

BÖLÜM 9

TERAPÖTİK NÜKLEİK ASİTLER VE KANSER TEDAVİSİNDEKİ GÜNCEL DURUMU

Funda DEMİRTAŞ KORKMAZ¹

GİRİŞ

Kanser global bir halk sağlığı sorunu olarak önemini korumaktadır. 2020'de dünya çapında tahmini 19,3 milyon yeni kanser vakası ve yaklaşık 9,9 milyon kanser nedeniyle ölüm meydana gelmiştir ¹. Kanserün önlenmesi ve tedavisi için sarfedilen yoğun çabalara rağmen, ilaçların yeterince etkili olmamasından veya toksik etkilerinden dolayı milyonlarca hasta hayatını kaybetmeye devam etmektedir.

Günümüzde kanser tedavisi için geleneksel yöntemler; kemoterapi, cerrahi ve radyasyon ve yakın zamanlarda uygulanmaya başlanan immunoterapidir ^{2,3}. Bu tedaviler arasından kemoterapi kanser tedavisinde altın standart olarak yerini korumaktadır. Ancak mevcut kemoterapötiklerin büyük çoğunluğu, hücrelerin ya da dokuların fonksiyonunu bozmaya yol açan çeşitli proteinlerle etkileşebilmektedir. Küçük molekül veya protein/antikör bazı bu ilaçlar, aslında hedefte olmayan proteinlere bağlanabilmekte ya da bilinmeyen etkileşimlerle farklı yan etkiler oluşturabilmektedir ⁴. Modern ilaç araştırmalarının amacı, hastalıkların tedavisi için hedef moleküllere spesifik daha etkili ve seçici terapötik yaklaşımlar geliştirmektir. Son zamanlarda protein ürününü hedef alan ilaçların yerine, proteinleri kodlayan nükleik asitleri hedefleyen yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesine yoğunlaşmıştır.

Nükleik asitlerin gen ekspresyonunu düzenlemede yararlı olabileceğini ilk kez Paterson ve ark. göstermiştir ⁵. Daha sonra Zamecnik ve Stephenson adlı araştırmacılar, antisens oligonükleotitler kullanarak Rous Sarcoma virüsünün replikasyonunu inhibe ettiklerini gösterdikleri çalışmayla, nükleik asitlerin terapötik ajanlar olarak kullanılabileceğini bilim dünyasına tanıtmış oldular ⁶.

Nükleik asit ilaçlarının etki şekli, geleneksel ilaçlardan karakteristik olarak farklıdır. Gen ekspresyonunu modüle etme stratejileri, transkripsiyon sürecini, mRNA işlenmesi ve translasyonu dahil gen ifadesinin inhibisyonu şeklinde gerçekleştirilebilir. Ek olarak, ekleme modellerinin değiştirildiği veya baz dizilerinin

¹ Arş.Gör.Dr.,Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD., fundakorkmz@gmail.com

düzenlenmesi yoluyla mutant proteinlerin normal proteinlere dönüştürüldüğü çeşitli nükleik asit ilaçları geliştirilmiştir ⁷.

Terapötik nükleik asitlerden antisens/antigen oligonükleotitler, siRNA, miRNA ve ribozimler, hedef mRNA'ya Watson-Crick baz eşleşmesi ile bağlanarak gen ekspresyonunu spesifik olarak inhibe ederler. Bununla birlikte aptamerler ve CpG oligonükleotitleri ise hedef moleküle baz eşleşmesi olmaksızın yapısal tanıma ile bağlanarak hareket eden nükleik asit yapılarıdır ^{8,9}.

