



Perspektywy wykorzystania strategii oligomerów antysensowych w medycynie klinicznej

Mariusz Z. Ratajczak
Tomasz Skórski
Andrzej Biątek

1. Wstęp

Możliwość swoistego zniesienia ekspresji wybranych genów w komórce za pomocą oligomerów antysensowych umożliwia nie tylko badanie funkcji jaką one pełnią w organizmie, lecz przede wszystkim posiada również niezwykle ważny aspekt praktyczno-kliniczny. Celowane „zablokowanie” ekspresji genów odpowiedzialnych za występowanie poszczególnych schorzeń otwiera bowiem nowe perspektywy lecznicze (1,2,3,4). Zniesienie ekspresji protoonkogenów odpowiedzialnych za transformację nowotworową komórek może prowadzić do zahamowania ich proliferacji, a nawet zniszczenia (5,6,7,8,9). Podobnie związki blokujące geny odpowiedzialne za namnażanie wirusów lub pasożytów będą pomocne w leczeniu niektórych chorób wirusowych i pasożytniczych (1,2,10,11,12,13,14).

Pracownia Hematologii Molekularnej Zakładu Patologii, Wydział Medyczny, Uniwersytet Pensylwania, Filadelfia;

Instytut Rakowy Jeffersona, Uniwersytet im. T. Jeffersona, Filadelfia;

Zakład Patologii Komórki PAM, Szczecin;
Klinika Gastroenterologii PAM, Szczecin.

Ogólnie ujmując strategia antysensowa polega na wybiórczym zahamowaniu ekspresji genu w komórce za pomocą odcinków kwasów nukleinowych, które mogą swoiście hybrydyzować do komplementarnych sekwencji sensu znajdujących się w genomowym DNA lub w cząsteczkach mRNA kodowanych przez ten gen. Chcąc wyłączyć ekspresję genu za pomocą strategii antysensowej można wykorzystywać zarówno cząsteczki mRNA jak i DNA (15).

Blokowanie ekspresji genu za pomocą cząsteczek mRNA polega na wprowadzeniu do komórek plazmidów zawierających cDNA genu, którego ekspresję chcemy znieść. Znajdujące się w plazmidzie cDNA wklonowane jest w orientacji antysensu. W komórce syntetyzowany jest następnie zgodnie z informacją zawartą w cDNA plazmidu — antysens mRNA. Syntetyzowane wewnątrzkomórkowo cząsteczki antysensu mRNA mogą swoiście hybrydyzować z cząsteczkami mRNA posiadającymi komplementarne sekwencje, a tym samym wyłączać je z metabolizmu. Opisany mechanizm zniesienia ekspresji genu na poziomie mRNA za pomocą komplementarnych cząsteczek mRNA przypomina w pewnym stopniu fizjologiczną regulację ekspresji niektórych genów spotykaną u mikroorganizmów, gdzie obydwie nici genomowego DNA przepisywane są zarówno na mRNA sens, jak i hybrydujący z nim mRNA antysens (16).

Znacznie łatwiejszą techniką jest wykorzystanie syntetycznych oligodeoksyrybonukleotydów (oligomerów). Oligomery takie penetrują do komórki ze środowiska zewnątrzkomórkowego poprzez błonę komórkową. Po wnikięciu do komórki swoiście hybrydują do komplementarnych odcinków sensu w cząsteczkach mRNA lub genomowym DNA. W pewnych sytuacjach mogą również przyłączać się na drodze powinowactwa molekularnego do ważnych metabolicznie białek wewnątrzkomórkowych i hamować ich funkcję biologiczną.

