

# Terapia genowa i jej zastosowanie w leczeniu nowotworów ginekologicznych

## Gene therapy applications in gynecologic malignances management

Gromadzka Agnieszka\*, Kubiczak Marta\*, Jankowska Anna

Katedra i Zakład Biologii Komórki, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Rokietnicka 5D, 60-806 Poznań

\* Autorki w równym stopniu uczestniczyły w przygotowaniu artykułu

### Streszczenie

*Terapia genowa jest innowacyjną formą leczenia, umożliwiającą usunięcie bądź skorygowanie defektu genetycznego. Otwiera nowe możliwości leczenia chorób nowotworowych, do których powstania prowadzą m.in. liczne defekty genetyczne.*

*W celu specyficznego usunięcia komórek nowotworowych wykorzystuje się różne metody, które można sprowadzić do pięciu głównych strategii: kompensacji efektu mutacji, hamowania ekspresji zmutowanego genu, terapii antyangiogennej, wykorzystania genów samobójczych do eliminacji komórek nowotworowych oraz immunoterapii genetycznej.*

*W niniejszej pracy przedstawiono aktualny stan badań nad wykorzystaniem terapii genowej w leczeniu nowotworów kobiecych narządów płciowych.*

Słowa kluczowe: **rak / terapia genowa / terapia antyangiogenna / siRNA /  
/ terapia genami samobójczymi / terapia proapoptotyczna / immunoterapia /**

### Abstract

*Gene therapy is an innovative way of treating genetic disorders, which enables removal or repair of genetic defects. Strategies of gene therapy offer new perspectives in treating cancer diseases.*

*Numerous methods for specifically removing tumor cells are currently used. They can be divided into five main strategies: compensation of mutation effect using repression of mutated gene expression, antiangiogenic therapy, and suicidal genes to eliminate tumor cells or genetic immunotherapy.*

*In the following work actual research status on gene therapy of gynecologic malignances has been presented.*

Key words: **gene therapy / antiangiogenic agents / siRNA / transgenic suicide gene /  
/ proapoptotic therapy / immunotherapy /**

### Adres do korespondencji:

Anna Jankowska  
Katedra i Zakład Biologii Komórki, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu,  
60-806 Poznań, ul. Rokietnicka 5D,  
tel. 61 854 64 60; fax. 61 854 64 71  
e-mail: ajanko@amp.edu.pl

Otrzymano: 30.08.2009  
Zaakceptowano do druku: 10.12.2009

## Wstęp

Terapia genowa jest eksperymentalną metodą stwarzającą możliwości leczenia chorób niepoddających się dotychczasowym metodom terapeutycznym poprzez dotarcie do ich przyczyn – mutacji w genomie. Strategia terapii genowej polega na zastąpieniu wadliwego genu jego prawidłową kopią (gen terapeutyczny) lub na wyłączeniu uszkodzonego genu poprzez zablokowanie jego ekspresji.

Wprowadzenie terapeutycznego genu lub cząsteczek hamujących ekspresję zmutowanych genów do komórek docelowych, w których doszło do defektu genetycznego umożliwiając specyficzne nośniki DNA. Obecnie najbardziej skutecznymi nośnikami są wektory wirusowe, w których część genów wirusowych zastępuje się genem terapeutycznym. Wybór i przygotowanie komórek docelowych zależy głównie do rodzaju schorzenia podlegającego terapii.

W nowotworach dochodzi do mutacji tak wielu genów, że korekta zmienionego genomu jest niemożliwa. Stąd, zamiast naprawiać wadliwie działające geny, w terapii genowej stosuje się raczej strategię umożliwiającą wybiórczą eliminację komórek z uszkodzonymi genami. Strategie te obejmują:

- genetyczną modyfikację komórek nowotworowych poprzez zahamowanie ekspresji zmutowanego genu,
- terapię antyangiogenną,
- molekularną chemioterapię z zastosowaniem tzw. genów samobójczych,
- genetyczną immunoterapię oraz
- proapoptotyczną terapię genową, prowadzącą do indukcji apoptozy w komórkach nowotworu [1].

Celem niniejszej pracy jest charakterystyka i przedstawienie przykładów strategii terapii genowych wykorzystywanych w leczeniu nowotworów, w tym nowotworów kobiecych narządów płciowych.

