karsinom, pankreas karsinomu ve lokalize prostat kanseri dahil olmak üzere birçok malignitenin tedavisinde kullanılmaktadır (Spear et al., 2000). Tüm kanser hastalarının yaklaşık %50'sinin hastalıkları boyunca radyasyon tedavisi aldığı (Begg et al., 2011; Delaney et al., 2005) ve radyasyon tedavisinin, kombine küratif tedaviye %40 oranında katkıda bulunduğu tahmin edilmektedir (Barnett et al., 2009).

Son yıllarda, rutinde uygulanan kanser tedavilerin yan etkileri nedeniyle, yeni terapötik stratejilere duyulan ihtiyaç artmıştır. Bu yaklaşımdan hareketle, koşullu olarak kopyalayan, normal hücrelerde değil, tümör hücrelerinde seçici olarak çoğalan onkolitik virüsler, kanser tedavisi için viroterapötik ajanlar olarak araştırılmaktadır. Yapılan viroterapi çalışmaları, virüslerin onkolitik aktivitesine duyarlı tümörlerde büyük umut vaat etmektedir.

Güncel çalışmalarda tümör ksenograftları üzerinde onkolitik virüslerin tek ajanlar olarak veya birçok tümör tipi için standart olarak uygulanan, DNA'ya zarar veren bir ajan olan iyonize radyasyon gibi standart tedavilerle kombine halde uygulanması değerlendirilmektedir. Preklinik veriler, onkolitik virüs ve radyasyon tedavisi kombinasyonlarının umut verici olduğunu, *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda ek veya sinerjistik antitümöral etki sağladığını göstermektedir (Touchefeu et al., 2011).

Bu derlemede, kanser tedavisinde kullanılan iyonize radyasyon türleri ve etki mekanizmalarından, onkolitik virüsler ile tedavi stratejilerinden bahsedilerek, tümör ksenograftları üzerinde iyonize radyasyon ve onkolitik virüsler ile yapılan kombine tedavi örneklerine değinilmiştir.

İYONLAŞTIRICI RADYASYON İLE TEDAVİ

Kanser hücrelerini yok etmek için kullanılan fiziksel bir ajan olan radyasyon, iyonlaştırıcı radyasyon olarak adlandırılır. İyonlaştırıcı radyasyon, iyonlar oluşturarak içinden geçtiği dokuların hücrelerinde enerji birikimine neden olur. Bu biriken enerji kanser hücrelerini öldürebilir veya kanser hücresini ölüme götüren genetik değişikliklere neden olabilir (Baskar et al., 2012).

Yüksek enerjili radyasyon, hücrelerin genetik materyaline (deoksiribonükleik asit, DNA) zarar vererek hücrelerin daha fazla bölünme ve çoğalma yeteneklerini engeller (Jackson & Bartek, 2009). Radyasyon hem normal hücrelere hem de kanser hücrelerine zarar verse de, radyasyon ile tedavinin amacı, sağlıklı hücrelerin ve kanser hücrelerine bitişik normal hücrelerin radyasyon maruziyetini en aza indirerek, anormal kanser hücrelerindeki radyasyon dozunu en üst düzeye çıkarmaktır (Ekinci, 2018). Normal hücreler genellikle kendilerini kanser hücrelerinden daha hızlı bir şekilde onararak normal işlevsel durumlarını koruyabilirler. Fakat kanser hücreleri, radyasyon tedavisinin neden olduğu hasarı onarmada normal hücreler kadar etkili değildir (Begg et al., 2011).

Radyasyon, kanserin neden olduğu semptomlardan kurtulmak için palyatif tedavinin etkili bir yöntemi olarak kullanımının yanı sıra tedavi amacıyla da kullanılabilir. Radyasyon ile tedavinin diğer endikasyonları arasında cerrahi, kemoterapi veya immünoterapi gibi diğer tedavi yöntemleri ile kombinasyon stratejileri bulunmaktadır. Onkolojik hastalarda ameliyattan önce uygulanan radyasyon (neoadjuvan tedavi) tümörün boyutunu küçültmeyi amaçlarken, ameliyattan sonra uygulanan radyasyon (adjuvan tedavi) geride kalmış olabilecek mikroskobik tümör hücrelerini yok etmeyi amaçlamaktadır. Tablo 1'de radyasyon ile tedavi edilen yaygın kanserlerin bir listesi sunulmuştur (Baskar et al., 2012).

Kanserin bulunduğu yere radyasyonu iletmenin iki yolu vardır: Dış ışın radyasyonu ve iç radyasyon. Dış ışın radyasyonu uygulamasında vücudun dışından yüksek enerjili ışınlar (fotonlar, protonlar veya parçacık radyasyonu) tümörün konumuna göre

yönlendirerek verilir. Bu durum, klinik ortamlarda uygulanan en yaygın yaklaşımdır. İç radyasyon veya brakiterapi uygulamasında ise radyoaktif kaynaklar vücudun içine uygulanarak doğrudan tümör bölgesine verilir. Bu durum ise özellikle jinekolojik ve prostat malignitelerinin rutin tedavisinde ve kısa menzilli etkilerine dayanarak yeniden tedavinin belirtildiği kanser durumlarında kullanılır.

Radyasyon ile tedavinin amacı, normal dokuyu olabildiğince koruyarak tümöre daha fazla radyasyon dozu uygulamaktır. Kanser tedavisinde kullanılan iyonlaştırıcı radyasyon türleri iki çeşittir.

Tablo 1. Radyasyon ile tedavi edilebilen kanser örnekleri

Tek Başına Radyasyon Tedavisi ile Tedavi Edilebilen Erken Dönem Kanserler	**Diğer Yöntemlerle Birlikte Radyasyon Tedavisi ile Tedavi Edilebilen Kanserler**
Deri Kanserleri (Skuamöz ve Bazal Hücreli)	Meme Kanseri
Prostat Karsinomları	Rektal ve Anal Karsinomlar
Akciğer Karsinomları (Küçük Hücreli Dışı)	Lokal İleri Serviks Karsinomları
Serviks Karsinomları	Lokal Olarak Gelişmiş Baş ve Boyun Karsinomları
Lenfomalar (Hodgkin ve Düşük Dereceli Hodgkin Olmayanlar)	Lokal İlerlemiş Akciğer Karsinomları
Baş ve Boyun Karsinomları	**İleri Lenfomalar**
	Mesane Karsinomları
	Endometrial Karsinomlar
	Santral Sinir Sistemi Tümörleri
	Yumuşak Doku Sarkomları
	Pediatrik Tümörler

İyonlaştırıcı Radyasyon Türleri

Foton Radyasyonları (X-Işınları ve Gama Işınları)

X-ışınları ve gama ışınları, çeşitli kanserlerin radyasyon ile tedavisinde rutin olarak kullanılan iyonlaştırıcı foton radyasyonlarıdır. X-ışınları, elektronları uyaran bir cihaz (katot ışını tüpleri ve doğrusal hızlandırıcılar) tarafından üretilirken, gama ışınları radyoaktif maddelerin (örn. Kobalt-60, radyum ve sezyum) bozunmasından kaynaklanır. Bu ışınlar, düşük LET (doğrusal enerji transferi) elektromanyetik ışınları olarak kabul edilen ve kütlesiz enerji parçacıklarından oluşmuş seyrek iyonlaştırıcı radyasyonlardır.

