

Advexin – przykład zastosowania terapii genowej w onkologii

*Katarzyna Drabczyk, Mirosława Püsküllüoğlu

Klinika Onkologii, Szpital Uniwersytecki, Kraków
Kierownik Kliniki: dr hab. n. med. Krzysztof Krzemieniecki

ADVEXIN – AN EXAMPLE OF GENE THERAPY APPLICATION IN ONCOLOGY

Summary

Advexin is a vaccine containing a copy of wild-type *p53* gene. This gene codes p53 protein, which leads cells with defective genome to apoptosis. Advexin was devised to treat people suffering from a rare Li-Fraumeni syndrome. The disease is caused by gene *p53* mutation and for that reason people suffering from this syndrome have 25 times higher risk of neoplasms. By 2008, 14 experiments have been conducted with the use of Advexin: 11 with monotherapy and remaining 3 with chemotherapy, or radiotherapy. However, due to numerous objections, mainly relating to the lack of evidence for therapy's effectiveness, drug was approved only in China.

A role of p53 in carcinogenesis and using it for gene therapy purposes are current topics among scientists dealing with human cancers' treatment. On one hand, new discoveries bring us closer to create both effective and selective treatment methods. On the other hand, they help us realize how unbelievable complicated the cancer transformation is. The gene therapy develops very quickly and undoubtedly it becomes a part of future cancer-treating strategy. The therapy that would direct cancer cells to apoptotic pathway could stop, or at least reduce, the growth of almost all types of cancers.

The role of p53 protein as well as the action, therapeutic potential, clinical trials' data concerning Advexin and potential directions for its future use are presented.

Key words: Advexin, gene therapy, p53, Li-Fraumeni syndrome

CZYM JEST ADVEXIN I CO ZAWIERA?

Advexin jest szczepionką w postaci zawiesiny, zawierającą *contusogene ladenovec*. Jest to genetycznie zmodyfikowany, nienamnażający się adenowirus typu 5, który służy za wektor dostarczający do komórek rakowych prawidłową kopię genu *p53*. Adenowirusy znalazły zastosowanie w terapii genowej ze względu na swoje liczne zalety. Temat dotyczący nośników adenowirusowych został dokładniej omówiony poniżej.

W skład kasety ekspresyjnej zawartej w Advexinie wchodzi:

- „dzika”, prawidłowa kopia genu *p53*,
- kierujący transkrypcją transgenu wczesny promotor cytomegalowirusa, który został umieszczony w miejscu usuniętego wcześniej regionu E1,
- sygnał poliadenylacji, warunkujący powstanie tzw. „ogonka poliA”, będącego ciągiem reszt adeninowych, który chroni powstały transkrypt przed degradacją (1-4).

OCHRONNA ROLA BIAŁKA P53

Funkcja białka p53 od ponad 30 lat pozostaje przedmiotem zainteresowania naukowców zajmujących się problematyką chorób nowotworowych (5). Pierwszych odkryć dokonano podczas badań na zwierzęcych

nowotworach wywołanych przez wirusy. Zauważono wtedy, że w komórkach nowotworowych jest znacznie więcej białka p53 niż w prawidłowej hodowli oraz że komórki transformowane wytwarzały przeciwciała przeciwko p53 (6). Początkowo powyższe spostrzeżenia doprowadziły do postawienia tezy, że gen *p53* jest onkogenem. Wraz z upływem czasu pojawiały się jednak kolejne odkrycia, które zaprzeczały początkowej hipotezie i dostarczały dowodów na ochronną funkcję omawianego białka (7).

