

Transformacja nowotworowa komórek jest wynikiem mutacji protoonkogenów i powstania onkogenów, których ekspresja prowadzi do nadmiernej i rozregulowanej syntezy białek regulujących wzrost, podział i różnicowanie się komórek lub powstawania tychże białek o zmienionych właściwościach. Poznanie genomu ludzkiego, a ściślej sekwencji poszczególnych onkogenów, stworzyło nowe możliwości ingerencji w syntezę białek, bowiem ich skład aminokwasowy związany jest ściśle z sekwencją nukleotydów w DNA i mRNA. Jak wiadomo, tak długo, jak długo kodująca nić DNA: nić sens jest połączona ze swoją nicią komplementarną (czyli nicią antysens), tak długo niezależnie od treści zapisu nie jest on przepisany na mRNA. Oznacza to, że nić antysens blokuje nić sens. To zjawisko leży u podłoża prób wykorzystania krótkich kawałków DNA o sekwencji antysens zarówno do blokowania DNA, jak i mRNA. Dodatkowo modyfikacja chemiczna cząsteczki takich oligonukleotydów umożliwiła ich oporność na enzymy rozkładające, a umieszczenie w liposomie ułatwiło penetrację do wnętrza komórki. Zastosowanie oligonukleotydów antysensowych wiążących się swoiście z wybranymi odcinkami mRNA hamuje ekspresję genu uniemożliwiając syntezę kodowanego przez niego białka. Tym samym, oligonukleotydy antysens blokujące przekaz onkogenu mogą zneutralizować skutki jego istnienia. Działanie oligonukleotydów antysensowych skierowanych przeciwko wielu onkogenom znanym z komórek ludzkich poddawane jest obecnie badaniom. W artykule przedstawiono zasadę działania i możliwości wynikające z hamowania ekspresji genów *bcl-2*, *ras*, *raf* i genu kinazy białkowej *C*.

Słowa kluczowe: antysensy, oligonukleotydy, onkogeny.

# Hamowanie onkogenów za pomocą oligonukleotydów antysensowych jako metoda terapii nowotworów

*Oncogenes inhibition with the use of antisense oligonucleotides as a new method of cancer treatment*

Daria Nurzyńska

Katedra i Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej w Warszawie

## WSTĘP

Cykl życiowy komórek podlega złożonej regulacji, w której bierze udział wiele białek odpowiedzialnych za przekazywanie sygnałów zewnątrzkomórkowych za pośrednictwem cytokin i ich receptorów do wnętrza komórek i ich jądra, w którym czynniki transkrypcyjne umożliwiają syntezę swoistych mRNA, a te po przeniknięciu do cytoplazmy umożliwiają syntezę kolejnych cząsteczek białkowych. Budowa wszystkich białek zapisana jest w obrębie kodujących je genów za pomocą sekwencji zasad tworzących nici DNA (A – adenina, T – tymidyna, G – guanina, C – cytozyna). Cząsteczka DNA zbudowana jest z dwóch nici tworzących helisę, w której obydwie nici połączone są wiązaniami wodorowymi utworzonymi pomiędzy zasadami, które łączą się zawsze w pary A-T, C-G. W procesie transkrypcji informacja zakodowana w DNA przepisana jest na nić RNA, dzięki zjawisku komplementarności zasad. Ponieważ cząsteczka DNA składa się z dwóch nici, muszą one ulec rozłączeniu, aby umożliwić transkryp-

cję. Powstała cząsteczka matrycowego RNA zawiera zatem taki sam skład zasad (wyjątkiem jest U – uracyl zamiast T – tymidyny, który łączy się zamiast niej z A – adeniną), jak nić, która nie została przepisana. Ponieważ ta właśnie sekwencja zasad posłuży następnie do syntezy białek w procesie translacji, zawierająca ją nić DNA nazywana jest nicią sensową. Druga nić DNA zawierająca nukleotydy komplementarne (ale nie identyczne) nazywana jest nicią antysensową. Dzięki swojej sekwencji zasad może ona wiązać się z drugą nicią, tworząc helisę DNA, oraz z nicią mRNA. Synteza białek przebiega na matrycy mRNA przy udziale rybosomów, a skład i kolejność aminokwasów zależy bezpośrednio od sekwencji zasad, zgodnie z regułą, według której odpowiednim tercetom zasad (kodonom) odpowiadają określone aminokwasy (ryc.).