Partikül Radyasyonları (Elektron, Proton ve Nötron Işınları)

Elektron ışınları, rutin radyasyon tedavisinde yaygın olarak kullanılır ve dokulara derinlemesine nüfuz etmedikleri için vücut yüzeyine yakın tümörleri tedavi etmek için özellikle etkilidir. Dış ışın radyasyon tedavisi daha ağır parçacıklarla gerçekleştirilir. Bunlar nötron jeneratörleri ve siklotronlar tarafından üretilen nötronları; siklotronlar ve senkrotronlar tarafından üretilen protonları ve senkrosiklotronlar ve senkrotronlar tarafından üretilen ağır iyonları (helyum, karbon, azot, argon, neon) içerir.

Proton ışınları, kanseri tedavi etmek için kullanılan daha yeni bir partikül ışın radyasyonudur. Bu ışınlar, Bragg'in zirvesi olarak bilinen, dokulardaki benzersiz emilim profili nedeniyle daha iyi doz dağılımı sunarak ve yol boyunca sağlıklı dokulara verilen zararı en aza indirerek tümör bölgesinde maksimum yıkıcı enerjinin birikmesini sağlarlar. Bunlar, pediatrik tümörlerde ve omurilik ve kafatası tabanı tümörleri gibi kritik yapıların yakınında bulunan, maksimal normal doku korumasının çok önemli olduğu erişkin tümörlerde özel klinik kullanıma sahiptir (Laramore, 2009).

Nötron ışınları, proton ışınlarının bir hedefe saptırıldıktan sonra nötron jeneratörleri içinde üretilmesiyle oluşur. LET değerleri yüksektir ve fotonlardan daha fazla DNA hasarına neden olabilirler. Fakat, nötron partiküllerinin üretilmesindeki zorluklar ve bu tür arıtma tesislerinin inşası bu ışınların üretimini sınırlandırmaktadır.

Partikül radyasyonu, biyolojik etkinliği daha yüksek fotonlardan daha yüksek LET değerine sahiptir. Bu nedenle, bu radyasyon türleri sarkomlar, renal hücreli karsinomlar, melanomlar ve glioblastomlar gibi radyasyona dirençli kanserler için daha etkilidir (Schulz-Ertner & Tsujii, 2007). Bununla birlikte, partikül radyasyon tedavisi üretimi için gereken ekipman, foton radyasyonlarından çok daha pahalıdır. Siklotronların azalan maliyetlerinin, gelecekte proton ışını tedavisinin daha geniş kullanımı ile sonuçlanması öngörülmektedir (Ma et al., 2006).

İyonlaştırıcı Radyasyonun Biyolojik Etkileri

Radyasyonun biyolojik etkinliği, hedeflenen hücrelerin veya dokuların LET değerine, toplam doza, fraksiyonlama oranına ve radyasyon duyarlılığına bağlıdır (Baskar, 2010; Hall, 2007). Düşük LET radyasyonu nispeten az miktarda enerji biriktirirken, yüksek LET radyasyonu hedeflenen alanlarda daha fazla enerji yayar. Radyasyon tümör hücresini öldürmeye yönelik olsa da tümörü çevreleyen kanserli olmayan normal dokuların radyasyondan zarar görmesi kaçınılmazdır. Bununla birlikte, radyasyon tedavisinin amacı normal sağlıklı hücrelere maruziyeti en aza indirirken tümör hücrelerine dozu maksimize etmektir (Emami et al., 1991).

Radyasyon tedavisi, kanser hücrelerini öldürmek için çeşitli şekillerde çalışır ve hücredeki radyasyonun biyolojik hedefi DNA'dır:

1. Radyasyonun doğrudan etkileri: Radyasyon doğrudan hücresel DNA ile etkileşime girerek hasara neden olabilir (Şekil 1A).

2. Radyasyonun dolaylı etkileri: Serbest radikallerin neden olduğu dolaylı DNA hasarı, hücrelerin su bileşeninin iyonlaştırılması veya uyarılmasından kaynaklanır (Şekil 1B).

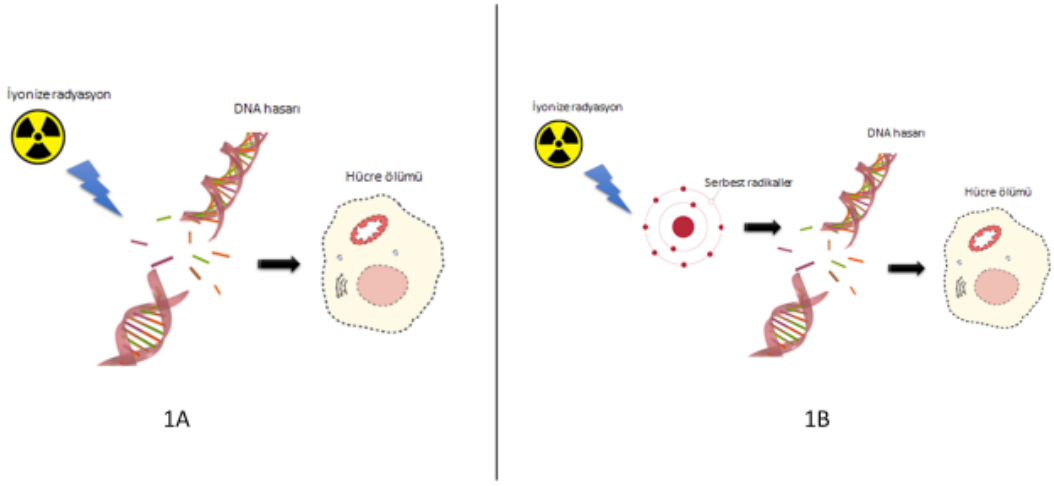
Radyasyon tedavisi kanser hücrelerini çeşitli mekanizmalarla öldürebilir. Radyasyon tedavisinin temel amacı, kanser hücrelerinin çoğalma potansiyellerini engellemek ve sonunda kanser hücrelerini öldürmektir. DNA'sı onarımın ötesinde hasar gören kanser hücreleri bölünmeyi bırakarak ölür. Çift zincirli DNA kopmaları, tek zincirli DNA kopmalarına göre onarılamaz özelliktedir.

Hücre Ölümünün Çeşitleri ve Özellikleri

Radyasyon tedavisi, çoğu antikanser tedavi gibi, farklı hücre ölümü türlerini indükleyerek terapötik etkiyi sağlar (Verheij, 2008). Radyasyon tedavisi kanser hücrelerini hemen öldürmez. Radyasyon tedavisi bittikten sonra kanser hücrelerinin ölmeye başlaması saatler, günler veya haftalar sonra başlar ve haftalar ya da aylarca da devam eder. Hücre ölümünün çeşitleri Şekil 2'de sunulmuştur.



Şekil 2. Hücre ölümü çeşitleri



Şekil 1. Radyasyonun Doğrudan (1A) ve Dolaylı (1B) Olarak Hücresel DNA Üzerine Etkisi

Apoptoz

Programlı hücre ölümü veya apoptoz, özellikle kanser tedavisinde ve radyasyon tedavisinde yer alan önemli bir hücre ölümü mekanizmasıdır (Verheij & Bartelink, 2000). Apoptoz, hücre büzülmesi ve apoptotik cisimlerin oluşumu ile karakterizedir. Mitokondri, apoptotik hücre ölümünde önemli bir rol oynar (Fogg et al., 2011). Hücre zarının parçalanması, genellikle nükleer marjlı ve DNA parçalanması ile yoğunlaştırılmış kromatin ile görülür. Genel olarak, apoptotik hücrelerin hücresel zarı bozulmadan kalır. Kanser hücrelerinde apoptozun indüksiyonu radyasyon tedavisinin etkinliğinde önemli bir rol oynar (Verheij, 2008).