Gen kodujący białko p53 zlokalizowany jest na krótkim ramieniu chromosomu 17 (17p13) (8). Białko p53 charakteryzuje się złożoną budową, co w pewien sposób odzwierciedla zawartość ścieżek sygnalizacyjnych zależnych od tego białka. Ludzkie białko p53 zawiera 7 domen (9). Funkcje poszczególnych domen oraz ich lokalizacja zostały przedstawione w tabeli 1. P53 należy do małej rodziny powiązanych ze sobą białek obejmującej także p63 i p73 (10). Wyróżniamy dwie formy białka p53. Jedną z nich jest fizjologiczne, niezmienione białko, określane jako „zdrowe” lub „dzikie”. Drugi typ natomiast reprezentowany jest przez białko powstające na drodze mutacji genu *p53* i jest to tzw. białko „zmutowane”, pozbawione właściwości supresorowych (11). Białko p53 znajduje się w jądrze komórki, gdzie wiążąc się z kwasem deoksyrybonukleinowym, kontroluje transkrypcję

Tabela 1. Funkcja i lokalizacja poszczególnych domen białka p53 (9).

Domena	Funkcja	Reszty aminokwasowe
AD1 (ang. <i>activation domain 1</i>)	aktywacja transkrypcji	1-42 (N-koniec)
AD2 (ang. <i>activation domain 2</i>)	aktywność apoptyczna białka p53	43-63
PRD (ang. <i>proline rich domain</i>)	aktywność apoptyczna białka p53	64-91
DBD (ang. <i>DNA binding domain</i>)	powinowactwo do konsensusowych sekwencji DNA	100-300
Domena sygnalizacyjna	warunkuje jądrową lokalizację białka p53	316-325
TD (ang. <i>tetramerization domain</i>)	tetrameryzacja białka p53 niezbędna do aktywności <i>in vivo</i>	334-356
BD (ang. <i>basic domain</i>)	regulacja wiązania przez domenę centralną p53	364-393 (C-koniec)

różnych genów, ma wpływ na apoptozę, syntezę kwasu deoksyrybonukleinowego (ang. *deoxyribonucleic acid* – DNA), a także poprzez regulację procesu duplikacji centrosomów ma znaczenie w utrzymaniu diploidalnego genomu komórek (12). Aktywacja p53 zachodzi pod wpływem wielu różnych czynników, takich jak promieniowanie UV (Ultrafiolet), X, gamma, hipoksja, zmiany temperatury i potencjału redoks, delecja nukleotydu, a także zmiana w budowie czynników wzrostowych oraz mikrotubul (13, 14). Białko p53, które w normalnych warunkach ma bardzo krótki okres półtrwania (około 20 minut), w odpowiedzi na uszkodzenie DNA ulega stabilizacji. W wyniku tego następuje wzrost ilości białka p53, a następnie, w zależności od miejsca wiązania do DNA, pobudzenie ekspresji docelowych genów (12). Powstałe białka wywołują odpowiedzi adekwatne do sytuacji w komórce. Może to być indukcja procesu apoptozy, zatrzymanie cyklu komórkowego i naprawa błędów lub naprawa uszkodzonego DNA. To właśnie p53 decyduje, jak znaczne są zmiany w komórce, czy komórka jest w stanie naprawić te zmiany, czy też jedynym wyjściem jest apoptoza.

Badania wykazały, że w większości komórek nowotworowych p53 jest nieaktywne, co powoduje zaburzenie homeostazy w organizmie i skutkuje możliwością progresji nowotworu (3). Istnieje kilka sposobów na dezaktywację białka p53 w komórkach. Mechanizm ten został w skrócie przedstawiony na rycinie 1.

ZASTOSOWANIE ADENOWIRUSÓW W PREPARACIE ADVEXIN

DNA sam nie wnika do komórek. Wynika to z faktu, że jest naładowany ujemnie, podobnie jak powierzchnia błony komórkowej. Z tego powodu, aby wprowadzić DNA do komórki, trzeba zastosować techniki wprowadzania

