

COVID-19 ve Benzeri Salgınlara Karşı Klinik Öncesi Çalışmaların Önemi

Doç. Dr. Furkan Ayaz- Mersin Üniversitesi Biyoteknoloji Bölümü, Mersin, Türkiye 2020

Şu anda bütün dünya ülkeleri COVID-19 salgınına yol açan SARS-CoV-2 virüsüne karşı bir ilaç ya da aşı geliştirme çalışmalarına yoğunlaşmış durumda. Ülkemizde ve dünya genelinde bilimsel araştırmaların ve özellikle klinik öncesi çalışmaların halk sağlığı, ekonomi ve sosyal düzen için nasıl bir önem taşıdığına bir kez daha şahit oluyoruz [1-3].

Klinik öncesi araştırmalarda amaç ilaç veya aşı adaylarının üretilmesi, bunların laboratuvar ortamında test edilip klinik denemeler öncesi etkinliğinin ve biyogüvenirliliğinin ortaya konulmasıdır (Şekil 1.) [4]. Bu çalışmalar neticesinde, etkinliği ve güvenirliliği kanıtlanan çok sayıda ilaç veya aşı adayı elde edilmiş olur.

Şekilde de belirtildiği gibi, klinik öncesi çalışmaların ilk basamağında yeterince ilaç adayının kimyasal olarak üretilip, karakterize edilmesi gerekir [4]. SARS-CoV-2 özelinde ise ilaç adaylarının akciğer iltihabını önleyecek nitelikte, immünomodülatör sınıfında olan bağışıklık sistemini düzenleyici grupta olması önemli olup, immünomodülatör ilaç adayının bağışıklık sistemi hücrelerinin iltihaba tepki verme kapasitelerini düşürürken, bu hücrelerin fonksiyonlarının tamamen durmasına neden olmaması; hücrelerde ciddi bir toksisiteye veya yan etkiye sebebiyet vermemesi gerekir [2-5]. Bunun için ilaç adayları moleküler olarak tasarlanırken iltihaplanmada rol oynayan hücre içi sinyal yollarından MAP kinazlar, c-Jun, JNK, Nrf-2, AP-1, TRIF, IRFs, MyD88, PPAR, Notch, Wnt ya da NFκB gibi proteinlerin yapısını bilmek; bu proteinlerin aktivasyonuna veya işlevine engel olabilecek, onlarla etkileşime girebilecek ilaç adayları tasarlanmalıdır [2-11]. Bu amaçla, benzer şekilde oluşturulmuş, yapı-fonksiyon ilişkisi ortaya çıkarılmış anti-enflammatuvar özellikleri bilinen salisilik asit, klorokin, ibuprofen, parasetamol türü ilaçlardaki kimyasal yapılardan ya da onların aktif bölgelerinden yardım alınabilir [2-15].



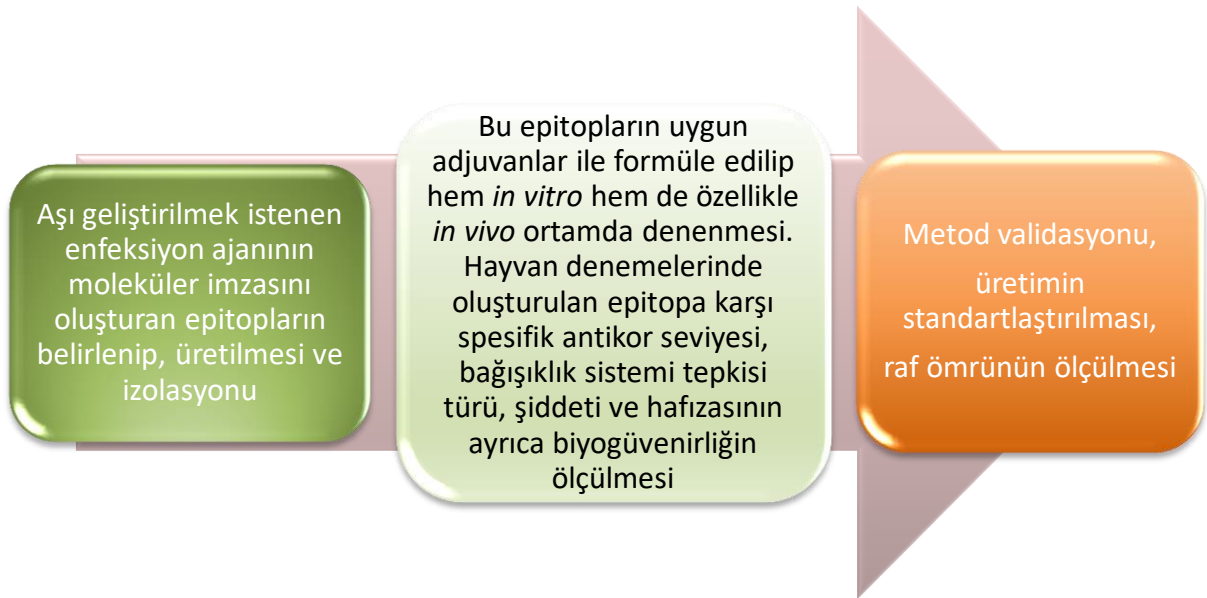
Şekil 1. Klinik öncesi çalışmalarda ilaç adaylarının bulunup, karakterize edilmesi için izlenen basamaklar [4].