Nükleik asit bazlı terapötik yaklaşımlar özellikle kalıtsal ve nadir hastalıkların tedavisinde olmak üzere geliştirilmiş, bu ilaçlardan bir kısmı Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) ve Avrupa İlaç Kurumu (EMA) tarafından onaylanmıştır ¹⁰. Ayrıca tüm dünyayı etkisi altına alan SARS-CoV-2 virüsüne karşı yoğun bir çaba ile tedavi ve aşı adayları geliştirilmeye çalışılmış, bu adaylar arasından virüsün Spike genini taşıyan mRNA aşılı gündeme gelmiştir. Bu mRNA aşılı için FDA ve EMA tarafından acil kullanım izni verilmesi, nükleik asit bazlı tedaviler arasından klinikte bir ilk olmuştur. Ancak kanseri de içine alan çok sayıda hastalık durumları için nükleik asit ilaçları henüz klinik deneme durumundadır. Nükleik asit bazlı kanser tedavisi için ABD Ulusal Tıp veri tabanı olan "clinical.trial.gov" da 1834 klinik çalışma bulunmaktadır. Bunların 65'i faz 4'e kadar ulaşmış olup, 27 çalışma tamamlanmıştır ¹¹.

ANTİSENS VE ANTİGEN OLİGONÜKLEOTİDLER

Bir antisens oligonükleotit (ASO), kısa tek sarmallı 13-30 nükleotitlik DNA dizisidir. Hedef genin dizisine tamamlayıcı bir diziye sahip bir oligonükleotit kullanılarak, hedeflenen bölgede bir DNA/RNA çift sarmallı yapı oluşturulur ve bu da gen fonksiyonunun inhibisyonuna yol açar¹². Gen inhibisyonu için mRNA'ların yanı sıra miRNA'lar da hedeflenebilir. Bu durumda miRNA'yı hedefleyen ASO'ya antimir veya antagomir adı verilir.

Antisens ajanlar iki ortak yoldan mRNA translasyonuna müdahale ederek hücrenin sitoplazması içinde işlev görür. Birinci yolda ASO hedef mRNA zinciri ile eşleşerek ribozomun bu mRNA'ya bağlanmasını engeller ve sonuç olarak mRNA translasyonu engellenir. İkinci yolda ASO hedef mRNA ile eşleştiğinde oluşan çift iplikli yapıda hedef mRNA RNaz H enzimi tarafından parçalanır ⁸. Antigen ajanlar ise hücrenin nükleusuna girerek fonksiyon gösteren DNA'nın transkripsiyonunu engelleyen nükleik asit analoglarıdır. Tek zincirli antigen bir ajanın girişi çift zincirli DNA antigen tripleksi oluşumuyla sonuçlanır, bu da bloklanmış DNA dizisinin mRNA'ya transkripsiyonunu önler. Bu strateji ile transkripsiyonun engellendiği ve spesifik mutasyonların oluşturulabildiği *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar bulunmaktadır ¹³⁻¹⁵.

İlk ASO bazlı ilaç, Vitravene ismiyle 1998 yılında kliniğe girmiştir ve göz içindeki sitomegalovirüs (CMV) enfeksiyonunun tedavisi için kullanılmıştır¹⁶. Bir diğer ASO Kynamro ise apolipoprotein B100 inhibe etmektedir ve hiperkolesterolemi tedavisi için FDA tarafından onay almıştır¹⁷. Antisens oligonükleotitlerle kanser tedavisine yönelik klinik denemeler veri tabanında 60 klinik deneme bulunmaktadır. Bunlardan sadece 14 tanesi faz 3'e kadar ulaşmıştır¹⁸. Ancak kanser tedavisi için henüz FDA ve EMA tarafından onaylanmış bir antisens oligonükleotit bulunmamaktadır (Tablo1).

siRNA TERAPÖTİKLERİ

RNA müdahalesi (RNAi), küçük kodlamayan çift sarmallı RNA'nın, tamamlayıcı hedef mRNA'nın diziyeye özgü bozunmasını indükleyerek veya endojen hücresel süreçler yoluyla translyasyonunu inhibe ederek gen ekspresyonunu susturduğu evrimsel olarak korunmuş bir mekanizmadır⁸.

RNAi kavramı ilk defa çift zincir RNA moleküllerinin model organizma *C.elegans*'ın homolog genlerinin ifadesini engellediğinin gösterildiği 1998 yılında ortaya atıldı¹⁹. Craig Mello ve Andrew Fire, bu keşifle 2006'da Nobel ödülü aldı. Elbashir ve ark.'larının kısa çift zincir RNA moleküllerinin (siRNA) memeli hücrelerinde spesifik olarak gen susturma özelliğini keşfetmesiyle oligonükleotit bazlı yaklaşımlar arttı²⁰.