## HISTORIA ODKRYCIA

W roku 1977 Paterson, Roberts and Kuff po raz pierwszy opublikowali wyniki obserwacji, z których wynikało, że ekspresja genu (syn-

*Neoplastic transformation of the cell is the result of the protooncogene mutation resulting in the formation of an oncogene whose expression results in increased or deregulated production or malfunction of proteins regulating cell growth, proliferation and maturation. Elucidation of important facts concerning the human genome, and in particular an oncogene nucleotide sequence has opened new possibilities of interception of protein synthesis due to the fact, that their aminoacid sequence is determined by the sequence of nucleotides, comprising DNA and mRNA. It is known, that as long as coding DNA strand (sens strand) is combined with its complementary strand (i.e. antisense strand) then independently of the (normal or mutated) sequence it cannot be transcribed to mRNA. Therefore, the antisense strand blocks the sens strand. This phenomenon forms the background for the attempts of the therapeutic use of antisense oligonucleotides for blocking both DNA and mRNA. Additionally, chemical modification of such oligonucleotides increased their resistance to intracellular degrading enzymes while encapsulation in liposomes allowed for better penetration into cells. Utilisation of antisense oligonucleotides binding specifically to selected mRNAs blocks gene expression and prevents the synthesis of the protein coded by that gene. Thus, antisense oligonucleotides blocking the oncogene message can neutralize consequences of the existence of this oncogene. The activity of antisense oligonucleotides against several human oncogenes is currently under study. This article reviews known mechanisms of action and expectations associated with the inhibition of just a few of them: bcl-2, ras, raf and protein kinase C gene.*

*Key words: antisenses, oligonucleotides, oncogenes.*

teza białka) może ulec zahamowaniu za pomocą egzogenego fragmentu jednoniciowego DNA komplementarnego do sekwencji mRNA [1]. Rok później Paul Zamecnik i Mary Stephenson, dodając do hodowli kurzych fibroblastów 13-nukleotydowy fragment DNA komplementarny do RNA wirusa mięsaka Rousa oraz samego wirusa, uzyskali zahamowanie powstawania nowych cząsteczek wirusa i transformacji mięsakowej komórek kurzych [2]. Były to pierwsze dane świadczące o możliwości zahamowania syntezy białek za pomocą egzogenych syntetycznych oligonukleotydów o specyficznej sekwencji. Obecnie wiadomo, że antysensowy fragment DNA hamuje funkcję mRNA związaną z syntezą białek, powodując destrukcję nici przy udziale H-RNazy rozpoznającej dwuniciowe fragmenty mRNA-oligonukleotyd antysensowy [3].

Dalszy postęp i badania nad zastosowaniem odkryć następowały powoli, ze względu na ograniczone możliwości dostarczania jednoniciowego DNA do komórek eukariotycznych, trudności związanych z syntetyzowaniem oligonukleotydów zdolnych wiązać się z komplementarnymi odcinkami w temp. 37°C oraz niedostatecznej znajomości sekwencji ludzkiego genomu. Pierwszy problem związany z obecnością wewnątrzkomórkowych nukleaz został rozwiązany dzięki modyfikacji budowy oligonukleotydów, polegającej na zamianie wiązania fosfodiesterowego na fosforosiarkowe. Przenikanie przez błony komórkowe okazało się możliwe dzięki opakowaniu oligonukleotydów w liposomy [4]. Dalsze odkrycia efektywnych metod sekwencjonowania DNA i syntezy oligonukleotydów, wreszcie zbliżanie się do poznania sekwencji ludzkiego genomu, spowodowały gwałtowny wzrost zainteresowania antysensowymi fragmentami DNA, czyniąc je związkami o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym, prze-