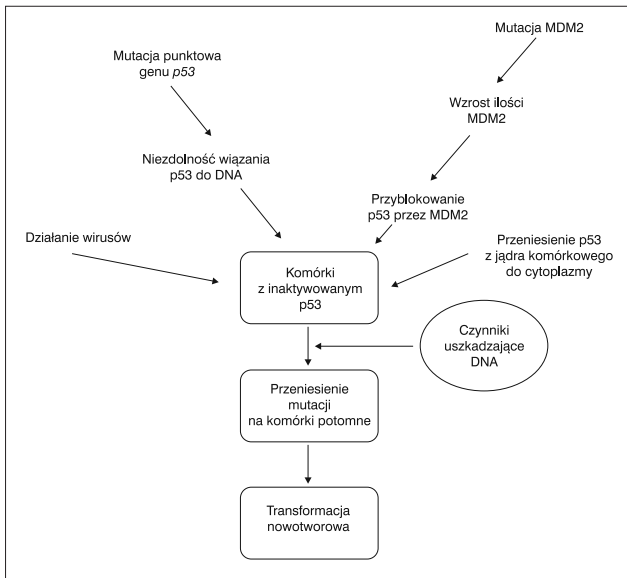
kwasów nukleinowych, które można podzielić na trzy grupy:

- techniki elektryczne,
- techniki mechaniczne,
- techniki z użyciem odpowiednich wektorów (15).

Uzyskanie odpowiednich nośników w terapii genowej jest bardzo ważne. Dobrze dobrany nośnik powinien pozwalać na wydajne, a jednocześnie bezpieczne wprowadzenie materiału genetycznego do komórek pacjenta. Aby powyższy warunek był spełniony, nośnik musi skutecznie wnikać do komórek, nie może być immunogeny i cytotoksyczny, a także musi charakteryzować się wysokim poziomem ekspresji transgenu. Najskuteczniejsze jak dotąd wektory zostały stworzone poprzez modyfikacje genomów wirusowych. Wirusy przez miliony lat ewolucji udoskonalały metodę wprowadzania swojego genomu do komórek gospodarza w celu przeżycia, dlatego wykorzystanie ich jako wektorów jest najbardziej naturalnym, znanym od dawna sposobem transportu obcego DNA do komórek ludzkich (16). Obecnie około 70% badań dotyczących terapii genowej na świecie odbywa się z wykorzystaniem wektorów wirusowych (15). W preparacie Advexin za nośnik dostarczający dzięki kopię genu *p53* do komórki rakowej służy odpowiednio zmodyfikowany adenowirus (4). Spośród stosowanych wektorów wirusowych to właśnie adenowirusy są najbardziej efektywnymi nośnikami. Ich charakterystyczną cechą jest umiejętność zakażenia różnych typów komórek, zarówno dzielących się, jak i niedzielących (15, 16). W przeciwieństwie do infekcji adenowirusem dzikiego typu transdukcja wektorem adenowirusowym nie prowadzi do śmierci komórki (17, 18). Adenowirusy, co ważne, nie integrują się także z genomem gospodarza, a transgeny wprowadzane za ich pośrednictwem charakteryzują się wysokim poziomem ekspresji. Nośniki te są dodatkowo na tyle pojemne, że pozwalają na wprowadzenie transgenu z pełną kasetą ekspresyjną i dołączonymi dodatkowymi elementami regulatorowymi (19). Wektory te mają jednak jedną, bardzo znaczącą wadę: są silnie immunogenne, a w wysokich dawkach również cytotoksyczne (15, 20, 21). W wyniku podania dużej ilości wektora adenowirusowego może dojść do wywołania silnej odpowiedzi immunologicznej organizmu. Jest to spowodowane faktem, że większość ludzi na skutek wcześniejszego kontaktu z adenowirusami posiada przeciwciała, które atakują białka wirusa. Aktualnie istnieją mocne dowody na skuteczność adenowirusów jako nośników genów terapeutycznych. Jednym z nich jest właśnie omawiany Advexin. Mimo ciężkich początków badania dotyczące wektorów adenowirusowych są nadal prowadzone (22, 23).