## Hamowanie ekspresji genu z wykorzystaniem niskocząsteczkowego interferencyjnego RNA (siRNA)

W 1998 roku Fire i współpracownicy wykazali istnienie dodatkowego potranskrypcyjnego mechanizmu regulacji ekspresji genów w komórkach nicienia *Caenorhabditis elegans* [2]. Opisany przez nich fenomen interferencyjnych RNA – RNAi, których działanie obejmuje degradację mRNA przez specyficzne niskocząsteczkowe RNA (siRNA) o sekwencjach komplementarnych do niszczonego transkryptów, niemal natychmiast stał się jednym z ważniejszych narzędzi badawczych regulacji ekspresji genów [2, 3].

Możliwość zastosowania cząsteczek siRNA w terapii genowej nowotworów jest obecnie przedmiotem licznych badań. Jedne z pierwszych, dotyczące wykorzystania siRNA w terapii nowotworów ginekologicznych przeprowadzono na mysiej linii komórkowej ID8, będącej modelem raka jajnika. Użyty w doświadczeniach *in vitro* wektor kodował cząsteczki siRNA skierowane przeciwko naczyniowo-śródbłonkowemu czynnikowi wzrostu – VEGF (*vascular endothelial growth factor*). Uzyskane wyniki pokazały, że przejściowa ekspresja siRNA obniża aktywność docelowego genu o 42,7% [4].

Obniżenie ilości mRNA proangiogennego czynnika VEGF uniemożliwia powstawanie nowych naczyń krwionośnych

a przez to hamuje wzrost guza, co daje nadzieję na wykorzystanie siRNA w antyangiogennej terapii nowotworów.

W innych doświadczeniach cząsteczki siRNA zastosowano w celu zahamowania ekspresji genu *MDR1* (*multidrug resistance gene*), kodującego glikoproteinę P odpowiedzialną za zjawisko oporności wielolekowej [5]. Supresja genu *MDR1* w ludzkiej linii komórkowej raka piersi MCF-7 korelowała z obniżeniem oporności wielolekowej [6, 7]. Glikoproteina P ulega ekspresji w większości ludzkich nowotworów, stąd zahamowanie jej produkcji zwiększające wrażliwość komórek neoplastycznych na działanie leków, podnosi wydajność leczenia i może mieć istotne znaczenie w terapii antynowotworowej.

siRNA wykorzystano także w celu zablokowania genu *Hec1* (*highly expressed in cancer gene 1*) w dwóch liniach komórkowych raka jajnika HEY i SKOV3. Komplementarne do mRNA badanego genu cząsteczki siRNA wprowadzono za pomocą dwóch wektorów adenowirusowych: AdHec1 i AdHec1F5/3. Zahamowanie ekspresji *Hec1* inicjowało w testowanych komórkach proces apoptozy. Indukcja apoptozy komórek nowotworowych może okazać się nowym potencjalnym narzędziem w walce z rakiem jajnika [8].

## Antyangiogenna terapia genowa

Angiogeneza jest złożonym procesem tworzenia nowych naczyń krwionośnych. Powstająca sieć naczyńowa okalając guz bezpośrednio dostarcza do niego substancje odżywcze, tlen, hormony oraz czynniki wzrostu, umożliwiając tym samym jego implantację oraz wzrost [9]. Głównym czynnikiem pobudzającym angiogenezę jest wspomniany powyżej VEGF [10-12].

Podwyższone stężenie VEGF stwierdza się w surowicy krwi pacjentek z rakami jajnika i szyjki macicy. Wykazano, że poziom ten koreluje z tempem rozwoju guza i niską przeżywalnością chorych [13, 14].

W chwili obecnej istnieje kilka strategii umożliwiających zahamowanie ekspresji genu *VEGF*. Jedną z nich jest zastosowanie wektorów wirusowych opartych na wirusach towarzyszących adenowirusom – AAV (*adeno-associated virus*) zawierających sekwencję kodującą rozpuszczalne receptory dla VEGF – sFLT-1 (*soluble fms-like tyrosine kinase 1-sFLT-1*). Do myszy, które uprzednio zaszczepiono ludzkimi komórkami raka jajnika linii SKOV-3, wprowadzono wektor AAV kodujący sFLT-1. Jego ekspresja prowadziła do związania VEGF, obniżenia poziomu tego czynnika wzrostu w surowicy krwi i zahamowania jego angiogennej działalności. U badanych myszy odnotowano inhibicję wzrostu guzów i zwiększoną przeżywalność [15].