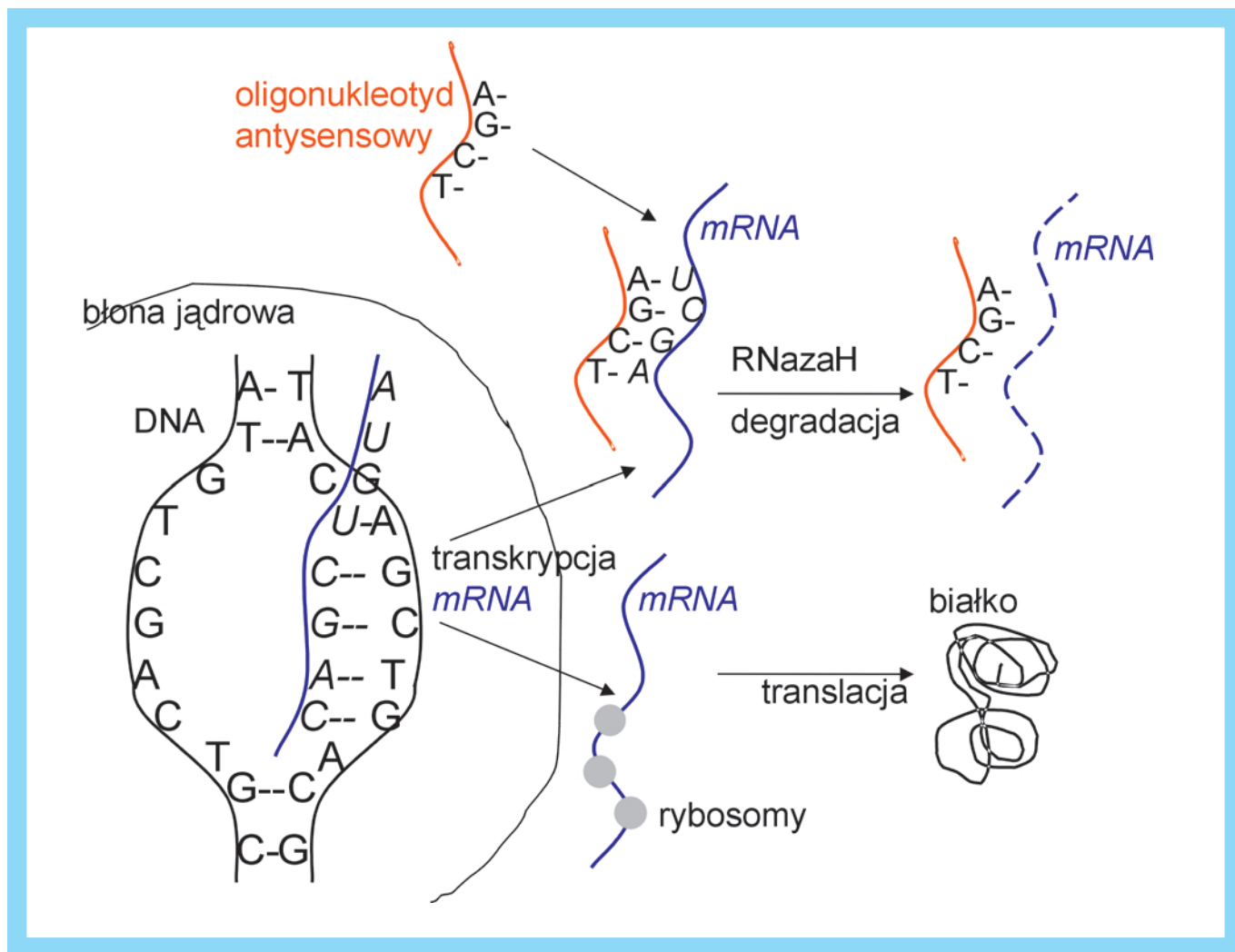
ciwzapalnym, czy przeciwwirusowym, opartym na specyficznym blokowaniu syntezy białek w mechanizmie związanym z komplementarnością zasad kwasów nukleinowych opisaną przez Watsona i Cricka w 1953 r.

## **HAMOWANIE EKSPRESJI ONKOGENÓW**

Znajomość szlaków przekazywania do wnętrza komórek sygnałów związanych z ich dojrzewaniem i proliferacją za pośrednictwem cytokin, ich receptorów i kaskady białek cytoplazmatycznych do jądra komórkowego oraz czynników transkrypcyjnych w samym jądrze stwarza potencjalne możliwości wpływania na te procesy i wykorzystania tego wpływu w celu zahamowania proliferacji komórek nowotworowych [5, 6]. Cechą transformacji nowotworowej komórki jest bowiem nadmierna i niekontrolowana aktywacja białek będących produktami onkogenów, a więc białek odpowiadających za przebieg cyklu komórkowego. Terapia antysensowa pozwala na ingerencję w działanie tych białek już na najwcześniejszym etapie ich powstawania, czyli na etapie syntezy z matrycowej nici RNA.