PRZEZNACZENIE I DZIAŁANIE PREPARATU ADVEXIN

Advexin był tworzony z przeznaczeniem do leczenia osób cierpiących na rzadki, uwarunkowany genetycznie zespół Li-Fraumeni. W przypadku tej choroby mutacja w genie *p53* występuje w jednym allelu każdej komórki organizmu chorego. W związku z powyższym chorzy z tym zespołem są narażeni na 25 razy większe ryzyko wystąpienia nowotworów (12, 24). Najczęściej tworzą się mięsaki, raki sutka i kory nadnerczy, guzy mózgu



Ryc. 1. Mechanizmy inaktywacji białka p53 w komórce (10, 12).

i białaczki, które typowo dla tego zespołu zaczynają pojawiać się już w młodym wieku. Standardowe leczenie powyższych nowotworów zazwyczaj nie jest skuteczne, a stosowanie u pacjentów z zespołem Li-Fraumeni radioterapii może dodatkowo skutkować pojawianiem się kolejnych guzów. Ogromne ryzyko nowotworzenia oraz brak skutecznych metod leczenia prowadzą w rezultacie do przedwczesnej śmierci pacjenta (3, 24). Preparat Advexin miał reprezentować nowatorski, opierający się na terapii genowej, celowany sposób leczenia chorych z zespołem Li-Fraumeni. Wyżej wymieniony lek poprzez wprowadzenie prawidłowej kopii genu *p53* do komórki nowotworowej powoduje aktywację mechanizmów takich jak:

1. Indukacja ścieżek apoptozy w komórce rakowej.

Aktywne białko p53 indukuje transkrypcję genu *p21*, którego produkt jest silnym inhibitorem kinaz zależnych od cyklin. Białko p21 wiąże się z kompleksami CDK2 (ang. *Cyclin-dependent kinase 2*, kinaza cyklinozależna 2) lub CDK4, hamując ich aktywność i w konsekwencji zatrzymując cykl komórkowy.

2. Blokowanie ścieżek sygnałów ważnych dla przeżycia komórki.

3. Przywrócenie naturalnych zdolności naprawczych komórek.

4. Działanie antyangiogenne i hamujące wzrost guza.

Wykazano, że substancja zawarta w Advexinie powoduje zmniejszenie ekspresji czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego, a także aktywację transkrypcji genów dla inhibitorów angiogenezy (3, 24, 25).

Prawidłowo działające, nowo wprowadzone białko p53 kieruje komórki z uszkodzonym DNA na szlak apoptozy, co ogólnie objawia się zmniejszeniem masy guza. Korzystny też jest fakt, że wprowadzany za pośrednictwem preparatu Advexin dziki typ *p53* dodatkowo nie integruje się z genomem gospodarza, dlatego ryzyko ponownej genezy guza, aktywacji onkogenu lub inaktywacji protoonkogenu jest niskie (4).

BADANIA KLINICZNE

Celem leczenia Advexinem jest uderzenie w jedną z przyczyn nowotworzenia, jaką jest mutacja w genie *p53*. Badania wskazują, że rozwój ponad 50% nowotworów u ludzi wiąże się z delecją lub mutacją tego genu. Przykładowo dla raka płaskonabłonkowego głowy i szyi procent ten jest jeszcze większy i wynosi około 70. Z tego powodu możliwość dostarczenia dzięki kopii genu *p53* do komórki nowotworowej wydaje się bardzo obiecująca (3). Skuteczność preparatu Advexin była badana w licznych nowotworach. Do roku 2008 udało się przeprowadzić 14 prób z użyciem omawianego leku, z czego 11 z użyciem Advexinu w monoterapii, a pozostałe 3 w połączeniu z chemioterapią lub radioterapią (4). Szczególnie często badaniom poddawani byli pacjenci z rakiem płaskonabłonkowym głowy i szyi, ale skuteczność Advexinu sprawdzano także w raku prostaty, raku niedrobnokomórkowym płuc, raku jajnika, raku pęcherza moczowego, glejaku, raku piersi, raku przełyku, raku płaskonabłonkowym jamy ustnej, części ustnej i kraniowej gardła oraz krtani. Badania te były najczęściej prowadzone w fazie I i II, zaś lek wprowadzany był najczęściej w postaci iniekcji do guza (26, 27).