Mitotik Hücre Ölümü veya Mitotik Felaket

Bu tip hücre ölümü, anormal mitoz (hücre bölünmesi) sırasında veya sonrasında ortaya çıkar ve anormal nükleer morfoloji, çoklu çekirdekler ile dev hücrelerin oluşumuna yol açan kromozomların yanlış ayrılmasından kaynaklanır. Hücreler genellikle bir veya daha fazla mikronükleusa sahiptir (Vakifahmetoglu et al., 2008). Işınlamadan sonra, katı tümör hücresi ölümünün çoğu ağırlıklı olarak anormal mitotik olayların bir sonucu olarak ortaya çıkar (Cohen-Jonathan et al., 1999).

Yukarıdaki iki tip hücre ölümü, iyonlaştırıcı radyasyona bağlı hücre ölümünün büyük bir kısmını oluşturmaktadır.

Nekroz

Hücreler, hücre zarının bozulması ile gözle görülür bir şekilde şişerler. Hücreler vakuolizasyon, yoğunlaşmamış kromatin ve parçalanmış hücresel organellerin yanı sıra mitokondriyal şişlik ve plazma membran rüptürünü takiben hücre içi içerik kaybıyla atipik bir nükleer şekle sahip olur (Stenson & Ciorba, 2018). Radyasyon uygulamasından sonra hücrelerde nekroz daha az görülür, ancak kanser hücre çizgilerinde veya dokularında görülebilir.

Hücre Yaşlanması

Hücre yaşlanması, hücre proliferatif kapasitesinin kalıcı kaybı durumunu ifade eder. Yaşlanan hücreler canlıdır, ancak bölünmezler. DNA sentezlemeyi durdurur, artan bir granülite ile genişler ve düzleşirler. Radyasyon tedavisinin neden olduğu DNA hasarı şeklinde geniş hücresel stresi takiben yaşlanmanın kanser hücrelerinde meydana geldiği bildirilmiştir (Roninson, 2003; Schmitt, 2007) ve daha sonra esas olarak bu hücreler apoptoz süreci ile ölmektedir.

Otofaji

Otofaji, radyasyona tepki olarak kanser hücresinin bir ölüm şeklidir. Otofaji, hücrenin kendisini otofajik / lizozomal bölmeyi içeren sindirdiği genetik olarak düzenlenmiş bir programlanmış hücre ölüm şeklidir. Yoğunlaşmış nükleer kromatin ve ribozomlar gibi or-

ganelleri sekestre eden sitoplazmada çift membranlı vakuollerin oluşumu ile karakterizedir (Fukumoto et al., 2011).

Radyasyona bağlı hücre ölümünün farklı tiplerinde çeşitli genlerin ve hücre içi yolakların yer aldığı bildirilmiştir. Apoptoz, ATM-p53-Bax-Sitokrom-c kaspaz yolağı (Schmitt, 2003) ile ilişkiliyken, mitotik felaket, p53-Kaspaz-Sitokrom-c kaskadı (Vakifahmetoglu et al., 2008) ile ilişkilidir. Nekrozda, TNF (alfa)-PARP-JNK-Kaspaz yolu (Brandsma et al., 2008) tutulmakta ve MYC-INK4A-ARF-p53-p21 yolu da hücre yaşlanmasına neden olmaktadır (Schmitt et al., 2002). Otofaji ile PI3K-Akt-mTOR kaskadının önemli olduğu düşünülmektedir (Kondo et al., 2005). Bu yolların çoğu radyasyona bağlı kanser hücresi ölümü için birbiriyle ilişkilidir. Bununla birlikte, radyasyondan kaynaklanan farklı kanser hücresi ölüm modundan sorumlu kesin mekanizma(lar) tam olarak aydınlatılamamıştır.

Son yıllarda, radyasyona maruz kaldıktan sonra hücre ölümünü belirlemede yer alan çeşitli moleküler yolaklar hakkındaki bilgiler hızla artmaktadır. Araştırma alanları arasında, DNA hasar yanıtı ve onarımı mekanizmalarının incelenmesi, tek veya fraksiyonlu radyasyona yanıt olarak hücre içi sinyalizasyon ve radyasyonun tümör mikroçevresi üzerindeki etkileri yer almaktadır. Genom dizilemesindeki ilerlemelerle birlikte tümör profili oluşturma, risk sınıflandırması yaklaşımları (Starmans et al., 2009) ile de daha bireyselleştirilmiş tedavi yaklaşımı sağlanırken, önümüzdeki on yıl içinde radyasyon tedavisinin daha doğru moleküler hedefli antikanser yaklaşımının uygulanabileceği öngörülmektedir (Begg et al., 2011).

ONKOLİTİK VİRÜSLER İLE TEDAVİ

Virüslerin onkolitik ajanlar olarak kullanımı tarihsel bir kavram olmasına rağmen, tümör hücrelerini seçici olarak hedeflemek için genetik olarak modifiye edilmiş virüslerin kullanımı nispeten yeni bir kavramdır.

Onkolitik virüsler, insan toksisitesinin az olduğu, geniş bir antikanser aktivitesi spektrumuna sahip yeni bir biyolojik terapötik gruptur. Tümörlerin kendine has fenotipi, birkaç gende meydana gelen çoklu mutasyonların doruk noktası olması nedeniyle, sonunda anormal sinyal yolaklarına yol açtığından, doğal veya işlenmiş onkolitik virüsler, çoğalmaları için bu hücresel sapma sinyallerinden faydalanarak spesifik olarak tümör hücrelerini hedef alırlar (Kelly & Russell, 2007).

Onkolitik virüslerin geliştirilmesiyle kanser tedavisinde yeni bir alan yaratılmıştır. Bu virüsler, kanser hücrelerinde seçici olarak enfekte olacak ve / veya çoğalacak şekilde tasarlanabilmektedir. Tedavide yaygın olarak kullanılan onkolitik virüsler, herpes simpleks virüsü (HSV), adenovirüs (AdV) ve reovirüsün mutant suşlarına dayanır. Hepsi tümörlerde seçici replikasyonun tanımlayıcı ortak yönleriyle birlikte tümör hücresi lizisini ve tümör içindeki dispersiyonu paylaşmaktadır (Kelly & Russell, 2007; Wollmann et al., 2012).

Onkolojide, virüslerin terapötik ajanlar olarak kullanımı iki şekilde olmaktadır: gen terapisi ve onkolitik viroterapi.