### **BCL-2**

Jednym z pierwszych oligonukleotydów, którego przeciwnowotworowe działanie oceniono w badaniach klinicznych, skierowany jest przeciwko syntezie białka BCL-2. Pełni ono funkcję inhibitora apoptozy komórek, blokując aktywację kaspaz i ulega nadekspresji w większości przypadków chłoniaków grudkowych, w niektórych przypadkach rozlanych chłoniaków z dużych komórek B i w przewlekłej białaczce limfatycznej oraz w 90 proc. przypadków czerniaka, przyczyniając się nie tylko do powstania nowotworów, ale także do ich oporności na chemioterapię [7]. W trakcie badań klinicznych I fazy oligonukleotyd G3139 kom-



**Ryc. Reguła komplementarności zasad tworzących kwasy nukleinowe leży u podstawy syntezy białek (dolna część rysunku) i działania oligonukleotydów antysensownych (górna część rysunku)**

plementarny do pierwszych sześciu kodonów mRNA dla BCL-2 podawany był w różnych dawkach 21 pacjentom z nawrotowym chłoniakiem nieziarniczym w postaci 14-dniowego wlewu podskórnego. Do działań niepożądanych ograniczających wysokość dawki należała małopłytkowość, hipotensja, gorączka i ogólne osłabienie. W czasie terapii zanotowano jedną remisję całkowitą, dwa przypadki odpowiedzi częściowej, u dziewięciu pacjentów stabilizację choroby i również u dziewięciu jej progresję. Zawartość BCL-2 w komórkach uległa zmniejszeniu u 7 z 16 podlegających ocenie pacjentów, średnio o 24 proc. Nie zmieniła się natomiast ekspresja HLA, którą oceniano w celu potwierdzenia swoistości działania antysensu [8]. Trzydzie-

stu pięciu pacjentów brało udział w innym badaniu I fazy, w którym stosowano dożylny wlew ciągły trwający 14 lub 21 dni. Najwyższej podawanej dawce (6,9 mg/kg/dobę) towarzyszyło osłabienie i przejściowe zwiększenie stężenia transaminaz osiągające stopień III po 7 dniach wlewu. Badania farmakokinetyczne wykazały, że stałe stężenie leku we krwi uzyskano po 10 godz. od rozpoczęcia wlewu w wysokości zależnej wprost proporcjonalnie od dawki. Z danych tych wynika możliwość i konieczność stosowania schematów, w których wlew leku trwa optymalnie długo (7 mg/kg/dobę przez 5–7 dni) [9].

Prowadzono także badania I i II fazy nad działaniem G3139 w połączeniu z chemioterapeutykami, takimi jak docetaksel (u pacjentów

z zaawansowanym rakiem piersi [10] i opornym na hormonoterapię rakiem prostaty [11]), mitoksantron (w opornym na hormonoterapię raku prostaty [12]), irinotekan (w zaawansowanym lub nawrotowym raku jelita grubego). Jansen i wsp. przedstawili wyniki badania I/II fazy, w którym uzyskano chemio-wrażliwość komórek czerniaka stosując skojarzenie dakarbazyny z antysensem BCL-2 u 14 pacjentów z progresją choroby i przerzutami pomimo dotychczasowego leczenia, wśród których uzyskano jedną całkowitą i dwie częściowe remisje oraz stabilizację choroby w trzech przypadkach [13]. Trwają lub zakończono niedawno badania III fazy nad skojarzeniem G3139 z dakarbazyną w terapii czerniaka, z deksametazonem w szpiczaku mnogim, fludarabiną

i cytarabiną w terapii opornej i nawrotowej przewlekłej białaczki limfatycznej [14]. Badania fazy III tego oligonukleotydu w przewlekłej białaczce limfatycznej i czerniaku złośliwym są prowadzone z udziałem polskich ośrodków.

## RAS i RAF

Jednymi z najlepiej poznanych białek uczestniczących w przekazywaniu sygnałów zewnątrzkomórkowych do jądra komórkowego są białka RAS, wpływające na aktywację pośredniczącej w tym procesie kaskady białek o aktywności kinaz, w tym białek RAF. Onkogen *ras* podlega mutacjom prowadzącym do nowotworzenia znacznie częściej niż jakikolwiek inny znany onkogen w komórkach człowieka. Mutacje w obrębie *ras* stwierdza się w 95 proc. przypadków raka trzustki, 50 proc. raka jelita grubego, 30 proc. raka płuca (zwłaszcza niedrobnokomórkowego). Skutkiem nadmiernej aktywacji lub nadekspresji białka RAS jest m.in. aktywacja kolejnego ogniwa łańcucha białek przekaznikowych – białka RAF [5]. Stały się one zatem kolejnym celem terapii przeciwnowotworowej z zastosowaniem antysensów blokujących ich syntezę.