İlk basamakta tasarlanan ilaç adayının, sonraki basamakta bağışıklık sistemi hücrelerine (makrofaj, yardımcı T hücresi, dendritik hücreler, nötrofiller, sitotoksik CD8⁺ T hücreleri, B hücreleri ve doğal öldürücü hücreler) üzerindeki etkilerinin ve toksisite testlerinin *in vitro* (organizma dışı) ortamda yapılması gerekir. Hayvan deneyleri ile genel toksisite testleri, biyouyumluluğu ve hangi organlarda etkili olduğu belirlendikten sonra bu ilaç adayları klinik çalışmalar için hazır hale getirilir [1-11].

COVID-19 pandemisinde, hastalığın tedavisi için hastalık nedeniyle artan yoğun iltihabın baskılanması için belirlenecek immünomodülatörlerin yanı sıra SARS-CoV-2'ye karşı geliştirilebilecek anti-viral ilaçların da klinik öncesi çalışmalarının yapılmış olması, COVID-19'la mücadelede önemli bir aşamanın tamamlanması demektir. Bu sürecin başarıyla tamamlanması araştırmacılara büyük avantajlar sağlayacaktır [16]. Şu ana kadar Koronavirüslerle ilgili yapılan araştırmalarda virüsün yarasalardan insana geçiş yolları incelenmiş; 2015'te Menachery et al. Tarafından yapılan çalışmada belli bir yarasa popülasyonundan elde edilen hastalık yapıcı koronavirüs gen dizilerinin etkileri fare üzerinde denemiştir [18, 19]. Söz konusu çalışmaya göre, patojenik ajana maruz kalan farelerin zatürreden yaşamını kaybettiği; virüse karşı oluşturulan aşı ya da ilacın hastalığın önlenmesi veya tedavisinde etkili olmadığı; dahası pasif bağışıklığı sağlayan SARS-CoV enfeksiyonu bazlı plazma tedavisinin de farelerde etkili olmadığı gösterilmiştir [19].

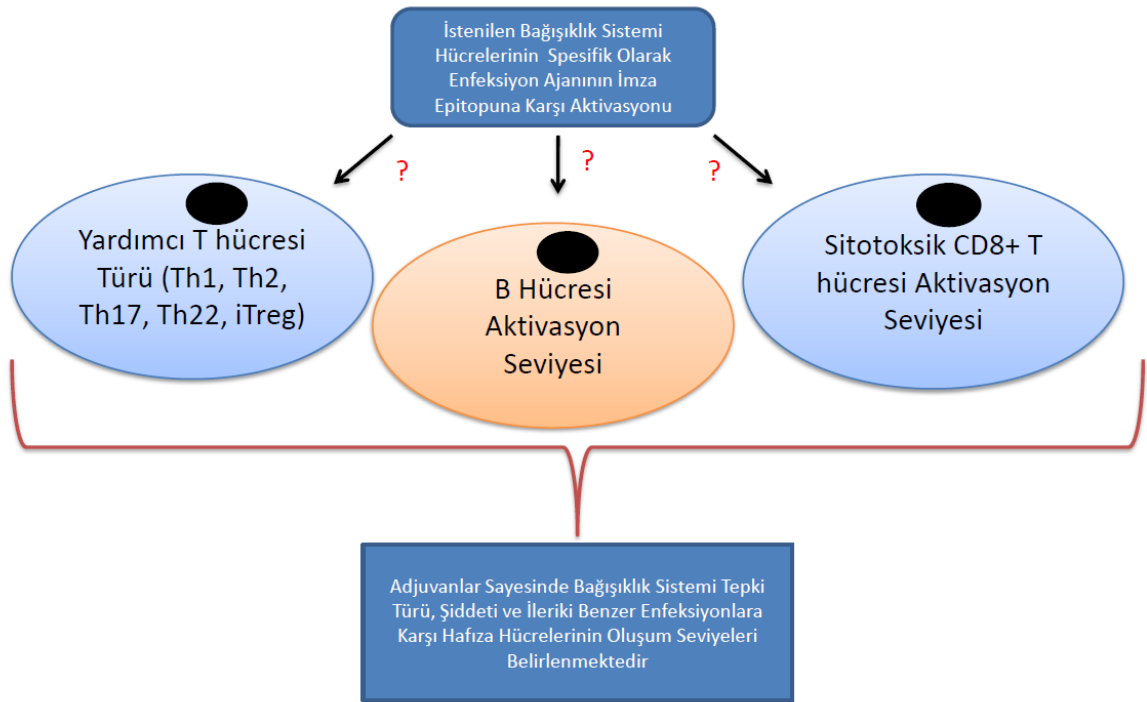
Aşı geliştirme çalışmalarında klinik öncesi araştırmaların önemi:

Viral hastalıkları önlemek için izlenecek klinik öncesi çalışmalar tedavi için izlenen yoldan bazı farklılıklar içerir (Şekil 2) [1-4].



Şekil 2. Klinik öncesi çalışmalarda aşı adaylarının üretilip karakterize edilmesi için izlenen basamaklar [1-4].

Aşı adayının belirlenmesinde viral enfeksiyonu durduracak bağışıklık sistemi hücrelerinin (yardımcı T hücreleri, sitotoksik CD8⁺ T hücreleri ve enfeksiyon ajanına karşı antikor üretecek B hücreleri olarak) hastalığa neden olan ajanı tanıması ; bunun sonucu olarak da savunma mekanizması olarak, hücrelerin interferon (IFN) sitokininin salınımını artırarak virüsü yok edecek antikor üretimini sağlamasıdır. IFN sitokini doğal anti-viral ajan olup, virüsün enfekte ettiği hücrenin içinde çoğalmasını engeller. Diğer taraftan, antikor ise virüsün vücutta bağışıklık hücreleri tarafından tanınmasına ve yok edilmesine neden olan, insan B-hücreleri tarafından üretilen moleküllerdir. Buna göre, iyi bir aşı formülasyonunda virüsün etkili bir şekilde tanınmasını sağlayacak viral imza moleküllerinin yanı sıra bu hücre türlerini yeterince ve aşırıya kaçmayacak şekilde aktive edecek adjuvanın olması gerekmektedir. Ayrıca, oluşturulacak bu bağışıklık sistemi tepkisinin bir dahaki enfeksiyonda etkili olabilmesi için formülasyondaki adjuvanın yeterli bağışıklık sistemi hafıza hücreleri oluşturma kapasitesinin olması gerekir (Şekil 3). Bu durumda yürütülecek klinik öncesi çalışmalar önem kazanır. Klinikte denenebilecek adjuvan adayları viral epitoplar ile formüle edilip öncelikle klinik öncesi çalışmalarla karakterize edilip hayvanlarda ve daha sonrasında klinikte denenebilir [1-4, 20, 21].



Şekil 3. Aşların viral enfeksiyonlara karşı etkili olması için gerekli olan parametreler [1-4, 20, 21].

SARS-CoV ve MERS-CoV virüslerinden yola çıkılarak yapılan çalışmalar bugün test kiti, ilaç adayı ve aşı üretimi konusunda bizlere ciddi ışık tutmaktadır. Bu durum pre-klinik çalışmaların önemini bir kez daha vurgulamaktadır [1-4, 16-21]. Daha önce yapılan çalışmalarca SARS-CoV ve şu COVID-19'a sebebiyet veren SARS-CoV-2 virüslerinin filogenetik olarak birbirlerine benzer oldukları ortaya konulmuştur. Bu virüsler yapı

proteinleri olarak yüzeyde konak hücrelere tutunmayı sağlayan S proteini, zarf proteinleri (E), membran proteini (M), ve RNA'larını sarmalayan nükleokapsit proteini (N) taşımaktadırlar [17-19]. Yüzey proteini S, virüs genlerinde oluşan mutasyon sayesinde SARS-CoV-2'ta Angiotensin converting enzyme -2 (ACE-2) ifade eden hücrelere daha güçlü tutunup enfeksiyon gücünün daha yüksek olduğunu yapılan pre-klinik çalışmalarca belirlenmiştir [22]. Pittsburgh Üniversitesinden Kim et al tarafından yakın zamanda yayınlanan bir çalışma ile özellikle bu virüse özgü S proteinlerine yönelik üretilen aşının mikroiğnelerle uygulanması sonucu farelerde SARS-CoV-2'ye karşı yeterince antikor oluşturulduğu ve farelerin bu viral enfeksiyona karşı bağışıklık kazandığı gözlemlenmiştir. Şu anda bu çalışmadan yola çıkılarak yapılacak klinik çalışmalar bütün dünyanın umutla beklediği COVID-19 hastalığına karşı aşının piyasaya sunulmasını hızlandıracaktır [1].