Prowadzone przez lata badania nad zastosowaniem Advexinu w onkologii dostarczyły danych na temat bezpieczeństwa zastosowania omawianego leku zarówno w monoterapii, jak i w połączeniu z chemioterapią lub radioterapią (4). Do najczęstszych zaobserwowanych efektów ubocznych, które, jak uważano, prawdopodobnie miały związek z terapią Advexinem, należały: gorączka, ból w miejscu podania, nudności, dreszcze, astenia, ból głowy, mięśni (27-29). Nie zanotowano zgonu wynikającego z leczenia Advexinem (4).

W latach od marca 2003 do lipca 2006 badania nad zastosowaniem Advexinu prowadzono na 13-osobowej grupie pacjentów, u których zdiagnozowano zaawansowanego (stadium III lub IV) raka płaskonabłonkowego jamy ustnej, części ustnej i kraniowej gardła oraz krtani. Do badań wybierano osoby nowo zdiagnozowane, wcześniej nieleczone z powodu tego nowotworu, u których guzy nadawały się do leczenia chirurgicznego i nie dawały odległych przerzutów. W ramach terapii pacjenci zostali poddani operacji, która obejmowała resekcję guza oraz okołoperacyjne podanie Advexinu (2 dawki śródoperacyjnie i jedna po operacji). Dziesięciu z nich otrzymało także chemio- i radioterapię pooperacyjnie. Do najczęstszych zaobserwowanych efektów ubocznych należały gorączka, nudności, męczliwość, anemia, leukopenia, neutropenia i zaparcia. Prawdopodobieństwo przeżycia jednego roku bez progresji choroby wyniosło 90%. Z powodu zbyt małej grupy badawczej żadne poważne wnioski nie zostały wysunięte z badania (27).

Advexin był także wykorzystany do leczenia raka płaskonabłonkowego przełyku. Badania były prowadzone na dziesięciu pacjentach w wieku pomiędzy 20 a 80 rokiem życia, z zaawansowanym rakiem płaskonabłonkowym przełyku potwierdzonym histologicznie, opornym na chemio- i radioterapię. Wybrani do badania pacjenci zostali także zdyskwalifikowani od leczenia

chirurgicznego. Grupa została poddana terapii, która składała się z pełnych 26 cykli, a każdy cykl obejmował 28 dni, w trakcie których bezpośrednio do guza podawany był preparat w odpowiednio ustalonych wcześniej dawkach. W ciągu 19 miesięcy od zakończenia terapii z powodu choroby zmarło 9 na 10 badanych. U jednego pacjenta zanotowano stabilizację przez 47 miesięcy po zakończeniu leczenia. Całkowity współczynnik przeżycia w ciągu jednego roku wyniósł 60%. Podczas terapii nie stwierdzono żadnych groźnych skutków ubocznych działania preparatu Advexin. Do najczęstszych objawów należała gorączka występująca u 100% badanych i miejscowy ból dotyczący ich w 30% (1-2 stopień w skali NCI – National Cancer Institute). U niektórych pacjentów zanotowano także hiperglikemię i hipokalcemię. Ogólnie, lek okazał się dobrze tolerowany przez organizm (28).

17 grudnia 2008 roku firma Gendux Molecular Limited oficjalnie poinformowała Komitet ds. Produktów Leczniczych Stosowanych u Ludzi (ang. The Committee for Medicinal Products for Human Use – CHMP) o zamiarze wycofania wniosku o dopuszczenie do obrotu produktu leczniczego Advexin. Na podstawie przeglądu danych i odpowiedzi firmy na zadane pytania, CHMP w swojej wstępnej opinii wskazała, że preparat Advexin nie zostanie dopuszczony do leczenia zespołu Li-Fraumeni. Zastrzeżenia dotyczyły głównie niewystarczającej liczby dowodów wskazujących na korzyści ze stosowania szczepionki Advexin w leczeniu nabytego zespołu predyspozycji do nowotworów. Pojawiły się także obawy co do bezpieczeństwa leku, jego skutków działania w organizmie oraz sposobów jego podawania. Ponadto według CHMP firma nie dostarczyła wystarczających dowodów wskazujących na to, że produkcja preparatu Advexin odbywać się będzie w wiarygodnych warunkach, że nie będzie niebezpieczna dla środowiska, a także że preparat nie będzie zagrażał osobom przebywającym w bliskim otoczeniu pacjenta (30).