Gen Terapisi

Gen terapisinde ana odak noktası terapötik genlerdir ve virüs, bir gen sağlama aracı olarak önemli bir rol oynamaktadır. Gen terapisinde tipik olarak, replikasyon yetersizliği yüksek oranda zayıflatılmış viral vektörler kullanılmaktadır. Bu tedavinin başlıca özelliği, tümör seçici koşullu viral replikasyondur, bu durum da litik tümör hücresi yıkımına ve binlerce virüsün salınmasına neden olmaktadır. Yeni salınan virüsler, komşu tümör hücrelerini enfekte etmeye devam etmekte ve teorik olarak tümör boyunca bir virüs saldırı dalgasına neden olmaktadır. Giriş dozunun böyle bir şekilde çoğalması, başka herhangi bir tedavi biçiminde mevcut olmayan ve terapötik etkinin yerel olarak kendi kendine çoğalmasına yol açan benzersiz bir onkolitik viroterapi özelliğidir (Wollmann et al., 2012).

Viroterapi

Onkolitik amaçlar için kullanılan ilk laboratuvar

mühendisliği virüsü, 1991'de Martuza ve ark. tarafından (Martuza et al., 1991) rapor edilen HSV mutantıdır ve bunu 1996'da tasarlanmış bir onkolitik AdV mutantı izlemektedir (Bischoff et al., 1996). Son yirmi yıl boyunca, çoğu kanser türü viroterapi ile deneysel olarak hedeflenmiştir ve böylelikle potansiyel onkolitik viral ajanların listesi 20'den fazla virüse çıkmıştır.

Virüslerin sınıflandırılması, viral ailelere, viral genomların ve yapıların özelliklerine dayanmaktadır. Viroterapide, onkolitik bir virüsün insanlarda patojenitesine göre yapılan bir sınıflandırmada genellikle virüsler üç gruptan birisi içerisinde yer almaktadır:

1) İnsan patojeni
2) İnsan zayıflatılmış aşısı
3) İnsan dışı patojen

Genel olarak, onkolitik virüs tedavisi için uygun bir insan patojen virüsünün oluşturulması, viral patojenite faktörlerinin hedeflenmiş değişikliklerini gerektirmektedir. Genetiği değiştirilmiş bu değişiklikler, normal hücrelerde zayıflatılmış enfeksiyona yol açan ve onları seçici olarak devre dışı bırakan mutasyonlara sahip bir virüs ile sonuçlanmaktadır. İnsan aşı suşlarına dayanan virüsler ise, tümör hedeflemesini arttırmak için uygulamadan önce genetik mühendisliğini gerektirmektedir. Son olarak, insan olmayan bir patojen geçmişine sahip onkolitik virüs adayları, insan hastalığı ile ilişkili olmadıkları için insanlardaki enfeksiyonda üretken değillerdir. Tümör hücrelerinde, enfeksiyöz olmayan virüslerin bu replikasyonu arttırılmış geçirgenlik ile sonuçlanmaktadır.

Viroterapi tanımlayıcı kavramı, tümör hücrelerinin lizizi ile koşullu ve tümörle sınırlı bir viral replikasyondur. Bu seçici replikasyon, viral çoğaltma için tümör hücresi sapmalarından yararlanan doğal veya tasarlanmış mekanizmalara dayanmaktadır:

Hücre Yüzeyi Mekanizmaları

Viral reseptör aracılı bağlanma, virüs-hücre etkileşiminin ilk adımıdır ve tümör seçici mekanizmalar için ana hedeftir. Bazı virüslerin hem doğal afiniteleri hem de virüs tropizmi sayesinde, tümörlerde aşırı eksprese edilen reseptörlere hedeflendirilmeleri sağlanmaktadır (Fueyo et al., 2003; Nakamura et al., 2005; Pasqualini et al., 1997).

Sitozolik Mekanizmalar

Sitoplazma, güçlü antiviral efektör elementleri içermektedir. Sitozolik bir yaşam döngüsüne sahip RNA virüslerinde, yaygın olarak görülen çift zincirli RNA oluşumu, hücresel antiviral savunma mekanizmalarının ve protein kinaz R (PKR) ve interferon yollarının aktivasyonuna neden olmaktadır. Aktive edilmiş PKR, protein sentezini inhibe ederek apoptozu teşvik etmektedir (Stojdl et al., 2000; Wollmann et al., 2007).

Nükleer Mekanizmalar

Otonom parvovirüsler, başarılı bir replikasyon için konakçı hücrenin hücre bölünmesindeki S-fazına ihtiyaç duyarken (Rommelaere et al., 2010), timidin kinaz (TK) ve ribonükleotit redüktaz (RR) ile susturulan HSV mutantlar, hücresel DNA sentezi aktif olmadıkça yeni nükleotitleri sentezleyememektedirler (Parker et al., 2009).

AdV E1A ve E1B genleri, sırasıyla Rb ve p53 bağlanması yoluyla hücre döngüsünü aktive etmektedir. Arızalı p53 veya Rb fonksiyonlu tümörlerde, AdV E1 genlerinin dağıtılması, E1A veya E1B genleri olmayan mutant AdV'lerin seçici olarak çoğalmasını sağlamaktadır (Jiang et al., 2009).

Hücre Dışı Mekanizmalar

HSV ve reovirüs gibi çeşitli virüslerin uygulanmasıyla, sinerjik olarak hareket eden ve tümörün azalmasına katkıda bulunan, doğuştan gelen ve uyarlanabilir bağışıklık sisteminin tümör hedefleyici efektörleri aktive edilebilmektedir (De Silva et al., 2010; Melcher et al., 2011).

Onkolitik viroterapinin başarısı birçok kritik faktöre bağlı olmakla birlikte, optimal bir onkolitik virüsün formülasyonu aşağıdaki özellikleri içerir:

- Tümör seçiciliğinin belirgin ve iyi tanımlanmış mekanizması
- Düşük tümör dışı toksisite ile güçlü sitolitik potansiyel
- Sistemik uygulama potansiyeli

- Hızlı intratümöral yayılım ile hızlı replikasyon döngüsü
- Genetik mühendisliğine erişilebilirlik
- Kolay üretim ve yüksek titreli stok üretim
- İstenmeyen viral yayılımı kontrol etmek için antiviral ajanların mevcudiyeti
- Genetik stabilite
- Önceden mevcut bağışıklığın olmaması
- Antitümör bağışıklığın uyarılması

Onkolitik viral araştırmanın ana hedefleri, viral genomu modifiye ederek tümör seçiciliğini arttırmak ve onkolitik virüs tedavisini standart radyasyon ve kemoterapi tedavisi ile birleştirmektir (Jorgensen et al., 2001).

İYONLAŞTIRICI RADYASYON VE ONKOLİTİK VİRÜSLER İLE KOMBİNE TEDAVİ

Yapılan preklinik çalışmalar sonucunda, kanser hücreleri üzerinde iyonlaştırıcı radyasyon ve onkolitik virüslerle yapılan kombine tedavinin, tedavi etkinliğini arttırdığı görülmüştür. HSV bazlı onkolitik kombine tedavi, malign ksenograftlar için umut verici terapötik bir yaklaşımdır. Aşağıda bu konuda yapılan bazı çalışmalar derlenmiştir.

Advani ve ark., farelerdeki insan U-87 malign glioma ksenograftlarını, gama 34.5 geni içermeyen bir HSV-1 mutantı olan R3616 ile aşılayarak, iyonlaştırıcı radyasyona maruz bırakmışlardır (Advani et al., 1998). Uyguladıkları bu ikili tedavi, tümörlerin hacminde veya toplam regresyonunda, tek başına radyasyon veya aşı uygulamasına göre daha fazla azalmaya neden olmuştur. Araştırmacılar, kombine tedavinin önemli ölçüde artmış onkolitik etkilerinin, ışınlanmış tümör hücrelerinde, sadece virüs alan tümörlere kıyasla 2-5 kat arttırılmış replikasyon ile ilişkili olduğunu vurgulamışlardır (Advani et al., 1998).