Podobne rezultaty uzyskano z genem kodującym endostatynę (fragment kolagenu VIII). Wektory wirusowe AAV zawierające cDNA rekombinowanej endostatyny umożliwiły zahamowanie proliferacji komórek śródbłonka *in vitro* oraz zahamowanie rozwoju guza w mysich modelach ludzkiego raka jajnika i piersi [16, 17].

## Geny samobójcze

Terapia z zastosowaniem genów samobójczych polega na wprowadzeniu do komórek nowotworowych genu samobójczego, kodującego enzym przekształcający nietoksyczny pro-lek w substancję toksyczną, niszczącą komórki nowotworowe [18]. Zarówno w badaniach *in vitro* jak i *in vivo* najczęściej stosowanymi genami samobójczymi są geny kinazy tymidynowej wirusa

opryszczki (*HSV-tk*) i deaminazy cytozynowej *Escherichia coli* oraz gen cytochromu *P450 2B1* [19,20].

Gen kinazy tymidynowej *HSV-tk* wykorzystano w leczeniu raka jajnika oraz szyjki macicy. Kodowany przez niego enzym fosforyluje przeciwwirusowy lek gancyklowir (GCV), przekształcając go do monofosforanów. Te z kolei z udziałem kinaz komórkowych fosforylowane są do trójfosforanów – związków toksycznych dla dzielących się komórek [19, 21-23].

Pomimo niskiego prawdopodobieństwa zainfekowania genem samobójczym wszystkich komórek nowotworowych (wydajność „infekcji” *in vitro* i *in vivo* wynosi odpowiednio 10% i 50%), w poddanych terapii guzach obserwuje się wzrastającą liczbę martwych komórek nowotworowych [24]. Zaobserwowane zjawisko, nazwane efektem sąsiedztwa, związane jest z przekazywaniem toksycznych metabolitów z komórek, w których gen samobójczy ulega ekspresji do komórek sąsiednich, w których uruchomiony zostaje proces programowanej śmierci [19, 24].

Dla wzmocnienia efektu wywołanego przez geny samobójcze najczęściej stosuje się jednocześnie dwa typy proleków. Przykładem takiego połączenia jest wykorzystanie deaminazy cytozynowej oraz genu cytochromu *P450 2B1*. Wydajność takiej terapii jest znacznie wyższa niż zastosowanie osobno każdego z proleków [20].

## Immunoterapia genetyczna

Komórki nowotworowe to komórki własne organizmu różniące się jednak od komórek zdrowych cechami, dzięki którym mogą być rozpoznawane przez układ immunologiczny. Jedną z metod terapii genowej nowotworów dąży do zaangażowania własnego układu odpornościowego do walki z komórkami guza. Immunomodulacja układu odpornościowego jest obecnie wykorzystywana, jako terapia wspomagająca leczenie chirurgiczne, chemioterapię i radioterapię. W immunoterapii nowotworów wyróżnić można dwie główne strategie terapeutyczne. Pierwsza z nich, tzw. terapia pasywna polega na dostarczaniu do organizmu chorego określonych składników układu odpornościowego. Druga, zwana terapią aktywną, wykorzystuje szczepionki genetyczne specyficznie skierowane na antygeny nowotworowe, stymulujące układ odpornościowy przeciwko komórkom nowotworowym [26].

W immunomodulacji pasywnej do stymulacji odpowiedzi immunologicznej wykorzystuje się cytokiny i chemokiny. Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (*Food and Drug Administration – FDA*) zezwala obecnie na terapię antynowotworową opartą o użycie interleukiny 2 (IL-2). Interleukina 2 produkowana jest przez dojrzałe komórki T, po odebraniu sygnału od komórek prezentujących antygen (*antigene presenting cells – APC*). Ma wpływ na hamowanie proliferacji, zwiększenie zróżnicowania się komórek, inhibicję aktywacji onkogenów, czy angiogenezę. Mimo efektów ubocznych związanych z cytotoksycznością wysokich stężeń IL-2 terapia ta została zaaprobowana przez FDA [26] i jest szeroko stosowana także w Europie [28], głównie w leczeniu raka nerki i czerniaka [29].