Nad problemem praktycznego zastosowania oligonukleotydów w klinice, jako potencjalnych leków hamujących ekspresję protoonkogenów pracuje się w wielu laboratoriach także w naszych. Strategia ta budzi pewne nadzieje na mogący się dokonać dzięki niej przełom w farmakoterapii onkologicznej. Składa się na to szereg przyczyn. Po pierwsze, terapia swoistymi dla danego genu blokującymi oligonukleotydami ma cechy tak dawno poszukiwanego w medycynie „złotego środka leczniczego”. Za pomocą odpowiednio przygotowanych oligonukleotydów można bowiem w niektórych przypadkach hamować ekspresję ściśle określonych genów, leżących u podłoża danego schorzenia. Jest to zatem rodzaj swoistej celowanej terapii na poziomie molekularnym. Po drugie, metoda ta, jak się wydaje, przynajmniej na obecnym etapie badań jest znacznie mniej obciążona ryzykiem wystąpienia powikłań jatrogennych ze strony innych narządów. Jest to fakt nie bez znaczenia biorąc pod uwagę dotychczasowe, obarczone poważnym ryzykiem wystąpienia powikłań, konwencjonalne sposoby leczenia nowotworów za pomocą radiochemioterapii. Po trzecie, stosując wymienioną strategię będzie można prawdopodobnie leczyć szereg schorzeń, które nie poddają się obecnie skutecznej terapii klasycznymi środkami farmakologicznymi. Po czwarte, najważniejsze, to napawające optymizmem wyniki wstępnych doświadczeń na komórkach nowotworowych hodowanych *in vitro* oraz w układach doświadczalnych *in vivo* (1,6,7,8,9).

W najbliższych latach okaże się na ile metoda ta znajdzie rzeczywście w przyszłości zastosowanie w medycynie klinicznej. Pomimo że podjęto już pierwsze próby kliniczne to, jak się wydaje, droga od eksperymentu *in vitro* do terapii *in vivo* żywego organizmu jest jeszcze daleka. Celem pracy jest zapoznanie czytelnika z tą niezwykle obiecującą dziedziną biotechnologii.

2. Poszukiwanie nowych metod terapii chorób nowotworowych

Ze względu na trudności w uzyskaniu trwałych wyleczeń u chorych na nowotwory i białaczki pojawia się pilna potrzeba poszukiwania innych, nowych i efektywniejszych metod terapii. Wiadomo, że u podłoża schorzeń nowotworowych organizmu leżą uwarunkowane pierwotnie lub wtórnie zmiany w prawidłowej ekspresji materiału genetycznego pojedynczych komórek. Obecnie uważa się, że zaburzenia te ogólnie można podzielić na trzy podstawowe grupy:

Pierwsze z nich są wynikiem uszkodzeń kodu genetycznego w obrębie genów hamujących proliferację komórek — czyli antyonkogenów. Powodują one to, że komórki przestają produkować pewne białka, ważne w negatywnej regulacji cyklu komórkowego. Druga grupa zaburzeń polega z kolei na nadmiernej ekspresji genów, stymulujących namnażanie komórek — czyli protoonkogenów. Trzecia z kolei jest wynikiem zaburzenia ekspresji genów regulujących zaprogramowany genetycznie proces umierania komórek — czyli zjawisko apoptozy.

Produkty białkowe antyonkogenów i protoonkogenów pełnią ważną fizjologicznie rolę w procesie proliferacji. Posiadają one budowę: czynników wzrostowych, receptorów powierzchniowych, protein biorących udział w przekazywaniu sygnału z powierzchni do wnętrza komórki, cyklin i regulujących je białek lub protein regulujących bezpośrednio ekspresję genów na poziomie transkrypcyjnym w jądrze. Nieprawidłowa ekspresja tych genów może prowadzić do transformacji nowotworowej komórek.

Wymienione grupy defektów genetycznych, które leżą u podłoża chorób nowotworowych mogą stać się w niedalekiej przyszłości celem terapii genowej, polegającej na próbie korekcji zaburzeń na poziomie molekularnym. Podjęto pierwsze, konkretne próby doświadczalne leczenia tych zmian genetycznych *in vitro* w hodowlach komórkowych. W pierwszej grupie defektów próbuje się dokonać korekcji, wprowadzając do materiału genetycznego komórek prawidłowe, brakujące antyonkogeny. Natomiast w drugiej grupie schorzeń rozważa się możliwość blokowania nieprawidłowej ekspresji protoonkogenów odpowiedzialnych za wzrost nowotworowy za pomocą swoistych oligomerów antysensowych. Pojawiają się również próby oddziaływania za pomocą oligomerów antysensowych na ekspresję genów, które regulują proces apoptozy (1,2).