ISIS 5132, będący antysensowym oligonukleotydem komplementarnym do sekwencji *c-raf* mRNA, hamuje wzrost komórek nowotworowych w hodowli oraz *in vivo*, czemu towarzyszy zmniejszenie ekspresji białka RAF. Badania I fazy przeprowadzono u pacjentów z zaawansowaną chorobą nowotworową, którym podawano lek w dożylnym wlewie w różnych dawkach i schematach. Podanie leku w postaci 2-godzinnej wlewu 3 razy w tyg. przez 3 tyg., w dawkach od 0,5 do 6,0 mg/kg, pozwalało na uzyskanie stabilizacji choroby u 2 spośród 31 pacjentów, powodując jedynie gorączkę i osłabienie, które jednak nie były przyczyną ograniczenia

dawki [15]. W czasie ciągłego wlewu trwającego 21 dni co 4 tyg. gorączka ograniczająca zwiększenie dawki wystąpiła przy 5,0 mg/kg, obserwowano ponadto trombocytopenię III i IV<sup>o</sup> (3 pacjentów spośród 34) i leukopenię III<sup>o</sup> (1/34) bez neutropenii [16]. Trzeci ze schematów podawania polegał na powtarzonym w odstępach tygodniowych całodobowym wlewie. Maksymalna tolerowana dawka osiągnęła 24 mg/kg/tydz., ale w trakcie terapii nie uzyskano całkowitej, ani nawet częściowej remisji u żadnego z pacjentów [17]. Dane takie wskazują na konieczność częstszego niż raz w tygodniu podawania antysensu, wynikającą z krótkiego okresu półtrwania. W dotychczas przeprowadzonych badaniach II fazy nie wykazano skuteczności leku w terapii raka jajnika (nie uzyskano obiektywnych odpowiedzi u żadnej spośród 22 pacjentek otrzymujących dożylnie 21-dniowy wlew w dobrze tolerowanej dawce 4 mg/kg co 4 tyg.) [18]. Trwają badania u pacjentów m.in. z drobnokomórkowym i niedrobnokomórkowym rakiem płuca, rakiem jelita grubego i prostaty.

Składający się z 20 zasad oligonukleotyd wiążący się z fragmentem mRNA inicjującym translację *ras* (ISIS 2503) okazał się w istotny i selektywny sposób zmniejszać ekspresję *ras*-mRNA i białka RAS w hodowli komórek. W badaniu I fazy podawanie leku w cotygodniowym wlewie całodobowym w dawce od 3 do 18 mg/kg wiązało się z wystąpieniem pokrzywki (1 przypadek/13 pacjentów) i zespołu hemolityczno-mocznicowego (1/13) u pacjentów otrzymujących najwyższą dawkę leku. Tylko u jednego pacjenta obserwowano stabilizację choroby, u pozostałych następowała progresja [19]. U 11 pacjentów uczestniczących w kolejnym badaniu I fazy oceniano toksyczność leczenia z zastosowaniem ISIS 2503 w dawce początkowo 4 mg/kg/do-

bę, zwiększonej następnie do 6 mg/kg/dobę w ciągłym wlewie 14-dniowym, w skojarzeniu z gemcytabiną 1 000 mg/m<sup>2</sup> w dniu 1. i 8. Toksyczność hematologiczna polegała na neutropenii stopnia III lub IV i trombocytopenii stopnia III wg NCI CTC [20]. Badania II fazy obejmują pacjentów z zaawansowanym rakiem jelita grubego (17 pacjentów, 2 przypadki stabilizacji choroby), niedrobnokomórkowym rakiem płuca (20 pacjentów, 7 przypadków stabilizacji choroby w ciągu 2 mies. ze średnim przeżyciem 3,8 mies.) i rakiem trzustki (16 pacjentów, stabilizacja choroby w 2 przypadkach) [21–23]. Wstępne wyniki badań podkreślają dobrą tolerancję leczenia, niestety, przy umiarkowanej jego skuteczności.