Równie szerokie spektrum działań antynowotworowych wykazuje interferon. Terapia systemowa interferonem alfa uzyskała już pozytywną opinię FDA w leczeniu guzów litych [30]. Jest także stosowana w terapii raka jajnika. Podawanie interferonu pacjentkom ze złośliwymi nowotworami jajnika powoduje remisję choroby u około połowy z nich [31].

Duże nadzieje wiąże się z możliwością dostarczenia do komórek nowotworowych głównych czynników zgodności tkankowej MHC I i MHC II, które spowodowałyby aktywację układu odpornościowego [29]. Wiąże się to z faktem, że komórki nowotworowe wykazują zmniejszone wydzielanie na powierzchni, czynników kompleksu MHC I (*major histocompatibility complex – MHC*) i MHC II, przez co układ odpornościowy słabiej je rozpoznaje.

Do niespecyficznego, pasywnej modulacji układu odpornościowego stosuje się również hematopoetyczne czynniki wzrostu, takie jak na przykład czynnik stymulujący wzrost kolonii granulocytów i makrofagów (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor – GM-CSF*). W przypadku nowotworów kobiecych narządów płciowych nie wykazano jeszcze pozytywnych efektów ich działania.

Drugą ze strategii immunoterapii nowotworów – aktywna immunoterapia genetyczna, w przeciwieństwie do immunoterapii pasywnej, wykorzystuje występujące naturalnie w organizmie antygeny dla komórek nowotworowych i przez podanie szczepionki genetycznej prowadzi do wywołania odpowiedzi odpornościowej u osoby chorej. Szczepionki te wykorzystują podanie antygenów wzmacniających odpowiedź immunologiczną organizmu. Do pobranych od chorego komórek nowotworowych za pomocą wektorów wirusowych wprowadza się geny białek stymulujących układ odpornościowy. Pobudzony układ immunologiczny niszczy komórki nowotworowe, które wcześniej były pomijane przez limfocyty.

Komórki guza odróżnia od zdrowej tkanki także inny poziom ekspresji określonych genów, których produkty mogą być potencjalnymi antygenami dla przygotowywanych szczepionek. Na przykład w raku piersi dochodzi do nadekspresji genu *Her-2neu-erbB-2* (*v-erb-b2 erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 2*). Obecność produktu tego genu w tkance guza może być wykorzystana do przygotowania szczepionki. Elementy układu odpornościowego, takie jak limfocyty T mogłyby, rozpoznając to białko, traktować je jako antygen i prowadzić do eliminacji komórek wykazujących jego ekspresję. Innymi potencjalnymi antygenami wykorzystywanymi w celu przygotowania szczepionek pobudzających układ immunologiczny organizmu chorych są CEA (*carcinoembryonic antigen*), MAGE-1 (*melanoma antigen 1*), MUC-1 (*mucin 1*), hTERT (*human telomerase reverse transcriptase*), a także wspomniany powyżej GM-CSF [31].

Obecnie w mysim modelu raka jajnika testuje się także możliwość użycia białka szoku cieplnego 70 (*heat shock protein 70 – hsp 70*). Białko to jest czynnikiem antyapoptotycznym, hamującym proces programowanej śmierci komórki i umożliwiającym niekontrolowaną proliferację prowadzącą do utworzenia i wzrostu guza. Myszy, które zaszczepiono tym białkiem, wykazywały zwiększoną odporność wytwarzając limfocyty CD4+ i CD8+ [30]. Dzięki tej odpowiedzi immunologicznej ich organizmy zwalczały komórki nowotworowe [32].

W procesie immunomodulacji nowotworów wykorzystuje się także prezentujące antygeny komórki dendrytyczne (*dendritic cells – DC*), które biorą udział w inicjacji i kierowaniu odpowiedzi immunologiczną. Zmodyfikowane *ex vivo* DC rozpoznają antygeny nowotworowe. Strategia *ex vivo* polega na pobraniu komórek pacjenta, ich hodowli i namnożeniu, a następnie poddaniu ich genetycznej modyfikacji (np. wprowadzenie prawidłowego genu) i ponownie wprowadzeniu do organizmu pacjenta.