3. Farmakokinetyka oligomerów antysensowych

Wspomniano już, że oligomery antysensowe są krótkimi odcinkami kwasu deoksyrybonukleinowego (DNA) o wielkości 10 – 25 zasad. Dzięki postępowi technologii można je otrzymywać syntetycznie za pomocą specjalnych urządzeń służących do syntezy kwasów nukleinowych. Dążąc do zwiększenia ich stabilności w płynach biologicznych syntetyzowane są różne pochodne. Do najbardziej znanych należą pochodne fosfotiolowe oraz metylofosfonianowe (1). Wspomniano już, że zasada działania oligonukleotydów w komórce polega na blokowaniu poprzez swoistą hybrydyzację komplementarnych odcinków kwasów nukleinowych (DNA lub RNA) lub tworzeniu trwałych kompleksów z ważnymi w regulacji cyklu komórkowego białkami.

Mysząc o klinicznym wykorzystaniu oligomerów w leczeniu pacjentów przeprowadzono już pierwsze badania farmakokinetyczne oligomerów stosowanych w modelach *in vivo* (1,17). Zgodnie z tym oceniano ich poziom we krwi, półokres trwania, jak i dystrybucję wewnątrzustrojową po podaniu parenteralnym zwierzętom doświadczalnym. Półokres trwania pochodnych fosfotiolowych długości 20 – 27 zasad po podaniu dożylnym myszom wyniósł w surowicy od 40 do 72 godzin. Degradacja metaboliczna podanych oligomerów w moczu była niewielka. Oligomery kumulowały się w wątrobie i nerkach, a stężenie ich w tych narządach znacznie przewyższało stężenie w surowicy. Iversen i współ. wykazali, że w przypadku myszy oligomery gromadzą się również w mózgu co przemawiałoby za ich skutecznym przenikaniem przez barierę krew – płyn mózgowo-rdzeniowy u gryzoni.

U małej półokres trwania oligomerów w surowicy był podobny jak u gryzoni. Oligomery kumulowały się najlepiej w: nerkach, wątrobie, grasicy, szpiku kostnym, węzłach chłonnych, sliniankach, płucach i trzustce. Obserwowano również gromadzenie się podanych oligomerów w: mięśniach, przewodzie pokarmowym i tchawicy. Najsłabiej gromadziły się natomiast w: mózgu, rdzeniu przedłużonym, chrząstkach, skórze i gruczole krokowym.

W pierwszym opisanym w literaturze przypadku dożylnego podania fosfotiolowych pochodnych oligomerów antysensowych, skierowanych przeciwko białku p53 u człowieka zaobserwowano: niewielki wzrost poziomu GTP w surowicy. Pacjent skarżył się jedynie na uczucie metalicznego smaku w ustach, nudności i wymioty (18). Chory otrzymywał dożylnie wlew oligomerów antysensowych w dawce: 0,05 mg/kg/godzinę. Całkowita podana dawka wynosiła 700 mg. Podanie dożylnie oligomerów okazało się zatem w miarę bezpieczne.

Stosując ogólnoustrojowo oligomery antysensowe, szczególnie w wyższych dawkach, należy spodziewać się wystąpienia efektów ubocznych. Oligomery mogą działać toksycznie zarówno specyficznie jak i niespecyficznie.

Działanie specyficzne wynika z blokowania ekspresji genu, przeciwko któremu są skierowane nie tylko w komórkach chorych, lecz również w komórkach zdrowych. Efekt końcowy tego działania zależy oczywiście od stopnia różnicy we wrażliwości na zniesienie ekspresji danego genu pomiędzy komórkami chorymi i zdrowymi. Efekt niespecyficzny wynika natomiast z ich dzia-

łania jako związku chemicznego nie występującego fizjologicznie w organizmie.