Chung ve ark., onkolojik ajan olarak HSV-1 ve HSV-2 rekombinant virüsü olan R7020 ile iyonlaştırıcı radyasyon kombine tedavisini, Hep3B ve Huh7 olmak üzere iki hepatom hücre dizisi üzerinde çalışmışlardır (Chung et al., 2002). Sadece R7020 ile yapılan çalışmalarda, R7020'nin Hep3B hücrelerinde Huh7 hücrelerine göre daha yüksek miktarda replikasyona uğradığı ve Hep3B hücrelerinde Huh7 hücrelerine göre tümör ksenograft regresyonuna aracılık etmede daha etkili olduğu sonuçlarına ulaşılmıştır. İyonlaştırıcı radyasyonun bu tedavi protokolüne eklenmesiyle tümör ksenograftlarında farklı sonuçlar elde edilmiştir. İyonlaştırıcı radyasyon, R7020'nin Hep3B ksenograftlarındaki replikasyonunu arttırmış ve iyonlaştırıcı radyasyon ve virüs kombinasyonu, ksenograft hacminin R7020 veya tek başına radyasyondan daha fazla gerilemesine neden olmuştur. Fakat, iyonlaştırıcı radyasyonun, R7020'nin Huh7 ksenograftlarındaki replikasyonu üzerinde bir etkisi olmamıştır. Araştırmacılar bu sonuçlara dayanarak, iyonlaştırıcı radyasyon ile kombine halde R7020 gibi uygun bir HSV ajanının, bazı tümör ksenograftlarının ortadan kaldırılmasında oldukça etkili olabileceğini sonucuna varmışlardır (Chung et al., 2002).

Blank ve ark., ICP 34.5 proteininde mutasyonlar içeren HSV-1 rekombinat virüsleri olan 4009, 7020, 3616 ve G207 ile iyonlaştırıcı radyasyon kombine tedavisinin insan serviks kanseri üzerindeki etkilerini değerlendirmişlerdir (Blank et al., 2002). İlk olarak HSV-1 mutantları ile yaptıkları çalışmalarda, bu mutantların in vitro insan serviks kanseri hücre hatlarında doza bağımlı şekilde anlamlı lizise neden oldukları görülmüştür. *İn vivo* ciddi kombine immün yetmezlikli (SCID) farelerde yapılan deneylerde ise, yerleşik subkutanöz C33a tümörlerinin G207 intratümöral tedavisi, tümör yükünü %50 oranında azaltmıştır. Düşük dozda radyasyonun (1,5 veya 3 Gy) ve replikasyon seçici HSV mutant enjeksiyonunun kombinasyon tedavisi, in vitro serviks kanseri hücrelerine karşı artmış antitümöral etki göstermiştir. Düşük doz radyasyon ile birleştirilen G207'nin *in vivo* etkisi, atimik farelerde Me180 ksenograftlarında incelenmiş ve yerleşik Me180 tümör nodüllerinin 3 Gy ile tedavisi ve ardından intratümöral G207 uygulaması, tümörün %42 oranında tamamen ortadan kaldırılmasıyla sonuçlanmıştır. Sonuç olarak, tek ve çoklu intratümöral G207 enjeksiyonları, serviks kanserinin ksenojenik modellerinde tümör yükünü önemli ölçüde azaltmış

ve düşük doz radyasyonun eklenmesi bu etkiyi daha da güçlendirmiştir. Araştırmacılar, replikasyon seçici HSV-1 mutantlarının serviks kanseri tedavisi için güçlü onkolitik ajanlar olabileceğini vurgulamışlardır (Blank et al., 2002).

Spear ve ark., terapötik radyasyon uygulamasının in vitro malign hücre hatları üzerinde viral RR -defektif HSV-1 virüsünün (hrR3) replikasyonunu ve toksisitesini artırmak amacıyla, PANC-1 pankreas karsinomu, U-87 glioblastoma ve CaSki servikal karsinom hücre hatları üzerinde değişken dozlarda iyonlaştırıcı radyasyon uygulamasının ardından, hücre hatlarını hrR3 veya KOS (vahşi tip HSV-1 suşu) ile enfekte etmişlerdir (Spear et al., 2000). Hücrelerin sağkalımı 3- (4,5-dimetiltiyazol-2-il) -2,5-difenil tetrazolium bromür deneyi ve tripan mavisi dışlama sitometrisi kullanılarak ölçülmüştür. Tedaviden 72 saat sonra, 2 Gy'lik dozda radyasyon ile ışınlama sonucunda, enfekte olmamış hücrelerde hayatta kalma oranının %100'den %76'ya, KOS ile enfekte olmuş hücrelerde %61'den %48'e ve hrR3 ile enfekte olmuş PANC-1 pankreas karsinomu hücrelerinde %39'dan %27'ye düştüğü görülmüştür. Benzer sonuçlar U-87 glioblastoma ve CaSki servikal karsinom hücrelerinden de alınmıştır. hrR3 veya KOS ile enfekte PANC-1 hücrelerinin mutlak hayatta kalması, tedaviden sonraki zamanın (24-72 saat) ve enfeksiyonun çokluğunun (MOI) (0.05-5.0) bir fonksiyonu olarak azalmıştır. Bu sonuçlara dayanarak araştırmacılar, iyonlaştırıcı radyasyon ve hrR3 veya KOS gibi HSV-1 virüsleri arasında tamamlayıcı toksisite olduğunu vurgulamışlardır (Spear et al., 2000).

Fonksiyonel p53 geni içermeyen ve replikasyona uygun E1B ile zayıflatılmış AdV'nin (ONYX-015) tümör hücrelerini etkili ve seçici bir şekilde yok edebildiği bilgisinden yararlanan Freytag ve ark., bu yaklaşımın hem etkinliğini hem de güvenliğini arttırmak amacıyla, sitozin deaminaz (CD) / HSV-1 timidin kinaz (TK) füzyon geni içeren benzer bir AdV (FGR) oluşturarak çift intihar gen terapisi uygulamışlardır (Freytag et al., 1998). FGR virüsü, *in vitro* ONYX-015 virüsü ile aynı tümör hücresi özgüllüğünü ve replikasyon kinetiğini sergilemiştir. Aynı zamanda, hem CD / 5-FC hem de HSV-1 TK / GCV intihar gen sistemleri, virüsün tümör hücresine özgü sitopatik etkisini arttırmış ve tümör hücrelerini radyasyona karşı belirgin bir şekilde duyarlı hale getirmiştir. Buna karşılık ne FGR virüsü ne de intihar gen sistemleri normal insan hücreleri üzerinde önemli bir toksisite göstermemiştir. Her iki intihar gen sistemi, viral replikasyonu etkili bir şekilde bastırmış ve böylece viral yayılımı durdurmak için bir güvenlik mekanizması sağlamıştır. Bu sonuçlara dayanan araştırmacılar, viral terapi, intihar gen terapisi ve radyoterapinin üç yönlü yaklaşımının, tümör hücrelerini *in vivo* seçici olarak yok etmenin güvenli ve etkili bir yolu temsil ettiğini öne sürmüşlerdir (Freytag et al., 1998).