Metoda modyfikacji DC, polegająca na wyposażeniu ich sztucznymi antygenami i ponownym wszczęciu choroby na nowotwór jajnika jest już w fazie testów klinicznych, a ich rezultaty są obiecujące [33].

Innym rodzajem genetycznej immunoterapii jest adoptywna terapia komórkowa (*adoptive cell therapy* – ACT), która polega na identyfikacji autologicznych i allogenicznych limfocytów mających aktywność antynowotworową *ex vivo*. Limfocyty te namnażane są przy pomocy odpowiednich czynników wzrostu w celu dostarczenia ich z powrotem pacjentowi. W tego rodzaju terapii najczęściej wykorzystuje się limfocyty naciekające guz (*tumor infiltrating lymphocytes* – TIL).

Wprowadzenie do limfocytów wektorów retrowirusowych, kodujących receptory komórek T pozwoliło na uzyskanie przez nie aktywności antynowotworowej. Zmodyfikowane limfocyty zostały z powodzeniem użyte w terapii czerniaka, a ich zastosowanie spowodowało regresję guza [34].

W pierwszej fazie testów klinicznych jest także adoptywna terapia komórkowa wykorzystująca modyfikowane limfocyty T nowotworów raka jajnika. Wyniki tych badań nie zostały jeszcze opublikowane [35].

## Terapia proapoptotyczna

Komórki nowotworowe w wyniku mutacji przestają być wrażliwe na bodźce z zewnątrz, stają się nieśmiertelne, nie podlegają procesom starzenia, nie odbierają sygnałów o hamowaniu wzrostu i indukcji apoptozy, oraz nie podlegają inhibicji kontaktowej [36]. Zahamowanie wzrostu guza poprzez indukcję w komórkach nowotworowych procesu apoptozy może wyznaczyć nowe drogi terapii nowotworów.

W indukcji programu odpowiedzialnego za przebieg apoptozy bierze udział wiele mechanizmów komórkowych. Apoptoza wywołwana jest przez szlaki sygnałowe zewnątrzodochodne (aktywowane przez receptory transmembranowe) i wewnątrzodochodne (aktywowane wewnątrzkomórkowo) [37].

Obecnie znany jest szereg związków, które inicjują w komórce proces apoptozy po związaniu się ze specyficznym receptorem błonowym. Ligandami tych receptorów są m.in. FasL i Apo2L/TRAIL (Apo2 *ligand*, *TNF-related apoptosis-inducing ligand*). Związanie przez receptor ligandów prowadzi do utworzenie kompleksu DISC (*death-inducing signaling complex*), który aktywuje kaspazy, enzymy odpowiedzialne za egzekucję procesu apoptozy [27].

Użycie wektorów adenowirusowych do transferu genu *TRAIL* myszom, którym wszczęto ludzki nowotwór piersi zapewniało ekspresję białka *TRAIL* i w efekcie prowadziło do śmierci komórek guza [27].

Celem terapii proapoptotycznej jest także białko Fas, będące jednym z najlepiej poznanych receptorów śmierci. Wykazano, że skierowane przeciwko niemu specyficznych przeciwciał pozwala na uruchomienie w komórkach programowanej śmierci [27].

Program apoptozy może zostać uruchomiony w komórkach także bez udziału czynników zewnątrzkomórkowych. Droga wewnętrzna procesu apoptozy polega na uwolnieniu z mitochondriów cytochromu c i aktywacji szeregu białek tworzących kompleks zwany apoptosomem. Apoptosom odpowiedzialny jest za aktywację kaspazy-9 i egzekucję procesu. Szlak ten kontrolowany jest przez interakcje pomiędzy wewnątrzkomórkowymi, pro- i antyapoptotycznymi białkami

należącymi głównie do rodziny białek Bcl-2 [38]. Wśród członków tej rodziny znajdują się zarówno białka hamujące proces apoptozy, a co za tym idzie, promujące wzrost komórek (np. Bcl-2, Bcl-XL, Mcl-1, Bcl-W, Bfl-1 i Bcl-B) oraz białka indukujące proces programowanej śmierci komórki (do których należą: Bax, Bak, Bok, oraz rodzina białek BH3-only (*Bcl-2 homology 3-only*): Bid, Bim, Bad, Puma i Noxa [38]).