Pomimo iż wniosek o dopuszczenie do leczenia preparatem Advexin został wycofany, wiele osób z całego świata poddaje się obecnie omawianej terapii genowej. Wynika to z faktu, że lek Advexin udało się zatwierdzić w Chinach. Przyczyną był fakt, że podczas gdy Introgen Therapeutics starał się o uzyskanie zatwierdzenia USFDA (ang. The United States Food and Drug Administration) dla Advexinu, SiBiono (Chiny) z sukcesem skończyło badania kliniczne i wprowadziło lek na rynek pod nazwą Gendicine (warto zaznaczyć, że Advexin i Gendicine są właściwie takie same pod względem struktury wirusa) (26, 30). W październiku 2003 roku w Chinach zatwierdzono Gendicine do leczenia raka płaskonabłonkowego głowy i szyi. Powyższy preparat był pierwszym powszechnie dostępnym lekiem terapii genowej na rynku (26).

OBP-301

Pomimo wielu przeprowadzanych prób i wyników wskazujących na bardzo powszechne występowanie w nowotworach mutacji genu *p53*, nie udało się dostarczyć dowodów na skuteczność Advexinu w walce z rakiem. Jedną z przyczyn jest zapewne

fakt, że adenowirus zawarty w powyższym preparacie jest w stanie zainfekować tylko niewielki fragment guza i nie jest zdolny do rozprzestrzenienia się na całą jego objętość. W ostatnich latach nowe nadzieje przyniosły odkrycia metod, które umożliwiają zwiększenie zasięgu rozprzestrzeniania się leku. Jedną z nich jest zastosowanie do leczenia OBP-301. OBP-301 zawiera adenowirus, w którym ekspresją wirusowego genu *E1* (odpowiedzialnego za replikację) jest kontrolowana przez promotor ludzkiej odwrotnej transkryptazy – telomerazy. Telomeraza jest to enzym rybonukleoproteinowy, którego zadaniem jest dobudowanie brakującego, terminalnego odcinka nici 3'-5' DNA. Stwierdzono, że około 85% ludzkich komórek nowotworowych wykazuje ekspresję telomerazy, co dotyczy się tylko niektórych zdrowych komórek organizmu. Badania na myszach wykazały, że komórki rakowe są bardziej wydajnie niszczone w obecności OBP-301 i Advexinu niż samego Advexinu lub samego OBP-301. Spekuluje się, że efekt synergistyczny działania tych leków może być spowodowany pozytywnym wpływem OBP-301 na zawarty w nośniku *p53*. Wpływ ten objawia się tzw. „inteligentną” replikacją, której skutkiem jest zarażenie komórek zmienionych i pozostawienie zdrowych komórek nietkniętych. Planuje się w przyszłości przeprowadzenie badań klinicznych potwierdzających efektywność tego sposobu leczenia u ludzi (31, 32).

PODSUMOWANIE

Advexin jest przykładem terapii genowej, która opiera się na dostarczeniu do komórki prawidłowej kopii genu supresorowego. Lek ten składa się z genetycznie zmodyfikowanego wirusa, niosącego ze sobą dziką kopię *p53*. Białko *p53* poprzez aktywację szlaku apoptozy uniemożliwia podział komórki, w której DNA zostało uszkodzone. W związku z tym, zaburzenia regulacji genów supresorowych mogą upośledzać naturalne zdolności obronne organizmu i w konsekwencji prowadzić do nowotworzenia. Prawdopodobnie w ponad 50% przypadków przywrócenie funkcji białka *p53* mogłoby spowodować zmniejszenie masy guza. Terapia celowana oszczędzająca komórki zdrowe byłaby niezwykle korzystna dla pacjentów. Jednak funkcja białka *p53* nie jest jeszcze w pełni poznana, a w jego szlakach metabolicznych nadal jest wiele niewyjaśnionych interakcji.