Z przeprowadzonych własnych badań wynika, że myszy którym podawaliśmy za pomocą pomp osmotycznych przez dwa tygodnie antysensy skierowane przeciwko sekwencji mRNA ludzkiego białka transkrypcyjnego c-myb — w dawce 100 µg/dobę nie wykazywały zmian morfologicznych w wątrobie ani w nerkach. Obserwowano jedynie wystąpienie we krwi obwodowej małopłytkowości, która wynikała prawdopodobnie z ich niespecyficznego, niekorzystnego działania jako cząsteczek będących polianionami na trombocyty.

Oligomery antysensowe skierowane przeciwko mRNA ludzkiego onkogenu bcr-abl podawane dożylnie myszom SCID w dawce 1mg/dobę przez 12 kolejnych dni osiągają stężenie terapeutyczne w tkankach, a także są wykrywalne w ludzkich komórkach białaczkowych, rosnących u tych zwierząt. Przeprowadzona analiza anatomopatologiczna narządów wewnętrznych myszy SCID otrzymujących oligomery przez 12 dni nie wykazywała również większych zmian (5).

Jednakże należy liczyć się z tym, że efekty uboczne terapii oligomerami mogą być bardziej nasilone i zróżnicowane. Będą one zależne od budowy chemicznej stosowanej pochodnej, jej dawki, jak i stosowanej sekwencji. Wprowadzenie oligomerów do kliniki wymaga zatem rzetelnie przeprowadzonych, poprzedzających badań toksykologicznych w modelach zwierzęcych — najpierw na myszach, a później na małpach.

4. Możliwości wykorzystania oligomerów antysensowych w medycynie klinicznej

Wspomniano już, że trwają intensywne badania nad wprowadzeniem oligomerów antysensowych, jako nowej generacji leków. Najbardziej zaawansowane prace dotyczą ich potencjalnego zastosowania w:

- onkologii klinicznej,
- angioplastyce naczyń wieńcowych,
- chorobach neurologicznych,
- leczeniu niektórych chorób wirusowych i pasożytniczych.

Oligomery antysensowe stosowane jako leki przeciwnowotworowe mogą hamować swoiście ekspresję wielu protoonkogenów odpowiedzialnych za niekontrolowany wzrost komórek. W wyniku ich działania może nastąpić zahamowanie proliferacji komórek złośliwych, indukcja apoptozy lub nawet cofnięcie ich nowotworowego fenotypu. Z tego powodu myśli się o praktycznym wykorzystaniu oligomerów w klinice zarówno w leczeniu białaczek, jak i guzów litych.

Warunkiem poprzedzającym kliniczne zastosowanie oligomerów w leczeniu chorych jest uprzednie udokumentowanie ich korzystnego działania *in vivo* w modelach doświadczalnych na zwierzętach. Z pierwszych opublikowanych danych z przeprowadzonych badań na zwierzętach *in vivo* wynika, że oligomery antysensowe skierowane przeciwko protoonkogenom c-myb (6) i bcr-abl

(8) spowalniały wzrost komórek ludzkiej przewlekłej białaczki szpikowej wszczepionej myszom SCID. Oligomery antysensowe skierowane przeciwko protoonkogenowi c-myc hamowały również wzrost komórek ludzkiego czerniaka u tych zwierząt (9). Z kolei oligomery skierowane przeciwko protoonkogenowi c-HA-ras wykazywały działanie przeciwnowotworowe *in vivo* u myszy *nude*, którym wszczepiono komórki NIH-3T3 transformowane onkogenem c-HA-ras (1,2). Wykazano również, że oligomery antysensowe skierowane przeciwko protoonkogenowi c-myc hamowały *in vivo* ekspresję białka c-myc w limfocytach myszy transgenicznych, będących nosicielami transgenu: *enhancer* immunoglobulinowy — protoonkogen c-myc (19,20). Aktywne *in vivo* okazały się również oligomery antysensowe skierowane przeciwko mRNA czynnika transkrypcyjnego NF-kb (21).