Szlak wewnątrzkomórkowy kontrolowany jest także przez białko P53, które w przypadku niemożliwych do naprawy uszkodzeń komórki zatrzymuje cykl komórkowy i indukuje apoptozę przez ekspresję wspomnianych powyżej genów proapoptotycznych, takich jak *Puma*, *Noxa* czy *Bax*, oraz przez inhibicję ekspresji białek antyapoptotycznych (miedzy innymi Bcl-2 i Bcl-XL) [38].

Wykazano, że mutacje w obrębie rodziny białek Bcl-2 odpowiadają za oporność komórek raka piersi na chemioterapię taksanami. Rewersja tych zmian mogłaby pozwolić na skuteczniejsze leczenie [38]. Prowadzone badania dowodzą, że terapia genowa wykorzystująca gen *Bcl-Xs*, pozwala na zablokowanie działania Bcl-2 i Bcl-XL i indukuje apoptozę w komórkach nowotworów wszczepianych tzw. nagim myszom, które z powodu braku grasicy nie wytwarzają dojrzałych limfocytów T [27]. Także inne geny, które bezpośrednio nie są zaangażowane w regulację apoptozy mogą być wykorzystane w celu indukcji tego procesu w komórkach nowotworowych. Przykładem takich genów są geny kodujące podjednostkę beta ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej wydzielane przez szereg różnych nowotworów [40]. Zablockowanie ekspresji tych genów w komórkach raka kosmówki (JAR) czy szyjki macicy (HeLa) *in vitro* hamuje proces proliferacji i indukuje w komórkach procesy apoptozy [41, 42].

Wyniki tych badań dowodzą, że gonadotropina kosmówkowa jest czynnikiem niezbędnym do wzrostu komórek nowotworowych, a zablokowanie efektu działania hormonu może stać się podstawą terapii nowotworów.

## Indukcja procesu starzenia się

Proces starzenia komórkowego jest obok apoptozy jednym z rodzajów programowanej śmierci komórki. Jego wynikiem jest zatrzymanie cyklu komórkowego, uniemożliwiające proliferację komórek. Komórki starzejące się, odmienne morfologicznie, znajdują się w obrębie guzów, zwłaszcza tych niezłośliwych [39].

Wykorzystanie mechanizmów regulujących proces starzenia pozwala na uruchomienie programu śmierci komórki i eliminację komórek nowotworowych nawet w tych przypadkach, w których z powodów mutacji w komórkach nowotworowych niemożliwa jest indukcja apoptozy [42].

## Podsumowanie

Nowotwory są chorobami charakteryzującymi się zmianą poziomu ekspresji wielu różnych genów. W trakcie nowotworzenia dochodzi do zmian nie tylko w obrębie guza, ale także całego układu odpornościowego.

Odkrycia kolejnych genów zaangażowanych w proces kancerogenezy coraz bardziej przybliżają nas do poznania i zrozumienia mechanizmów związanych z procesem tworzeniem i rozwojem raka. Jednocześnie stwarzają podstawy do rozwoju nowych technik terapeutycznych, zwłaszcza tych opartych na terapii genowej umożliwiających zwalczanie przyczyn



Terapia genowa i jej zastosowanie w leczeniu nowotworów ginekologicznych.

nowotworów poprzez naprawę, bądź eliminację wadliwej sekwencji DNA. Stąd w niedługiej przyszłości terapia genowa może uzupełnić konwencjonalne metody leczenia nowotworów.

Aby jednak została rutynowo wdrożona do klinik należy dopracować kilka problemów uniemożliwiających osiągnięcie pełnego efektu terapeutycznego; przede wszystkim zapewnić bezpieczeństwo procedury poprzez przygotowanie nietoksycznych, nieimmunogennych preparatów genowych, poprawić wydajność wprowadzania tych preparatów do komórek docelowych oraz ulepszyć metody pozwalające na uzyskanie ukierunkowanej integracji z genomem gospodarza w wyniku czego możliwa będzie stabilna i długotrwała ekspresja cząstek terapeutycznych. Dopracowanie stabilnej ekspresji wyeliminuje konieczność wielokrotnego podawania preparatu genowego, co z kolei zapobiegnie powstaniu odpowiedzi immunologicznej ze strony organizmu a także pozwoli obniżyć koszty leczenia.