İlk siRNA uygulamalarında uzun çift zincirli RNA kullanılmıştır, ancak bunlar pek çok memeli hücresinde hücre ölümü ile sonuçlanan antiviral interferon yanıt indüklemiştir²¹. Daha sonra küçük müdahaleci RNA (siRNA) olarak adlandırılan 21-22 nükleotit uzunluğunda kısa çift zincir RNA'ların *in vivo*'da interferon yanıt oluşturmadığı gözlenmiş ve bu siRNA'ların uygun taşıyıcı sistemlerle ile verilmesi oldukça başarılı gen susturma sağlayabilmiştir.

siRNA ilaçlarının klinikte uygulamaları hızla genişlemektedir. Patisiran, 2018'de FDA tarafından transtiretin proteini ilişkili kalıtsal amiloid polinöropati tedavisi için onaylanan ilk siRNA ilacı oldu ve daha sonra 2020'de üç ilaç daha onaylandı⁷. Kanser tedavisi için ise siRNA ilaçları henüz klinik deneme durumu olup, faz 2 aşamasına geçen yalnızca 2 siRNA ajanı bulunmaktadır (Tablo 2). Bunlardan faz 1 aşamasını tamamlayan siG12D-LODER ajanı, tümörün büyümesini önemli ölçüde azaltmıştır²². Kanser hücrelerinde mutant ve bu nedenle aşırı ifade olan KRAS genini hedefleyen bu siRNA ajanının pankreas tümörü içine doğrudan uygulandığı Faz 2 klinik denemeleri devam etmektedir²³. Hücre döngüsü düzenlemesi ve hücre proliferasyonunda rol alan Polo like kinaz (PLK) hedefleyen siRNA taşıyan TKM-080301 ajanı ise ilerlemiş hepatoselüler karsinomlu hastalara intravenöz uygulanmıştır. İlacın iyi tolere edilebilirliği gösterilmesine karşın sınırlı bir antitümör etki gösterdiği ve hastaların sağ kalımını etkilemediği tespit edilmiştir²⁴.

Tablo 1. Çeşitli kanserlerde farklı genleri hedefleyen antisens oligonükleotitlerle gerçekleştirilen tamamlanmış klinik denemeler

Kanser Tipi	Hedef Gen	İlaç Adı	Faz Durumu	Clinical.trial gov kodu
Multiple Myeloma	Bcl-2	oblimersen	Faz 3	NCT00017602
Metastatik meme kanseri	C-raf Kinaz Pkc-Alpha	ISIS 5132 ISIS 3521	Faz 2	NCT00003236
İleri evre Meme kanseri	custirsen	(OGX-011)	Faz 2	NCT00258375
Kastrasyon dirençli prostat kanseri	Hsp2	OGX-427	Faz 2	NCT01120470
İleri evre kanser	c-raf	LErafAON-ETU	Faz 1	NCT00100672
İleri evre kanserler	STAT3	IONIS-STAT3Rx	Faz 1-2	NCT01563302
İleri evre hematolojik kanser	C-myb	c-myb AS ODN	Faz-1	NCT00780052
Karaciğer metastazlı solid tümörler	HIF1a	EZN-2968	Faz1	NCT01120288

Tablo 2. siRNA ile çeşitli kanserlerde tamamlanmış klinik denemeler

Kanser Tipi	Hedef Gen	İlaç Adı	Faz Durumu	Clinical.trial gov kodu
Hematolojik kanser	PD-L	Biyolojik: Dendritik hücre	Faz 2	NCT02528682
İleri evre metastatik pankreas kanseri	protein kinaz N3	Atu027 + Gemcitabine	Faz 2	NCT01808638
İleri evre pankreas kanseri	KRASG12D	siG12D LODER	Faz1/2	NCT01188785
Karaciğer metastazlı solid kanser	Polo like kinaz-PLK1	TKM-080301	Faz 1	NCT01437007
İleri evre tümörler	Cbl-b	Biyolojik: APN401	Faz 1	NCT02166255
İleri evre tümör	Cbl-b	Biyolojik: siRNA transfekte periferel kan mononükleer hücre- APN401	Faz 1	NCT03087591
Metastatik melanoma	İmmuno proteazom beta altüniteleri; LMP2, LMP7, and MECL1	Biyolojik: Proteazom siRNA ve tümör antijen RNA ile transfekte dendritik hücreler	Faz 1	NCT00672542
İleri evre pankreas kanseri	KRASG12D	siG12D LODER	Faz1	NCT01188785