Rodriguez ve ark., prostat hücresine özgü bir AdV varyantı olan CV706'yı $5x10^8$ partikül/mm^3 olacak şekilde tümöre uygulayarak çıplak fare ksenograftlarında 6 hafta içinde yerleşik tümörleri ortadan kaldırdığını göstermişlerdir (Rodriguez et al., 1997). Bu bilgiye dayanan Chen ve ark., yaptıkları çalışmalarla CV706 aracılı sitotoksisitenin aynı zamanda radyasyonla da sinerjik etkili olduğunu göstermişlerdir (Chen et al., 2001). *In vitro* olarak, CV706'ya radyasyon eklenmesi, insan prostat kanseri hücre hattı LNCaP'ye karşı sitotoksisitede sinerjik bir artışa ve prostat kanseri hücreleri için CV706 tabanlı sitopatojenitede özgüllükte bir azalma olmadan virüs patlama boyutunda önemli bir artışa neden olmuştur. *İn vivo* olarak, insan prostat kanserinin prostata özgü antijeni (+) LNCaP ksenograftları CV706 ($1x10^7$ partikül/tümör mm^3), 10 Gy dozda lokal tümör radyasyonu veya her ikisi ile tedavi edilmiştir. CV706 veya radyasyon ile tedavi edilen grubun tümör hacimleri, tedaviden 6 hafta sonra başlangıç değerinin %97'si ve %120'si olarak bulunmuştur. Bununla birlikte, aynı CV706 dozu 24 saat sonra aynı radyasyon dozu ile takip edildiğinde, CV706 ve radyasyonun tahmin edilen bir ilave etkisinden, tümör hacmi bu zaman noktasında taban çizgisinin %4'üne düşmüş ve 6,7 kat daha büyük bir antitümör aktivitesi üretmiştir. Tümörlerin histolojik analizleri, sadece CV706 veya sadece radyasyonla

karşılaştırıldığında, iki ajanla kombinasyon tedavisinin nekrozu %180 ve %690, apoptozu %330 ve %880 artırdığı ve kan damarı sayısının sırasıyla %1290 ve %600 azaldığı bulunmuştur. **Önemli olarak, kombine tedaviden sonra sadece CV706 veya sadece radyasyon ile karşılaştırıldığında toksisitede bir artış gözlenmemiştir.** Bu veriler CV706'nın prostat tümörlerinin *in vivo* radyo tepkisini arttırdığını ve lokalize prostat kanseri için radyasyonlu neoadjuvan bir ajan olarak CV706'nın klinik gelişimini desteklediğini göstermektedir (Chen et al., 2001).

Prostat spesifik bir onkolitik AdV olan CG7870, prostat kanserinin tedavisi için faz 1/2 klinik çalışmalarında halen değerlendirilmektedir. Dilley ve ark., etkin dozu azaltmak ve CG7870'in terapötik etkinliğini daha da arttırmak için yaptıkları bir çalışmada viroterapi ile radyasyon tedavisi kombinasyonunu araştırmışlardır (Dilley et al., 2005a). Çıplak farelere, CG7870 (1 x 107 partikül / tümör mm3) ve 10 Gy lokal radyasyon veya her ikisini uygulanarak LNCaP ksenograftlarında antitümöral etkinliği değerlendirmişlerdir. İn vitro olarak, ikili ajan tedavisi, suboptimal radyasyon ve virüs dozlarında sinerjistik olarak güçlendirilmiş potens ile sonuçlanmıştır. Işınlanmış hücrelerdeki virüs verimi, vektörün hedef hücre tipleri için özgüllüğünü koruyarak, ışınlanmamış hücrelerdeki verime göre artmıştır. *İn vivo* olarak, CG7870 tedavisi tek başına tümör büyümesini baskılamış ve tümör progresyon süresini uzatmıştır. Sadece CG7870 veya radyasyon ile tedavi edilen hücre grupların ortalama tümör hacmi, tedaviden 39 gün sonra, sırasıyla taban çizgisinin %121'i ve %126'sı olarak bulunmuştur. Kombinasyon tedavi uygulanan grubunun ortalama tümör hacmi, tedaviden 39 gün sonra başlangıç değerinin %34'ü olarak bulunmuştur. Hiçbir tedavi grubunda anlamlı bir vücut ağırlığı kaybı gözlenmemiştir. Tek başına her iki ajanla tedavi edilen gruba kıyasla kombinasyon tedavi uygulanan grupta, prostat spesifik antijenin (PSA) serum seviyesinde önemli bir düşüş olduğu saptanmıştır. Sadece CG7870 veya sadece radyasyon ile tedavi edilen farelerde, tedavinin 46. gününde serum PSA seviyeleri sırasıyla taban çizgisinin %26'sı ve %383'üne değişmiştir. Buna karşılık, CG7870 ve radyasyon ile tedavi edilen farelerde PSA seviyeleri, tedavinin 46. gününde taban çizgisinin %11'ine düşmüştür. Kombinasyon tedavi uygulanan gruptan alınan tümör kesitlerinin histolojik analizi sonucu, artmış nekroz ve daha fazla apoptotik hücre bulunduğu görülmüştür. CG7870'in radyasyon tedavisi ile kombinasyonu, her iki ajanın tek başına uygulanmasına kıyasla antitümöral etkinliğini önemli ölçüde arttırdığı bulunmuştur. Araştırmacılar, CG7870'in radyasyon ile kombinasyon halinde düşük dozlarda antitümöral etkinliği artırdığını ve ek yan etkisi olmadığını sonucuna ulaşmışlardır (Dilley et al., 2005b).

SONUÇ

İyonlaştırıcı radyasyon tedavisi, kanser hastalarının yaşam kalitelerini iyileştirmeye devam eden yeni tedavi yöntemleri ve teknikleri tasarlamaya yönelik çabaları ile kanser tedavisi için önemli bir yöntem olmaya devam etmektedir. Kanser tedavisinin iyileştirilmiş klinik sonuçlarıyla, radyasyon tedavisiyle ilişkili toksisitelerin en aza indirilmesi de bu kapsamda bir öncelik haline gelmiştir. Son 20 yılda geliştirilen, viroterapi olarak adlandırılan onkolitik virüslerin kanser tedavisinde kullanımının virüslere duyarlı tümörlerde büyük umut vaat ettiği görülmüştür. Onkolitik virüs tedavisinin standart radyasyon tedavisi ile birleştirilmesiyle oluşan kombine tedavinin, *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda artmış antitümöral etki sağladığının görülmesiyle bu yeni alanda yapılan çalışmalar hızla artmıştır. Önümüzdeki yıllarda kanser tedavisinde kullanılan yöntemler arasında, bu kombine tedavinin de yer alacağını umut etmekteyiz.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar finansal veya başka bir yolla çıkar çatışmaları olmadığını beyan ederler.

YAZAR KATKI ORANI

Hipotezin geliştirilmesi (İlem Ödemir D., Ekinci M), çalışma metninin hazırlanması (Ekinci M.), metnin değerlendirilmesi (İlem Ödemir D.), literatür taraması (Ekinci M.)