Pomimo wymienionych trudności, terapia genowa wydaje się być metodą przyszłościową, która znajdzie praktyczne zastosowanie zarówno w leczeniu chorób, z którymi nie radzą sobie konwencjonalne metody terapeutyczne jak i jako uzupełnienie terapii już stosowanych w klinice.

## Piśmiennictwo

- Szala S. Terapia genowa. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 2003.
- Fire A, Xu S, Montgomery M, [et al.]. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 1998, 391, 806-811.
- Vasudevan S, Steitz J. AU-rich-element-mediated upregulation of translation by FXR1 and Argonaute 2. *Cell*. 2007, 128, 1105-1118.
- Zhang L, Yang N, Mohamed-Hadley A, [et al.]. Vector-based RNAi: a novel tool for isoform-specific knock-down of VEGF and anti-angiogenesis gene therapy of cancer. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003, 303, 1169-1178.
- Wilczyński J, Kufelnicka M, Smolarz B, [et al.]. Czy gen MDR 1 jest kluczem do efektywnej chemoterapii. *Ginekol Pol*. 2006, 77, 476-484.
- Wu H, Hait W, Yang J-M. Small interfering RNA-induced suppression of mdr1 (P-glycoprotein) restores sensitivity to multidrug-resistant cancer cells. *Cancer Res*. 2003, 63, 1515-1519.
- Hua J, Mutch D, Herzog T. Stable suppression of MDR-1 gene using siRNA expression vector to reverse drug resistance in a human uterine sarcoma cell line. *Gynecol Oncol*. 2005, 98, 31-38.
- Numnum T, Makhija S, Lu B, [et al.]. Improved anti-tumor therapy based upon infectivity-enhanced adenoviral delivery of RNA interference in ovarian carcinoma cell lines. *Gynecol Oncol*. 2008, 108, 34-41.
- Bergers G, Benjamin L. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer*. 2003, 3, 401-410.
- Boocock C, Charnock-Jones D, Sharkey A, [et al.]. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors flt and KDR in ovarian carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 1995, 87, 506-16.
- Paley P, Staskus K, Gebhard K, [et al.]. Vascular endothelial growth factor expression in early stage ovarian carcinoma. *Cancer*. 1997, 80, 98-106.
- Loncaster J, Cooper R, Logue J, [et al.]. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression is a prognostic factor for radiotherapy outcome in advanced carcinoma of the cervix. *Br J Cancer*. 2000, 83, 620-625.
- Olson T, Mohanraj D, Carson L, [et al.]. Vascular permeability factor gene expression in normal and neoplastic human ovaries. *Cancer Res*. 1994, 54, 276-280.
- Santin A, Hermonat P, Ravaggi A, [et al.]. Secretion of vascular endothelial growth factor in ovarian cancer. *Eur J Gynaecol Oncol*. 1999, 20, 177-181.
- Mahasreshi P, Navarro J, Kataram M, [et al.]. Adenovirus-mediated Soluble FLT-1 Gene Therapy for Ovarian Carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2001, 7, 2057-2066.
- Perletti G, Concardi P, Giardini R, [et al.]. Antitumor activity of endostatin against carcinogen-induced rat primary mammary tumors. *Cancer Res*. 2000, 60, 1793-1796.
- Subramanian I, Ghebre R, Ramakrishnan S. Adeno-associated virus-mediated delivery of a mutant endostatin suppresses ovarian carcinoma growth in mice. *Gene Ther*. 2005, 12, 30-38.
- Niculescu-Duvaz I, Springer C. Introduction to the background, principles and state of the art in suicide gene therapy. *Mol Biotechnol*. 2005, 30, 71-88.
- Kunshige I, Samejima Y, Shiki Y, [et al.]. Suicide gene therapy for human uterine adenocarcinoma cells using herpes simplex virus thymidine kinase. *Gynecol Oncol*. 1999, 72, 16-25.