Osobnym zagadnieniem jest zastosowanie oligomerów antysensowych w usuwaniu komórek nowotworowych *ex vivo* ze szpiku kostnego przed autoprzeszczepami. Zaawansowane są próby kliniczne użycia antysensów skierowanych przeciwko mRNA protoonkogenowi c-myc i onkogenowi bcr-abl. Mechanizm molekularny działania oligomerów skierowanych przeciwko tym onkogenom polega na indukowaniu apoptozy w komórkach białaczkowych (1,2).

Duże nadzieje wiąże się z wykorzystaniem oligomerów antysensowych w profilaktyce restenozy naczyń wieńcowych po angioplastyce. Oligomery antysensowe skierowane przeciwko mRNA protoonkogenów: c-myc, cdc2 i PCNA podawane domiejscowo w momencie rozszerzenia balonikiem naczyń wieńcowych mają hamować ewentualną niepożądaną proliferację miocytów ściany naczyniowej po zabiegu. W badaniach przeprowadzonych w modelach doświadczalnych u zwierząt potwierdzono efektywność takiej strategii *in vivo* (22,23,24).

Wszystko wskazuje również na to, że oligomery znajdują wkrótce zastosowanie kliniczne w neurofarmakologii klinicznej (1,2). Oligomery antysensowe skierowane przeciwko protoonkogenowi c-fos po podaniu miejscowym do mózgu hamowały ekspresję protoonkogenowi c-fos w komórkach znajdujących się w sąsiedztwie miejsca iniekcji (25). Stosując z kolei oligomery antysensowe skutecznie zablokowano ekspresję receptora dla neuropeptydu Y oraz receptora metyloasparaginowego. Uważa się, że szczególnie ostatni z wymienionych oligomerów może znaleźć praktyczne zastosowanie w leczeniu udarów mózgu zmniejszając ognisko uszkodzenia tkanki nerwowej. Pracuje się również nad syntezą oligomerów aptamerowych wiążących działające zakaźnie w układzie nerwowym cząsteczki białkowe jakimi są priony (1).

Zaawansowane są również badania nad wykorzystaniem oligomerów w leczeniu chorób wirusowych i pasożytniczych (10,11,12,13,14). Wykazano ich efekt hamujący proliferację wirusów: opryszczki typu 1, nabytych zespołów niedoborów immunologicznych, opryszczkowego zapalenia jamy ustnej, grypy, jak i wirusa wywołującego brodawczaki. Spośród chorób pasożytniczych uważa się, że oligomery antysensowe znajdują wkrótce praktyczne zastosowanie w leczeniu malarii (2).

5. Nowe strategie w terapii oligomerami antysensowymi

Obecnie z dużym wysiłkiem opracowuje się syntezy nowych — bardziej stabilnych w płynach ustrojowych i łatwiej wnikaających do komórek pochodnych oligomerów antysensowych. Oligomery próbuje się łączyć z krótkimi peptydami sygnałowymi, transferyną oraz umieszcza się je w liposomach. Ma to ułatwić ich kumulowanie w komórkach docelowych (1,2,26,27,28,29).

Osobnym zagadnieniem jest zastosowanie oligomerów antysensowych w skojarzeniu z innymi formami leczenia, jak cytostatyki i immunoterapia. Okazało się, że oligomery antysensowe mogą być skutecznie kojarzone z innymi lekami, np. o działaniu przeciwnowotworowym. Z opublikowanych danych wynika, że oligomery skierowane przeciwko mRNA onkogenu bcr-abl w połączeniu z mafosfamidem znacznie bardziej skutecznie niszczyły komórki przewlekłej białaczki szpikowej (30). Strategia kojarzenia oligomerów antysensowych z cytostatykami i immunoterapią okazała się również skuteczna w hamowaniu wzrostu komórek guzów litych (31). Z naszych ostatnio przeprowadzonych badań i nie publikowanych jeszcze danych wynika ponadto, że oligomery antysensowe mogą być również skojarzone z działającymi przeciwnowotworowo cytokinami, jak np. TNF-em i interferonem- α . Strategia taka umożliwia z jednej strony zmniejszenie dawki stosowanych oligomerów, a często zwiększa również ich efektywność farmakologiczną.