miRNA TERAPÖTİKLERİ

İlk kez 1993'de gen ekspresyonunun post-transkripsiyonal regülatörleri olarak keşfedilen miRNA, endojen küçük kodlama yapmayan RNA'lardır. miRNA'lar erken gelişim, hücrel farklılaşma, çoğalma, apoptosis, gelişimsel zamanlama ve hematopoesis gibi hemen hemen tüm biyolojik süreçlerin önemli post-transkripsiyonal düzenleyicileridirler. İnsanlarda 1000'den fazla miRNA tanımlanmıştır ve bunlar insan genomunun %30 nu hedef alabilir ²⁵.

miRNA'ların anormal regülasyonu insan hastalıkları ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Kanserin progresyonu ve agresif yapısına katkı saylayan kritik miRNA'ların hedeflenmesi bir diğer terapötik yaklaşımdır. Çeşitli kanserlerde aşırı ifade edilen onkojenik miRNA'ya (OncomiR) karşı antisens oligonükleotitlerin (anti-miR) kullanılmasıyla fonksiyonel baskılamaya dayalı miRNA terapötikleri geliştirilmiştir. Örneğin, miR-155 ile tamamlayıcı bir anti-miR ajan olan MRG-106 (Cobomarsen) kutanöz T hücreli lenfomalı hastalarda tümör içine uygulanmıştır. Bununla birlikte tümör baskılayıcı miRNA'larını taklit eden sentetik miRNA'ların geliştirilmeye devam edilmektedir ²⁶. Bir tümör supresor olan microRNA-34a'nın sentetik benzeri olan MRX34, hematolojik ve solid tümörleri olan hastalar üzerinde denenmiş, hastalarda gözlenen ciddi immünolojik yan etkileri nedeniyle faz 1 çalışması sonlandırılmıştır ²⁷. Akciğer kanseri hastaları üzerinde faz 1 çalışması tamamlanan Targomir ise başka bir tümör supresör olan miRNA-16'yı taklit eden sentetik RNA molekülüdür ve klinik denemeleri devam etmektedir.

RİBOZİMLER

Hastalıkların tedavisinde transkripsiyonel süreci hedef alan başka bir strateji ribozimlerin kullanımınıdır. Ribozimler sadece bilgi depolamayan aynı zamanda katalitik aktivitesi olan bir RNA molekülü sınıfıdır ²⁸. Ribozimler spesifik hedef RNA'larını katalitik olarak parçalar. Oysaki ASO, hedef mRNA sekansına bağlanarak translasyonunu önler. Teorik olarak ribozimler gen ifadesini önlemede daha etkilidir ⁸.

Farklı tipte ribozimler arasından küçük boyut ve yüksek ayrılma parçalanma etkinliği olan, ayrıca deneysel olarak da en çok kullanılanı çekiç başlı ve saç tokası şeklinde olan çalışılmıştır ¹². Çeşitli ribozimler klinikte viral enfeksiyonları ve kanseri tedavi etmek amacıyla test edilmiştir. Ribozim kullanılarak gerçekleştirilen ilk klinik deneme HIV1 virüsünü hedef almıştır. Anti-HIV-1 gag riboziminin hem integrasyon öncesi hem de sonrası içeri giren viral RNA ve mRNA'yı parçalayarak, HIV'in replikasyon döngüsüne müdahale edebildiği gösterilmiştir ²⁹.

Kanser tedavisi için geliştirilen RPI.4610 (Angiozyme) vasküler endotelial

büyüme faktörü mRNA'sını hedef almaktadır ve metastatik böbrek kanseri hastalarında faz II denemelerini tamamlamıştır. Bununla birlikte, metastatik meme kanseri hastalarında klinik etkinlik göstermede başarısız olduğu için faz çalışmaları durdurulmuştur ³⁰.