KAYNAKLAR

Advani, S. J., Sibley, G. S., Song, P. Y., Hallahan, D. E., Kataoka, Y., Roizman, B., & Weichselbaum, R. R. (1998). Enhancement of replication of genetically engineered herpes simplex viruses by ionizing radiation: A new paradigm for destruction of therapeutically intractable tumors. *Gene Therapy*, *5*(2), 160–165. https://doi.org/10.1038/sj.gt.3300546

Barnett, G. C., West, C. M. L., Dunning, A. M., Elliott, R. M., Coles, C. E., Pharoah, P. D. P., & Burnet, N. G. (2009). Normal tissue reactions to radiotherapy: Towards tailoring treatment dose by genotype. *Nature Reviews Cancer*, *9*(2), 134–142. https://doi.org/10.1038/nrc2587

Baskar, R. (2010). Emerging role of radiation induced bystander effects: Cell communications and carcinogenesis. *Genome Integrity*, *1*(13), 1–8. https://doi.org/10.1186/2041-9414-1-13

Baskar, R., Lee, K. A., Yeo, R., & Yeoh, K. W. (2012). Cancer and radiation therapy: Current advances and future directions. *International Journal of Medical Sciences*, *9*(3), 193–199. https://doi.org/10.7150/ijms.3635

Begg, A. C., Stewart, F. A., & Vens, C. (2011). Strategies to improve radiotherapy with targeted drugs. *Nature Reviews Cancer*, *11*(4), 239–253. https://doi.org/10.1038/nrc3007

Bischoff, J. R., Kirn, D. H., Williams, A., Heise, C., Horn, S., Muna, M., Ng, L., Nye, J. A., Sampson-Johannes, A., Fattaey, A., & McCormick, F. (1996). An adenovirus mutant that replicates selectively in p53-deficient human tumor cells. *Science*, *274*(5286), 373–376. https://doi.org/10.1126/science.274.5286.373

Blank, S. V., Rubin, S. C., Coukos, G., Amin, K. M., Albelda, S. M., & Molnar-Kimber, K. L. (2002). Replication-selective herpes simplex virus type 1 mutant therapy of cervical cancer is enhanced by low-dose radiation. *Human Gene Therapy*, *13*(5), 627–639. https://doi.org/10.1089/10430340252837224

Brandsma, D., Stalpers, L., Taal, W., Sminia, P., & van den Bent, M. J. (2008). Clinical features, mechanisms, and management of pseudoprogression in malignant gliomas. *The Lancet Oncology*, *9*(5), 453–461. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(08)70125-6

Chen, Y., DeWeese, T., Dilley, J., Zhang, Y., Li, Y., Ramesh, N., Lee, J., Pennathur-Das, R., Radzyminski, J., Wypych, J., Brignetti, D., Scott, S., Stephens, J., Karpf, D. B., Henderson, D. R., & Yu, D. C. (2001). CV706, a prostate cancer-specific adenovirus variant, in combination with radiotherapy produces synergistic antitumor efficacy without increasing toxicity. *Cancer Research*, *61*(14), 5453–5460.

Chung, S.-M., Advani, S., Bradley, J., Kataoka, Y., Vashistha, K., Yan, S., Markert, J., Gillespie, G., Whitley, R., Roizman, B., & Weichselbaum, R. (2002). The use of a genetically engineered herpes simplex virus (R7020) with ionizing radiation for experimental hepatoma. *Gene Therapy*, *9*(1), 75–80. https://doi.org/10.1038/sj.gt.3301620

Cohen-Jonathan, E., Bernhard, E. J., & McKenna, W. G. (1999). How does radiation kill cells? *Current Opinion in Chemical Biology*, *3*(1), 77–83. https://doi.org/10.1016/S1367-5931(99)80014-3

De Silva, N., Atkins, H., Kirn, D. H., Bell, J. C., & Breitbach, C. J. (2010). Double trouble for tumours: Exploiting the tumour microenvironment to enhance anticancer effect of oncolytic viruses. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, *21*(2–3), 135–141. https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2010.02.007

Delaney, G., Jacob, S., Featherstone, C., & Barton, M. (2005). The role of radiotherapy in cancer treatment: Estimating optimal utilization from a review of evidence-based clinical guidelines. *Cancer*, *104*(6), 1129–1137. https://doi.org/10.1002/cncr.21324

Dilley, J., Reddy, S., Ko, D., Nguyen, N., Rojas, G., Working, P., & Yu, D. C. (2005a). Oncolytic adenovirus CG7870 in combination with radiation demonstrates synergistic enhancements of antitumor efficacy without loss of specificity. *Cancer Gene Therapy*. https://doi.org/10.1038/sj.cgt.7700835

Dilley, J., Reddy, S., Ko, D., Nguyen, N., Rojas, G., Working, P., & Yu, D. C. (2005b). Oncolytic adenovirus CG7870 in combination with radiation demonstrates synergistic enhancements of antitumor efficacy without loss of specificity. *Cancer Gene Therapy*, *12*(8), 715–722. https://doi.org/10.1038/sj.cgt.7700835

Ekinci, M. (2018). Teranostikler. *İlaç Haber Aktüel*, *50*, 28–29.

Emami, B., Lyman, J., Brown, A., Cola, L., Goitein, M., Munzenrider, J. E., Shank, B., Solin, L. J., & Wesson, M. (1991). Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, *21*(1), 109–122. https://doi.org/10.1016/0360-3016(91)90171-Y

Fogg, V. C., Lanning, N. J., & MacKeigan, J. P. (2011). Mitochondria in cancer: At the crossroads of life and death. *Chinese Journal of Cancer*, *30*(8), 526–539. https://doi.org/10.5732/cjc.011.10018

Freytag, S. O., Rogulski, K. R., Paielli, D. L., Gilbert, J. D., & Kim, J. H. O. (1998). A novel three-pronged approach to kill cancer cells selectively: Concomitant viral, double suicide gene, and radiotherapy. *Human Gene Therapy*, *9*(9), 1323–1333. https://doi.org/10.1089/hum.1998.9.9-1323

Fueyo, J., Alemany, R., Gomez-Manzano, C., Fuller, G. N., Khan, A., Conrad, C. A., Liu, T. J., Jiang, H., Lemoine, M. G., Suzuki, K., Sawaya, R., Curiel, D. T., Yung, W. K. A., & Lang, F. F. (2003). Preclinical characterization of the antiglioma activity of a tropism-enhanced adenovirus targeted to the retinoblastoma pathway. *Journal of the National Cancer Institute*, *95*(9), 652–660. https://doi.org/10.1093/jnci/95.9.652

Fukumoto, M., Kuwahara, Y., Oikawa, T., Ochiai, Y., Roudkenar, M. H., Fukamoto, M., Shimura, T., Ohtake, Y., Ohkubo, Y., Mori, S., & Uchiya, M. A. Y. (2011). Enhancement of autophagy is a potential modality for tumors refractory to radiotherapy. *Cell Death and Disease*, *2*, e177. https://doi.org/10.1038/cddis.2011.56

Hall, E. J. (2007). Cancer caused by x-rays-a random event? *Lancet Oncology*, *8*(5), 369–370. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(07)70113-4

Jackson, S. P., & Bartek, J. (2009). The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*, *461*, 1071–1078. https://doi.org/10.1038/nature08467