Yukarıdaki örneklerde de belirtildiği gibi viral enfeksiyon ajanlarının yol açtığı salgınlara karşı ve özelinde COVID-19'a karşı pre-klinik çalışmalar önem arz etmektedir. Bu tür araştırmaların daha fazla desteklenmesi hem halk sağlığı açısından hem de ekonomik açıdan bütün dünya ülkelerine büyük avantajlar sağlayacaktır.

Referanslar:

- [1] Kim, Eun et al. Microneedle array delivered recombinant coronavirus vaccines: Immunogenicity and rapid translational development EBioMedicine, Volume 0, Issue 0, 102743
- [2] E. Prompetchara, C. Ketloy, T Palaga Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: lessons learned from SARS and MERSEpidemic Asian Pac J Allergy Immunol (2020)
- [3] G. Li, Y. Fan, Y. Lai, T. Han, Z. Li, P. Zhou, et al. Coronavirus infections and immune responses J Med Virol (2020 Jan 25)
- [4] Mohs, R. C., & Greig, N. H. (2017). Drug discovery and development: Role of basic biological research. Alzheimer's & dementia (New York, N. Y.), 3(4), 651–657.
- [5] Liu, J., Cao, R., Xu, M. et al. Hydroxychloroquine, a less toxic derivative of chloroquine, is effective in inhibiting SARS-CoV-2 infection in vitro. Cell Discov 6, 16 (2020)
- [6] Newton, K., & Dixit, V. M. (2012). Signaling in innate immunity and inflammation. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 4(3), a006049.
- [7] T. Hanada, A. Yoshimura Regulation of cytokine signaling and inflammation Cytokine Growth F. Rev., 13 (2002)
- [8] Fazio, C., & Ricciardiello, L. (2016). Inflammation and Notch signaling: a crosstalk with opposite effects on tumorigenesis. Cell death & disease, 7(12), e2515.
- [9] Gunaydin, C., & Bilge, S. S. (2018). Effects of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs at the Molecular Level. The Eurasian journal of medicine, 50(2), 116–121.
- [10] T. Hanke, D. Merk, D. Steinhilber, G. Geisslinger, M. Schubert-Zsilavec Small molecules with anti-inflammatory properties in clinical development Pharmacol Ther, 157 (2016), pp. 163-187
- [11] Qandil A. M. (2012). Prodrugs of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), more than meets the eye: a critical review. International journal of molecular sciences, 13(12), 17244–17274.
- [12] Eisen, D.P. Manifold beneficial effects of acetyl salicylic acid and nonsteroidal anti-inflammatory drugs on sepsis. Intensive Care Med 38, 1249–1257 (2012).
- [13] Oh, S., Shin, J. H., Jang, E. J., Won, H. Y., Kim, H. K., Jeong, M. G., Kim, K. S., & Hwang, E. S. (2016). Anti-inflammatory activity of chloroquine and

amodiaquine through p21-mediated suppression of T cell proliferation and Th1 cell differentiation. *Biochemical and biophysical research communications*, 474(2), 345–350.

- [14] Løkken, P., & Skjelbred, P. (1980). Analgesic and anti-inflammatory effects of paracetamol evaluated by bilateral oral surgery. *British journal of clinical pharmacology*, 10 Suppl 2(Suppl 2), 253S–260S.
- [15] Bushra, R., & Aslam, N. (2010). An overview of clinical pharmacology of Ibuprofen. *Oman medical journal*, 25(3), 155–1661.
- [16] A.O. Adedeji, S.G. Sarafianos Antiviral drugs specific for coronaviruses in preclinical development *Curr. Opin. Virol.*, 8 (2014), pp. 45-53
- [17] R. Lu, X. Zhao, J. Li, P. Niu, B. Yang, H. Wu, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding *Lancet* (2020 Jan 30)
- [18] Li, H. Y., Zhu, G. J., Zhang, Y. Z., Zhang, L. B., Hagan, E. A., Martinez, S., Chmura, A. A., Francisco, L., Tai, H., Miller, M., & Daszak, P. (2020). A qualitative study of zoonotic risk factors among rural communities in southern China. *International health*, 12(2), 77–85.
- [19] Menachery, V., Yount, B., Debbink, K. et al. A SARS-like cluster of circulating bat coronaviruses shows potential for human emergence. *Nat Med* 21, 1508–1513 (2015).
- [20] Singh, K., & Mehta, S. (2016). The clinical development process for a novel preventive vaccine: An overview. *Journal of postgraduate medicine*, 62(1), 4–11.
- [21] J.C. Cox, A.R. Coulter Adjuvants--a classification and review of their modes of action *Vaccine*, 15 (3) (1997), pp. 248-256
- [22] Tai, W., He, L., Zhang, X. et al. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. *Cell Mol Immunol* (2020)