APTAMERLER

Aptamerler, proteinlere bağlanan ve fonksiyonlarını engelleyen tek sarmallı nükleik asit (DNA veya RNA) molekülleridir ³¹. Aptamerlerin yapısal şekiller oluşturma yeteneği, hedef proteinlere karşı yüksek afinitenin yanı sıra mükemmel özgüllük sunar. Aptamerlerin *in vitro* üretimi için ekspanansiyel zenginleştirme ile ligandların sistematik evrimi (SELEX) olarak bilinen yöntem kullanılır ³². SELEX, hedef molekül ile inkübe edilen randomize bir oligonükleotid kitaplığı ile başlayan ve en yüksek afinite dizilerini taramak için yinelenmeli afinite seçimi ve PCR amplifikasyon aşamalarını içeren birbirini tekrar eden bir süreçtir ³³.

Vaskular endotelial büyüme faktörüne(VEGF) karşı üretilen anti-VEGF RNA aptameri olan Pegaptanib'i yaş ilişkili makular dejenerasyonun tüm tipleri için FDA 2004 yılında onayladı. Daha sonra bu hastalık için çeşitli aptamer formülasyonları klinik denemeye girmiştir. Kanser tedavisine yönelik ise klinik deneylerde kullanılan ilk aptamer AS1411'dir ³⁴. Bu aptamer, tümörle ilişkili anjiyojenik endotel hücrelerinin yüzeyinde yüksek seviyelerde eksprese edilen nükleolin (NCL) proteinine bağlanır ve böylelikle tümör hücrelerinin damarlaşmasını önlemeye yardımcı olur. AS1411 aptameri ile gerçekleştirirken faz1 ve faz2 klinik denemelerinde toksik bir yan etki gözlenmemekle birlikte, tümörlerin yanıtında önemli bir değişiklik saptanmadığı rapor edilmiştir.

mRNA TERAPÖTİKLERİ

mRNA'yı terapötik ilaç olarak kullanmanın ardındaki yaklaşım, belirli bir hastalık durumunu önlemek veya değiştirmek için tanımlanmış bir genetik mesajın bir hastanın hücrelerine aktarılmasıdır ³⁵. mRNA ilaçları doğrudan hedef hücrelere verilir ve bir vektör sistemi kullanılmadan proteinler olarak ifade edilir. Terapötik mRNA adayı, ökaryotik hücrelerin sitoplazmasında doğal olarak oluşan olgun ve işlenmiş mRNA'ya yapısal olarak benzeyecek şekilde tasarlanır. Bu nedenle, mRNA tek sarmallıdır, 5' ucunda bir başlığa ve 3' poli(A) kuyruğa sahiptir. İlgili proteini kodlayan açık okuma çerçevesi (ORF), başlatma ve durdurma kodonları ile işaretlenmiştir ve çevrilmemiş bölgeler (UTR'ler) ile çevrilidir ³⁵. Bu mRNA'lar herhangi bir hücre ortamı olmaksızın bir PCR ürünü veya linear plazmid gibi bir DNA kalıp olarak kullanılarak basitçe sentezlenebilir. DNA bazlı teknolojilerin aksine çekirdeğe iletilmeleri gerekmez, böylelikle genomaya yerleştirilmeleriyle ilgili

endişeleri ortadan kaldırır. Bu özelliklerinden yararlanarak, mRNA ilaçlarının bu-
başıcı hastalıklar ve kanser aşuları alanındaki klinik denemeleri hızla artmaktadır.

SARS-CoV-2'nin neden olduğu pandeminin başlaması, bir dizi farklı teknoloji
aracılığıyla COVID-19 aşuları geliştirmeye yönelik büyük çabalarla sonuçlanmış-
tır. Aşı adayları içerisinde mRNA aşuları, tasarlanıp üretilebilme hızları nedeniyle
klinik deneylere giren ilk COVID-19 aşuları arasında yer aldılar. Böylelikle mRNA
aşuları klinikte geniş bir kitleye uygulanan ilk nükleik asit bazlı terapötik olmuştur.