## Kinaza białkowa C

Innym celem terapii przeciwnowotworowej jest kinaza białkowa C alfa, należąca do kinaz serynowo-treoninowych, występująca we wszystkich komórkach eukariotycznych i odpowiadająca za fosforylację szeregu białek przekaznikowych w odpowiedzi na czynniki wzrostu, hormony i neurotransmitery. Jej znaczenie w nowotworzeniu podkreśla fakt, że jest głównym wewnątrzkomórkowym receptorem forboestrów, będących znanym czynnikiem rakotwórczym [3]. Oligonukleotyd składający się z 20 zasad blokujący komplementarną sekwencję w mRNA odpowiedzialnym za translację kinazy białkowej C (ISIS 3521) podawano w badaniu I fazy w ciągłym 21-dniowym wlewie dożylnym 21 pacjentom w dawkach od 0,5 do 3,0 mg/kg/dobę. Maksymalna tolerowana dawka wyniosła 2,0 mg/kg/dobę, a jej zwiększanie powodowało trombocytopenię i osłabienie. U 3 spośród 4 pacjentek z rakiem jajnika stwierdzono obiektywną odpowiedź trwającą do 11 mies. [24]. Niewielką tylko lub znikomą aktywność

omawianego antysensu obserwowano w badaniach II fazy w monoterapii u pacjentów z zaawansowanym rakiem jelita grubego, z opornym na hormonoterapię rakiem prostaty lub z przerzutami czerniaka. W badaniu I/II fazy, w którym ISIS 3521 podawano w połączeniu z karboplatiną i paklitaksemem, pacjentom z niedrobnokomórkowym rakiem płuca w stadium IIIB i IV, u 46 proc. stwierdzono częściową remisję, a u 33 proc. obiektywną odpowiedź lub stabilizację choroby. Średni czas do progresji wynosił 6,5 mies., a średni czas przeżycia 18 mies. z przeżyciem 1-miesięcznym w wysokości 78 proc., w porównaniu z typowym średnim przeżyciem pacjentów leczonych standardową chemioterapią wynoszącym 8 mies. [25]. Zachęcające wyniki powyższego badania przyczyniły się do rozpoczęcia próby klinicznej III fazy, porównującej wyniki leczenia niedrobnokomórkowego raka płuc karboplatiną i paklitaksemem z terapią z zastosowaniem karboplatyny, paklitakselu i ISIS 3521 oraz równolegle przeprowadzanego badania z gemcytabiną w monoterapii oraz w połączeniu z ISIS 3521.

## DZIAŁANIE NIESPECYFICZNE

Badania kliniczne nad zastosowaniem terapii antysensowej doprowadziły do zarejestrowania w Stanach Zjednoczonych pierwszego leku o takim mechanizmie działania. Jest nim formivirsen skierowany przeciwko mRNA białka CMVIE2 cytomegalowirusa, z którego syntezą związane jest m.in. zapalenie siatkówki u osób z nabytym upośledzeniem odporności w przebiegu zakażenia HIV. Lek podawany jest miejscowo za pomocą wstrzyknięć do ciała szklistego gałki ocznej. Systemowe podawanie antysensów w badaniach *in vivo* przeprowadzanych u zwierząt i ludzi było na ogół dobrze tolerowane. Poza opisanymi

powyżej, obserwowano m.in. zwiększenie stężenia transaminaz wątrobowych oraz aktywację dopełniacza i przedłużenie czasu kaolinowo-kefalinowego, co świadczy o tym, że działanie oligonukleotydów nie jest ściśle swoiste [26]. Fosforosiarkowy szkielec stosowany w oligonukleotydach w celu uniknięcia wpływu nukleaz wewnątrzkomórkowych ma właściwości immunostymulujące, podobnie jak obecność niemetylowanych dwunukleotydów CG w sekwencji GTCGTT. Ten mechanizm immunostymulacji stanowi powstały w czasie ewolucji naturalny etap odpowiedzi przeciwniekcyjnej, polegający na wykrywaniu DNA bakteryjnego, w którym wspomniane dwunukleotydy występują, w przeciwieństwie do komórek kręgowców, w postaci niemetylowanej. Indukowana za ich pośrednictwem aktywacja komórek odpornościowych może być wykorzystana w terapii, a ich obecność w syntetycznych oligonukleotydach o właściwościach antysensowych może przyczyniać się do ich efektu przeciwnowotworowego w innym, niż zakładany, mechanizmie działania [3]. Fakt posiadania przez oligonukleotydy ładunku ujemnego (są one polianionami) jest przyczyną wiązania się ich z różnymi białkami (a nie mRNA) w sposób zależny od ładunku. Stwarza to nowe możliwości wykorzystania tych cząsteczek w celu hamowania aktywności enzymatycznej białek, np. trombiny, czy białek wiążących się z heparyną [27].