- Kammertoens T, Gelbmann W, Karle P, [et al.]. Combined chemotherapy of murine mammary tumors by local activation of the prodrugs ifosfamide and 5-fluorocytosine. *Cancer Gene Ther*. 2000, 7, 629-636.
- Hamel W, Magnelli L, Chiarugi V, [et al.]. Herpes simplex virus thymidine kinase/ganciclovir-mediated apoptotic death of bystander cells. *Cancer Res*. 1996, 56, 2697-2702.
- Fillat C, Carrio M, Cascante A, [et al.]. Suicide gene therapy mediated by herpes simplex virus thymidine kinase gene/ganciclovir system: fifteen years of application. *Curr Gene Ther*. 2003, 3, 13-26.
- El-Anead A. Current strategies in cancer gene therapy. *Eur J Pharmacol*. 2004, 498, 1-8.
- Freeman S, Abbound C, Whartenby K, [et al.]. The "bystander effect": tumor regression when a fraction of the tumor mass is genetically modified. *Cancer Res*. 1993, 53, 5274-5283.
- Disis M, Bernhard H, Jaffee E. Use of tumor-responsive T cells as cancer treatment. *Lancet*. 2009, 373, 673-83.
- Rosenberg S, Restifo N, Yang J, [et al.]. Adoptive cell transfer: a clinical path to effective cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2008, 8, 299-308.
- Gao J, Okada N, Mayumi T, [et al.]. Immune cell recruitment and cell-based system for cancer therapy. *Pharm Res*. 2008, 25, 752-68.
- Stoff-Khalili M, Dall P, Curiel D. Gene therapy for carcinoma of the breast. *Cancer Gene Ther*. 2006, 13, 633-647.
- Purabi R, Madhur G, Kamlesh K. Biological Response Modifiers in Cancer. *Med Gen Med*. 2006, 8, 33.
- Dutcher J, Wadler S, Wiernik P. Biologic response modifiers in gynecologic malignancies. *Yale J Biol Med*. 1988 61, 367-378.
- Chang C, Tsai T, He L, [et al.]. Cancer Immunotherapy Using Irradiated Tumor Cells Secreting Heat Shock Protein 70. *Cancer Res*. 2007, 67, 10047-1057.
- Argento M, Hoffman P, Gauchez A. Ovarian cancer detection and treatment: current situation and future prospects. *Anticancer Res*. 2008, 28, 3135-3138.
- Rosenberg S, Restifo N, Yang J, [et al.]. Adoptive cell transfer: a clinical path to effective cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2008, 8, 299-308.
- Yoon S, Lee J, Cho H, [et al.]. Adoptive immunotherapy using human peripheral blood lymphocytes transferred with RNA encoding Her-2/neu-specific chimeric immune receptor in ovarian cancer xenograft model. *Cancer Gene Ther*. 2009, 16, 489-497.
- Kershaw M, Westwood J, Parker L, [et al.]. A phase - study on adoptive immunotherapy using gene-modified T cells for ovarian cancer. *Clin Cancer Res*. 2006, 12, 6106-6115..
- Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol*. 2007, 35, 495-516.
- Askhenazi A, Herbst R. To kill a tumor cell: the potential of proapoptotic receptor agonists. *J Clin Invest*. 2008, 118, 1979-1990.
- Tabuchi Y, Matsuoka J, Gunduz M, [et al.]. Resistance to paclitaxel therapy is related with Bcl-2 expression through an estrogen receptor mediated pathway in breast cancer. *Int J Oncol*. 2009, 34, 313-319.
- Butler S, Iles R. Ectopic human chorionic gonadotropin beta secretion by epithelial tumors and human chorionic gonadotropin beta-induced apoptosis in Kaposi's sarcoma: is there a connection? *Clin Cancer Res*. 2003, 9, 4666-4673.
- Nowak-Markwitz E, Jankowska A, Spaczyński M. Gonadotropiny a rak jajnika. *Ginekol Pol*. 2005, 76, 153-162.
- Jankowska A, Gunderson S, Andrusiewicz M, [et al.]. Reduction of human chorionic gonadotropin beta subunit expression by modified U1 snRNA caused apoptosis in cervical cancer cells. *Mol Cancer*. 2008, 7:26.
- Leonart M, Artero-Castro A, Kondoh H. Senescence induction; a possible cancer therapy. *Mol Cancer*. 2009, 8, 3.