Viral hastalıkların önlenmesi dışında mRNA aşuları kanser immünoterapisi
için kişiselleştirilmiş aşular üretmek için yeni stratejiler sunmaktadır. Bu yaklaşım,
bir hastanın sağlıklı ve tümör dokularının sekanslanmasını ve ardından bireysel
kansere özgü neoepitoplara kodlayan mRNA aşularının üretilmesini içerir. Solid
tümörlü (melanom, kolon ve akciğer kanserleri) hastalarda pembrolizumab ile
birlikte mRNA-4157, doz sınırlayıcı toksisiteler olmaksızın iyi tolere edildiği ve
ayrıca pembrolizumab ve neoantijene özgü T hücreleri ile kombinasyon halinde
klinik yanıt oluşturduğu gözlenmiştir ³⁶. İnsanlarda tümörle ilişkili antijenleri he-
defleyen bir lipozomal RNA olan Lipo-MERIT, iyi tolere edilebilirlik göstermekle
birlikte, aşı antijenlerine karşı güçlü CD4+ ve CD8+ T hücresi yanıtı da oluştur-
duğu belirtilmiştir ³⁷.

SONUÇ

Terapötik nükleik asitler prelinik çalışmalarda üstün başarı göstermesine karşın,
klinikte uygulanabilirliği açısından henüz emekleme aşamasındadır. Bugüne ka-
dar kanser tedavisi için hiçbir nükleik asit ilacı onaylanmamıştır. Bazı ASO'lar faz
3 denemelerine kadar ilerlemiştir ancak onaylanmamıştır ve siRNA'lar henüz faz
2'nin ötesine geçememiştir. Terapötik nükleik asitlerin kanser tedavisinde kullanı-
mı için klinikte karşılaşılan ve aşılması gereken önemli güçlükler bulunmaktadır.
Nükleik asitlerin terapötik ajan olarak doğrudan canlıda kullanılması imkansızdır.
Çünkü serum nükleazları tarafından yüksek oranda parçalanırlar, bu da dolaşım-
da kısa yarı ömürlü kalmasına yol açarak, ilacın etkinliğini düşürmektedir. Ayrıca
nükleik asitlerin anyonik yapıdaki doğalarından dolayı hücre penetrasyonu azalır
ve albümin ve diğer serum proteinleri ile etkileşime girebilir. Bu tür biyolojik
engellerin üstesinden gelmeleri için bazı kimyasal modifikasyonlara ihtiyaç bu-
lunmaktadır. Bu nedenle nükleik asitlerin terapötik kullanımı için daha etkili ve
verimli bir şekilde hedef bölgeye ulaşması için uygun ilaç taşıyıcı sistemler gelişt-
irmeye odaklanılmıştır. Biyobozunur, toksik olmayan ve immunojenitesi düşük
uygun ilaç taşıyıcı sistemleri geliştirilerek, kanserin progresyonunda anahtar rol
oynayan transkripsiyon faktörleri gibi hedeflenmesi güç genler veya proteinlerin,
nükleik asit bazlı ilaç yaklaşımları ile hedeflenmesi umut vaad edici olabilir.