Obiecujące wyniki otrzymaliśmy również stosując jednocześnie dwa różne oligomery antysensowe hamujące ekspresję „współpracujących” ze sobą onkogenów (32). Oligomery takie wykazywały synergistyczny efekt przeciwnowotworowy, co pozwalało na znaczne zmniejszenie ich dawek.

6. Podsumowanie

Dynamiczny rozwój badań nad strategią blokowania ekspresji genów za pomocą oligomerów antysensowych stwarza realne nadzieje, że wkrótce klinicyści będą dysponować nową generacją leków znoszących swoiście ekspresję genów odpowiedzialnych za występowanie poszczególnych schorzeń. Nad zagadnieniami tymi pracuje wiele zespołów badawczych zarówno w ośrodkach akademickich jak i firmach biotechnologicznych. Obecnie w kilku zespołach m.in. i w tych, w których pracują autorzy tego artykułu uzyskano już zgodę na podjęcie pierwszych prób klinicznych leczenia chorych za pomocą oligomerów. Dotyczy to głównie białaczek i czerniaków. Oligomery próbuje się wykorzystać zarówno w leczeniu systemowym *in vivo* jak i w próbach usuwania *ex vivo* komórek nowotworowych ze szpiku pobranego do przeszczepień autologicznych. Wkrótce powinny ukazać się pierwsze wyniki tych badań.

Wszystko wskazuje na to, że skoordynowany wysiłek chemików pracujących nad uzyskaniem na makroskalę nowych pochodnych oligomerów antysensowych, biologów oceniających ich działanie w modelach doświadczalnych, farmakologów śledzących ich farmakokinetykę jak i lekarzy wdrażających ten

nowatorski sposób leczenia w klinice spowodują, że w XXI w. wkroczymy uzbrojeni w nową generację leków oddziałujących na poszczególne schorzenia poprzez wpływanie na ekspresję genów odpowiedzialnych za etiopatogenezę i przebieg różnych chorób. W najbliższych latach zweryfikowana zostanie z pewnością skuteczność tej nowatorskiej strategii leczniczej.