## PODSUMOWANIE

Terapia antysensowa stanowi jedną ze strategii poszukiwania nowych leków przeciwnowotworowych. Jej mechanizm działania, pomimo opisanych wątpliwości, stwarza szansę na wybiórczość działania w stosunku do białek będących produktami określonych onkogenów. W przeprowadzanych dotychczas badaniach klinicznych ich zastosowanie w monoterapii

pozwalало przeważnie na uzyskanie stabilizacji choroby, tylko w niewielu przypadkach powodując jej remisję. Połączenie z tradycyjnymi chemioterapeutykami stwarza szansę na poprawę wyników leczenia. Należy oczekiwać na zakończenie i opublikowanie wyników badań III fazy, które mogą przyczynić się do zarejestrowania i wprowadzenia do kliniki kolejnych leków o nowym mechanizmie działania.

## PIŚMIENNICTWO

1. Paterson BM, Roberts BE, Kuff EL. *Structural gene identification and mapping by DNA-mRNA hybrid-arrested cell-free translation*. Proc Natl Acad Sci 1977; 74: 4370-4.
2. Zemeckik PC, Stephenson ML. *Inhibition of Rous sarcoma virus replication and transformation by a specific oligodeoxynucleotide*. Proc Natl Acad Sci 1978; 75: 280-4.
3. Tamm I, Dörken B, Hartmann G. *Antisense therapy in oncology: new hope for an old idea?* Lancet 2001; 358: 489-97.
4. Leonetti C, Biroccio A, Benassi B, et al. *Encapsulation of c-myc antisense oligodeoxynucleotides in lipid particles improves antitumoral efficacy in vivo in human melanoma line*. Cancer Gene Ther 2001; 8 (6): 459-68.
5. Nurzyńska D, Deptała A. *Związki hamujące przekazywanie sygnałów w komórkach ze szczególnym uwzględnieniem terapii ostrej białaczki szpikowej*. Wsp Onkol 2001; 5 (4): 136-9.
6. Jędrzejczak WW, Nurzyńska D. *Inhibitory produktów onkogenów w leczeniu nowotworów*. Pol Archiw Med Wew 2002; 5 (5): 461-67.
7. Reed JC. *Regulation of apoptosis by bcl-2 family proteins and its role in cancer and chemoresistance*. Curr Opin Oncol 1995; 7: 541-6.
8. Waters JS, Webb A, Cunningham D, et al. *Phase I clinical and pharmacokinetic study of bcl-2 antisense oligonucleotide therapy in patients with non-hodgkin's lymphoma*. J Clin Oncol 2000; 18: 1812-23.
9. Morris MJ, Tong WP, Cordon-Cardo C, et al. *Phase I trial of BCL-2 antisense oligonucleotide (G3139) administered by continuous intravenous infusion in patients with advanced cancer*. Clin Cancer Res 2002; 8 (3): 679-83.