KAYNAKLAR

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;0(0):1-41. doi:10.3322/caac.21660
2. Navya PN, Kaphle A, Srinivas SP, Bhargava SK, Rotello VM, Daima HK. Current trends and challenges in cancer management and therapy using designer nanomaterials. *Nano Converg.* 2019;6(1). doi:10.1186/s40580-019-0193-2
3. Dobosz P, Dzieciatkowski T. The Intriguing History of Cancer Immunotherapy. *Front Immunol.* 2019;10. doi:10.3389/fimmu.2019.02965
4. Schenone M, Dančik V, Wagner BK, Clemons PA. Target identification and mechanism of action in chemical biology and drug discovery. *Nat Chem Biol.* 2013;9(4):232-240. doi:10.1038/nchembio.1199
5. Paterson BM, Roberts BE, Kuff EL. Structural gene identification and mapping by DNA-mRNA hybrid-arrested cell-free translation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1977;74(10):4370-4374. doi:10.1073/PNAS.74.10.4370
6. Zamecnik PC, Stephenson ML. Inhibition of Rous sarcoma virus replication and cell transformation by a specific oligodeoxynucleotide. *Proc Natl Acad Sci.* 1978;75(1):280-284. doi:10.1073/PNAS.75.1.280
7. Yamada Y. Nucleic Acid Drugs—Current Status, Issues, and Expectations for Exosomes. *Cancers (Basel).* 2021;13(19). doi:10.3390/CANCERS13195002
8. Sharma VK, Rungta P, Prasad AK. Nucleic acid therapeutics: basic concepts and recent developments. *RSC Adv.* 2014;4(32):16618. doi:10.1039/c3ra47841f
9. Sridharan K, Gogtay NJ. Therapeutic nucleic acids: current clinical status. *Br J Clin Pharmacol.* 2016;82(3):659. doi:10.1111/BCP.12987
10. Kulkarni JA, Witzigmann D, Thomson SB, et al. The current landscape of nucleic acid therapeutics. *Nat Nanotechnol.* 2021;16(6):630-643. doi:10.1038/s41565-021-00898-0
11. Clinical trials nucleic acid therapeutics. Published 2022. https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=nucleic+acid+therapeutics&cond=Cancer&Search=Apply&recrs=e&age_v=&gndr=&type=&rslt=&phase=3
12. Robinson R. RNAi Therapeutics: How Likely, How Soon? *PLOS Biol.* 2004;2(1):e28. doi:10.1371/JOURNAL.PBIO.0020028
13. Janowski BA, Kaihatsu K, Huffman KE, et al. Inhibiting Transcription of Chromosomal Dna With Antigen Peptide Nucleic Acids. *Nat Chem Biol.* 2005;1(4):210-215. doi:10.1038/nchembio724
14. Jerzy T. Oncoproteins Targeting: Antibodies, Antisense, Triple-helix. Case of Anti IGF-I Cancer Immunogene Therapy. In: *Antisense Therapy.* IntechOpen; 2019. doi:10.5772/intechopen.82548
15. Quintero G, Guzman A, Shevelev A, et al. Glioblastoma-Application of Gene Therapy During A Quarter of A Century: Anti-Gene IGF-I Strategy. *glioblastoma-application-of-gene-therapy-during-a-quarter-of-a-century-anti-gene-igf-i-strategy* CITATIONS 4 READS 35 ACTA SCIENTIFIC CANCER BIOLOGY (ISSN: 2582-4473) Glioblastoma-Application of Gene Therapy During A Quarter of A Century: Anti-Gene IGF-I Strategy. Published online 2019. doi:10.31080/ASCB.2020.04.glioblastoma-application-of-gene-therapy-during-a-quarter-of-a-century-anti-gene-igf-i-strategy
16. Mulamba GB, Hu A, Azad RF, Anderson KP, Coen DM. Human cytomegalovirus mutant with sequence-dependent resistance to the phosphorothioate oligonucleotide fomivirsen (ISIS 2922). *Antimicrob Agents Chemother.* 1998;42(4):971-973. doi:10.1128/AAC.42.4.971/ASSET/9B6CB919-C23A-4EBD-8C38-F3FC603F4CE2/ASSETS/GRAPHIC/AC0480704002.JPEG
17. McGowan MP, Tardif JC, Ceska R, et al. Randomized, placebo-controlled trial of mipomersen in patients with severe hypercholesterolemia receiving maximally tolerated lipid-lowering therapy. *PLoS One.* 2012;7(11). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0049006