Literatura

1. Stein C. A., Cheng Y. C., (1993), *Science*, 261, 1004 – 1012.
2. Karp J. E., Broder S., (1994), *Cancer Research*, 54, 653 – 665.
3. Ratajczak M. Z., Gewirtz A. M., (1994). in: *Nucleic Acids & Molecular Biology*, Ed. Eckstein F., Springer Verlag, Berlin – Heidelberg, VIII, 298 – 326.
4. Gewirtz A. M., Calabretta B., (1988), *Science*, 242, 1303 – 1306.
5. Ratajczak M. Z., Hijiya N., Catani L., deRiel K., Luger S. M., McGlave Ph., Gewirtz A., (1992), *Blood*, 79, 1956 – 1961.
6. Ratajczak M. Z., Kant J. A., Hijiya N., Luger S. M., Zhang J., Zon G., Gewirtz A. M., (1992), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89, 11 823 – 11 827.
7. Szczylik C., Skórski T., Nicolaidis N., Manzella L., Malaguarnera L., Venturelli D., Gewirtz A. M., Calabretta B., (1991), *Science*, 253, 562 – 565.
8. Skórski T., Nieborowska-Skórska M., Nicolaidis N., Szczylik C., Iversen P., Iozzo R. V., Zon G., Calabretta B., (1994), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91, 4504 – 4508.
9. Hijiya N., Zhang J., Ratajczak M. Z., deRiel K., Herlyn M., Gewirtz A. M., (1993), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91, 4499-4503.
10. Gao W. Y., Hanes R. N., Vazquez-Padua M. A., Stein C. A., (1990), *Antimicrob. Agents Chemother.*, 34, 806-812.
11. Smith C. C., Aurelian L., Reddy M., Miller P. S., Howley P. M., (1986), *Biochemistry*, 83, 2787 – 2791.
12. Agrawal S., Tang J. Y., (1992), *Antis. Res. Dev.*, 2, 261 – 266.
13. Agris C. H., Blake K. R., Miller P. S., Reddy P. M., Ts'o P. O. P., (1986), *Biochemistry*, 25, 6268 – 6275.
14. Cowsert L. M., Fox M. C., Zon G., Mirabelli Ch. K., (1993), *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 37, 171 – 177.
15. van der Krol A. R., Mol J. N. M., Stuitje A. R., (1988), *Biotechniques*, 6, 958 – 976.
16. Green P. J., Pines O., Inouye M., (1986), *Ann. Rev. Biochem.*, 55, 569 – 582.
17. Iversen P., (1993), in: *Antisense Research and Applications*, Ed. Crooke S. T., Lebleu B., CRC Press, Ann Arbor, 461 – 479.
18. Bayever E., Iversen P., Smith L., Spinolo J., Zon G., (1992), *Antis. Res. Dev.*, 2, 109 – 111.
19. Wickstrom E. L., Bacon T. A., Gonzalez A., Freeman D. L., Lyman G. H., Wickstrom E., (1988), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85, 1028 – 1032.
20. Wickstrom E., Bacon T. A., Wickstrom E. L., (1992), *Cancer Res.* 52, 6741 – 6745.
21. Kitajima I., Shinohara T., Bilakovics J., Brown D. A., Xu X., Nerenberg M., (1992), *Science*, 258, 1792 – 1795.
22. Simons M., Edelman E. R., deKeyser J. L., Langer R., Rosenberg R. D., (1992), *Nature*, 359, 67 – 70.
23. Speir E., Epstein S. E., (1992), *Circulation*, 86, 538 – 547.
24. Morishita R., Gibbons G. H., Ellison K. E., Nakajima M., Zhang L., Kaneda Y., Ogihara T., Dzau V. J., (1993), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 8474-8478.
25. Chiasson B. J., Hooper M. L., Murphy P. R., Robertson H. A., (1992), *Eur. J. Pharmacol. Mol. Pharmacol.*, 227, 451-453.
26. Clarenc J. P., Degols G., Leonetti J. P., Milhaud P., Lebleu B., (1993), *Anticancer Drug Design.*, 8, 81 – 94.

27. Citro G., Perrotti D., Cucco C., d'Agnano Sacchi A., Zupi G., Calabretta B., (1992), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89, 7031 - 7035.
28. Juliano R. L., Akhtar S., (1992), Antisense Res & Development, 2, 165 - 176.
29. Gewirtz A. M., (1992), Ann. NY Acad Sci, 660, 178 - 187.
30. Skórski T., Nieborowska-Skórska M., Barletta C., Malaguarnera L., Szczylik C., Chen S-T., Lange B., Calabretta B., (1993), J. Clin. Invest., 92, 194 - 202.
31. Nieborowska-Skórska M., Nakashima M., Ratajczak M. Z., Stęplewski Z., Calabretta B., Skórski T., (1994), Folia Histochem Cytobiol., 32, 35 - 40.
32. Skórski T., Nieborowska-Skórska M., Campbell K., Iozzo R. V., Zon G., Darzynkiewicz Z., Calabretta B., (wysłane do druku).

The perspectives of antisense strategy application in the clinical medicine

Summary

In this review paper the different aspects and perspectives of antisense strategy applications in clinical medicine are discussed.

Key words:

antisense oligomers, oncogenes, cancer therapy.

Adres dla korespondencji:

Mariusz Z. Ratajczak, University of Pennsylvania, Department of Pathology and Medicine, 515 BRB-1, 422 Curie Blvd., Philadelphia, PA 19 104, USA.