10. Chen HX, Marshall JL, Trocky N, et al. *A phase I study of bcl-2 antisense G3139 (GENTA) and weekly docetaxel in patients with advanced breast cancer and other solid tumours.* Proc Am Soc Clin Oncol 2000; 19: 178(a).
11. Tolcher AW, Kuhn J, Basler J, et al. *A phase I pharmacokinetic and biologic correlative study of G3139 (Bcl-2 antisense oligonucleotide) and Docetaxel in patients with hormone-refractory prostate cancer.* Clin Canc Res 2000; 6 (suppl): 4571 (a).
12. Chi KN, Gleave ME, Klasa R, et al. *A phase I trial of antisense oligonucleotide to bcl-2 (G3139, Genta) and mitoxantrone in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer.* Proc Am Soc Clin Oncol 2000; 19: 330 (a).
13. Jansen B, Wacheck V, Heere-Ress E, et al. *Chemosensitisation of malignant melanoma by BCL-2 antisense therapy.* Lancet 2000; 356: 1728-33.
14. Flaherty KT, Stevenson JP, O'Dwyer J. *Antisense therapeutics: lessons from the early clinical trials.* Curr Op Oncol 2001; 13: 499-505.
15. Stevenson JP, Yao KS, Gallagher M, et al. *Phase I clinical/pharmacokinetic and pharmacodynamic trial of the c-raf-1 antisense oligonucleotide ISIS 5132 (CGP 69846A).* J Clin Oncol 1999; 17: 2227-36.
16. Cunningham CC, Holmlund JT, Schiller JH, et al. *A phase I trial of c-Raf kinase antisense oligonucleotide ISIS 5132 administered as a continuous intravenous infusion in patients with advanced cancer.* Clin Cancer Res 2000; 6: 1626-31.
17. Rudin CM, Holmlund JT, Fleming GF, et al. *Phase I trial of ISIS 5132, an antisense oligonucleotide inhibitor of c-raf-1, administered by 24-hour weekly infusion to patients with advanced cancer.* Clin Cancer Res 2001; 7 (5): 1214-20.
18. O'Dwyer PJ, Stevenson JP, Gallagher M i wsp. *c-raf-1 depletion and tumor responses in patients treated with the c-raf-1 antisense oligonucleotide ISIS 5132 (CGP 69846A).* Clin Canc Res 1999; 5: 3977-82.
19. Gordon MS, Sandler AB, Holmlund JT, et al. *A phase I trial of ISIS 2503, an antisense inhibitor of H-ras, administered by 24-hour weekly infusion to patients with advanced cancer.* Proc Am Soc Clin Oncol 1999; 604.
20. Adiei AA, Erlichman C, Sloan JA, et al. *A phase I trial of ISIS 2503, an antisense inhibitor of H-ras in combination with gemcytabine in patients with advanced cancer.* Proc Am Soc Clin Oncol 2000; 722.
21. Saleh M, Posey J, Pleasant L, et al. *A phase I trial of ISIS 2503, an antisense inhibitor of H-ras, as first line therapy for advanced colorectal carcinoma.* Proc Am Soc Clin Oncol 2000; 1258.
22. Dang T, Johnson DH, Kelly K, et al. *Multicenter phase II trial of an antisense inhibitor of H-ras (ISIS 2503) in advanced non-small cell lung cancer.* Proc Am Soc Clin Oncol 2001; 1325.
23. Perez RP, Smith III JW, Alberts SR, et al. *Phase II trial of ISIS 2503, an antisense inhibitor of H-ras in patients with advanced pancreatic carcinoma.* Proc Am Soc Clin Oncol 2001; 628.
24. Yuen AR, Halsey J, Fisher GA, et al. *Phase I study of an antisense oligonucleotide to protein kinase C-alpha (ISIS 3521/CGP 64128A) in patients with cancer.* Clin Cancer Res 1999; 5 (11): 3357-63.
25. Yuen A, Advani R, Fisher G, et al. *A phase I/II trial of ISIS 3521, an antisense inhibitor of protein kinase C alpha, combined with carboplatin and paclitaxel in patients with non-small cell lung cancer.* Proc Am Soc Clin Oncol 2000; 19: 459a.
26. Lebedeva I, Stein CA. *Antisense oligonucleotides: promise and reality.* Annu Rev Pharmacol Toxicol 2001; 41: 403-19.
27. Bonn D. *Prospects for antisense therapy are looking brighter.* Lancet 1996; 347: 820-22.

**ADRES DO KORESPONDENCJI**lek. **Daria Nurzyńska**Katedra i Klinika Hematologii,  
Onkologii i Chorób Wewnętrznych  
Akademia Medyczna SP CSK  
ul. Banacha 1a  
02-097 Warszawa**KOMUNIKAT • KOMUNIKAT****PORADNIA  
LECZENIA BÓLU****(Zespół Poradni  
Specjalistycznych)  
Samodzielnego  
Publicznego  
Szpitala Klinicznego nr 2****60-355 Poznań  
ul. Przybyszewskiego 49,  
wejście E  
tel. 0 (prefiks)61 869 17 45  
lub 869 12 44****świadczy usługi  
w ramach umowy  
z Wielkopolską  
Regionalną  
Kasą Chorych****w zakresie:**

- bólu ostrego,**
- bólu przewlekłego,  
w tym bólu  
nowotworowego**

**Przyjęcia:  
poniedziałek  
10.00–14.30  
wtorek 13.00–17.00  
czwartek 8.00–12.30**