18. Clinical trials Antisense oligonucleotide. Published online 2022. https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=Antisense+oligonucleotide&cond=Cancer&Search=Apply&recrs=e&age_v=&g-ndr=&type=&rslt=&phase=1
19. Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nat* 1998 3916669. 1998;391(6669):806-811. doi:10.1038/35888
20. Elbashir SM, Lendeckel W, Tuschl T. RNA interference is mediated by 21- and 22-nucleotide RNAs. *Genes Dev*. 2001;15(2):188-200. doi:10.1101/GAD.862301
21. Stark GR, Kerr IM, Williams BRG, Silverman RH, Schreiber RD. How cells respond to interferons. *Annu Rev Biochem*. 1998;67:227-264. doi:10.1146/ANNUREV.BIOCHEM.67.1.227
22. Golan T, Khvalevsky EZ, Hubert A, et al. RNAi therapy targeting KRAS in combination with chemotherapy for locally advanced pancreatic cancer patients. *Oncotarget*. 2015;6(27):24560-24570. doi:10.18632/oncotarget.4183
23. Varghese AM, Ang C, Dimaio CJ, et al. A phase II study of siG12D-LODER in combination with chemotherapy in patients with locally advanced pancreatic cancer (PROTACT). https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.TPS4672. 2020;38(15_suppl):TPS4672-TPS4672. doi:10.1200/JCO.2020.38.15_SUPPL.TPS4672
24. El Dika I, Lim HY, Yong WP, et al. An Open-Label, Multicenter, Phase I, Dose Escalation Study with Phase II Expansion Cohort to Determine the Safety, Pharmacokinetics, and Preliminary Antitumor Activity of Intravenous TKM-080301 in Subjects with Advanced Hepatocellular Carcinoma. *Oncologist*. 2019;24(6):747-e218. doi:10.1634/THEONCOLOGIST.2018-0838
25. Hammond SM. An overview of microRNAs. *Adv Drug Deliv Rev*. 2015;87:3. doi:10.1016/J.ADDR.2015.05.001
26. Inoue J, Inazawa J. Cancer-associated miRNAs and their therapeutic potential. *J Hum Genet* 2021 669. 2021;66(9):937-945. doi:10.1038/s10038-021-00938-6
27. Hong DS, Kang YK, Borad M, et al. Phase 1 study of MRX34, a liposomal miR-34a mimic, in patients with advanced solid tumours. *Br J Cancer* 2020 12211. 2020;122(11):1630-1637. doi:10.1038/s41416-020-0802-1
28. Doherty EA, Doudna JA. Ribozyme Structures and Mechanisms. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.biophys.30.1.457>. 2003;30:457-475. doi:10.1146/ANNUREV.BIOPHYS.30.1.457
29. Konopka K, Rossi JJ, Swiderski P, Slepishkin VA, Düzgüneş N. Delivery of an anti-HIV-1 ribozyme into HIV-infected cells via cationic liposomes. *Biochim Biophys Acta - Biomembr*. 1998;1372(1):55-68. doi:10.1016/S0005-2736(98)00046-7
30. Feng R, Patil S, Zhao X, Miao Z, Qian A. RNA Therapeutics - Research and Clinical Advancements. *Front Mol Biosci*. 2021;8:913. doi:10.3389/FMOLB.2021.710738/BIBTEX
31. Keefe AD, Pai S, Ellington A. Aptamers as therapeutics. *Nat Rev Drug Discov* 2010 97. 2010;9(7):537-550. doi:10.1038/nrd3141
32. Banerjee J, Nilsen-Hamilton M. Aptamers: Multifunctional molecules for biomedical research. *J Mol Med*. 2013;91(12):1333-1342. doi:10.1007/S00109-013-1085-2
33. Kaur H, Bruno JG, Kumar A, Sharma TK. Aptamers in the Therapeutics and Diagnostics Pipelines. *Theranostics*. 2018;8(15):4016. doi:10.7150/THNO.25958
34. Bates PJ, Laber DA, Miller DM, Thomas SD, Trent JO. Discovery and development of the G-rich oligonucleotide AS1411 as a novel treatment for cancer. *Exp Mol Pathol*. 2009;86(3):151-164. doi:10.1016/J.YEXMP.2009.01.004
35. Sahin U, Karikó K, Türeci Ö. mRNA-based therapeutics — developing a new class of drugs. Published online 2014. doi:10.1038/nrd4278
36. Burris HA, Patel MR, Cho DC, et al. A phase I multicenter study to assess the safety, tolerability, and immunogenicity of mRNA-4157 alone in patients with resected solid tumors and in combination with pembrolizumab in patients with unresectable solid tumors. *J Clin Oncol*. 2019;37(15_suppl):2523-2523. doi:10.1200/JCO.2019.37.15_SUPPL.2523
37. Sahin U, Oehm P, Derhovanessian E, et al. An RNA vaccine drives immunity in checkpoint-inhibitor-treated melanoma. *Nature*. 2020;585(7823):107-112. doi:10.1038/S41586-020-2537-9