Jiang, H., Gomez-Manzano, C., Lang, F., Alemany, R., & Fueyo, J. (2009). Oncolytic Adenovirus: Preclinical and Clinical Studies in Patients with Human Malignant Gliomas. *Current Gene Therapy*, *9*(5), 422–427. https://doi.org/10.2174/156652309789753356

Jorgensen, T. J., Katz, S., Wittmack, E. K., Varghese, S., Todo, T., Rabkin, S. D., & Martuza, R. L. (2001). Ionizing radiation does not alter the antitumor activity of herpes simplex virus vector G207 in subcutaneous tumor models of human and murine prostate cancer. *Neoplasia*, *3*(5), 451–456. https://doi.org/10.1038/sj.neo.7900193

Kelly, E., & Russell, S. J. (2007). History of oncolytic viruses: Genesis to genetic engineering. *Molecular Therapy*, *15*(4), 651–659. https://doi.org/10.1038/sj.mt.6300108

Kondo, Y., Kanzawa, T., Sawaya, R., & Kondo, S. (2005). The role of autophagy in cancer development and response to therapy. *Nature Reviews Cancer*, *5*, 726–734. https://doi.org/10.1038/nrc1692

Laramore, G. E. (2009). Role of particle radiotherapy in the management of head and neck cancer. *Current Opinion in Oncology*, *21*(3), 224–231. https://doi.org/10.1097/CCO.0b013e328329b716

Ma, C. M. C., Maughan, R. L., & Orton, C. G. (2006). Within the next decade conventional cyclotrons for proton radiotherapy will become obsolete and replaced by far less expensive machines using compact laser systems for the acceleration of the protons. *Medical Physics*, *33*(3), 571–573. https://doi.org/10.1118/1.2150220

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. https://doi.org/10.1126/science.1851332

Melcher, A., Parato, K., Rooney, C. M., & Bell, J. C. (2011). Thunder and lightning: Immunotherapy and oncolytic viruses collide. *Molecular Therapy*, *19*(6), 1008–1016. https://doi.org/10.1038/mt.2011.65

Nakamura, T., Peng, K. W., Harvey, M., Greiner, S., Lorimer, I. A. J., James, C. D., & Russell, S. J. (2005). Rescue and propagation of fully retargeted oncolytic measles viruses. *Nature Biotechnology*, *23*(2), 209–214. https://doi.org/10.1038/nbt1060

Parker, J. N., Bauer, D. F., Cody, J. J., & Markert, J. M. (2009). Oncolytic Viral Therapy of Malignant Glioma. *Neurotherapeutics*, *6*(3), 558–569. https://doi.org/10.1016/j.nurt.2009.04.011

Pasqualini, R., Koivunen, E., & Ruoslahti, E. (1997). αv Integrins as Receptors for Tumor Targeting by Circulating Ligands. *Nature Biotechnology*, *15*(6), 542–546. https://doi.org/10.1038/nbt0697-542

Rodriguez, R., Schuur, E. R., Lim, H. Y., Henderson, G. A., Simons, J. W., & Henderson, D. R. (1997). Prostate attenuated replication competent adenovirus (ARCA) CN706: A selective cytotoxic for prostate-specific antigen-positive prostate cancer cells. *Cancer Research*, *57*(13), 2559–2563.

Rommelaere, J., Geletneky, K., Angelova, A. L., Daeffler, L., Dinsart, C., Kiprianova, I., Schlehofer, J. R., & Raykov, Z. (2010). Oncolytic parvoviruses as cancer therapeutics. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, *21*(2–3), 185–195. https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2010.02.011

Roninson, I. B. (2003). Tumor cell senescence in cancer treatment. *Cancer Research*, *63*(11), 2705–2715.

Schmitt, C. A. (2003). Senescence, apoptosis and therapy - Cutting the lifelines of cancer. *Nature Reviews Cancer*, *3*(4), 286–295. https://doi.org/10.1038/nrc1044

Schmitt, C. A. (2007). Cellular senescence and cancer treatment. *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer*, *1775*(1), 5–20. https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2006.08.005

Schmitt, C. A., Fridman, J. S., Yang, M., Lee, S., Baranov, E., Hoffman, R. M., & Lowe, S. W. (2002). A senescence program controlled by p53 and p16INK4a contributes to the outcome of cancer therapy. *Cell*, *109*(3), 335–346. https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00734-1

Schulz-Ertner, D., & Tsujii, H. (2007). Particle radiation therapy using proton and heavier ion beams. *Journal of Clinical Oncology*, *25*(8), 953–964. https://doi.org/10.1200/JCO.2006.09.7816

Spear, M. A., Sun, F., Eling, D. J., Gilpin, E., Kipps, T. J., Chiocca, E. A., & Bouvet, M. (2000). Cytotoxicity, apoptosis and viral replication in tumor cells treated with oncolytic ribonucleotide reductase-defective herpes simplex type 1 virus (hrR3) combined with ionizing radiation. *Cancer Gene Therapy*, *7*(7), 1051–1059. https://doi.org/10.1038/sj.cgt.7700208

Starmans, M. H. W., Zips, D., Wouters, B. G., Baumann, M., & Lambin, P. (2009). The use of a comprehensive tumour xenograft dataset to validate gene signatures relevant for radiation response. *Radiotherapy and Oncology*, *92*(3), 417–422. https://doi.org/10.1016/j.radonc.2009.06.016

Stenson, W. F., & Ciorba, M. A. (2018). Cell Death. In *Physiology of the Gastrointestinal Tract* (Sixth Edit, pp. 221–234). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809954-4.00009-8

Stojdl, D. F., Lichty, B., Knowles, S., Marius, R., Atkins, H., Sonenberg, N., & Bell, J. C. (2000). Exploiting tumor-specific defects in the interferon pathway with a previously unknown oncolytic virus. *Nature Medicine*, *6*(7), 821–825. https://doi.org/10.1038/77558

Touchefeu, Y., Vassaux, G., & Harrington, K. J. (2011). Oncolytic viruses in radiation oncology. In *Radiotherapy and Oncology*. https://doi.org/10.1016/j.radonc.2011.05.078

Vakifahmetoglu, H., Olsson, M., & Zhivotovsky, B. (2008). Death through a tragedy: Mitotic catastrophe. *Cell Death and Differentiation*, *15*(7), 1153–1162. https://doi.org/10.1038/cdd.2008.47

Verheij, M. (2008). Clinical biomarkers and imaging for radiotherapy-induced cell death. *Cancer and Metastasis Reviews*, *27*(3), 471–480. https://doi.org/10.1007/s10555-008-9131-1

Verheij, M., & Bartelink, H. (2000). Radiation-induced apoptosis. *Cell and Tissue Research*, *301*(1), 133–142. https://doi.org/10.1007/s004410000188

Wollmann, G., Ozduman, K., & Van Den Pol, A. N. (2012). Oncolytic virus therapy for glioblastoma multiforme: Concepts and candidates. *Cancer Journal*, *18*(1), 69–81. https://doi.org/10.1097/PPO.0b013e31824671c9

Wollmann, G., Robek, M. D., & Van Den Pol, A. N. (2007). Variable Deficiencies in the Interferon Response Enhance Susceptibility to Vesicular Stomatitis Virus Oncolytic Actions in Glioblastoma Cells but Not in Normal Human Glial Cells. *Journal of Virology*, *81*(3), 1479–1491. https://doi.org/10.1128/jvi.01861-06