Transfer genu, pomimo iż jest zdecydowanie nowym sposobem leczenia, jest też jedyną zatwierdzoną na świecie formą terapii genowej w onkologii. Dostępnym na rynku preparatem jest produkt o nazwie Gendicine stosowany od 2003 roku w Chinach. Tysiące pacjentów zostało poddanych próbom, lecz wyniki wielu z nich, jak do tej pory, nie zostały opublikowane. 20 lat badań spowodowało, że wielu naukowców przestało wierzyć, że uzupełnienie jednego genu może zatrzymać tak złożony proces, jakim jest transformacja nowotworowa. Obecnie badania skupiają się nad rolą terapii genowej w leczeniu skojarzonym. Wprowadzenie odpowiedniego genu mogłoby np. uwrażliwiać komórki rakowe na działanie chemio- czy radioterapii. Naukowcy dążą także do zwiększenia selektywności i wydajności działania terapii genowej. □

Piśmiennictwo

1. Chada S, Menander KB, Bocangel D et al.: Cancer targeting using tumor suppressor genes. *Front Biosci* 2008; 13: 1959-1967. 2. Senzer N, Nemunaitis J: A review of contusogene ladenovec (Advexin) p53 therapy. *Curr Opin Mol Ther* 2009; 11: 54-61. 3. Senzer N, Nemunaitis J, Nemunaitis M et al.: p53 therapy in a patient with Li-Fraumeni syndrome. *Mol Cancer Ther* 2007; 6: 1478-1482. 4. Nemunaitis JM, Nemunaitis J: Potential of Advexin: a p53 gene-replacement therapy in Li-Fraumeni syndrome. *Future Oncol* 2008; 4: 759-768. 5. Cahilly-Snyder L, Yang-Feng T, Francke U, George DL: Molecular analysis and chromosomal mapping of amplified genes isolated from a transformed mouse 3T3 cell line. *Somat Cell Mol Genet* 1987; 13: 235-244. 6. Lane DP, Crawford LV: T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. *Nature* 1979; 278: 261-263. 7. Finlay CA, Hinds PW, Levine AJ: The p53 proto-oncogene can act as a suppressor of transformation. *Cell* 1989; 57: 1083-1093. 8. Ara S, Lee PSY, Hansen MF, Saya H: Codon 72 polymorphism of the TP53 gene. *Nucleic Acids Res* 1990; 18: 4961. 9. Harms KL, Chen X: The C terminus of p53 family proteins is a cell fate determinant. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 2014-2030. 10. Vousden KH, Lu X: Live or let die: the cell's response to p53. *Nature Reviews Cancer* 2002; 2: 594-604. 11. Prives C, Hall PA: The p53 pathway. *J Pathol* 1999; 187: 112-126. 12. Stachura J, Domagała W: Nowotwory. [W:] Michalewicz M: Patologia znaczy słowo o chorobie. Polska Akademia Umiejętności, Kraków 2008: 209-211. 13. Zeng X, Keller D, Wu L, Lu H: UV but not gamma irradiation accelerates p53-induced apoptosis in teratocarcinoma cells by repressing MDM2 transcription. *Cancer Res* 2000; 60: 6184-6188. 14. Bálint EE, Vousden KH: Activation and activities of the p53 tumour suppressor protein. *Br J Cancer* 2001; 85: 1813-1823. 15. Patil SD, Rhodes DG, Burgess DJ: DNA-based Therapeutics and DNA Delivery Systems: A Comprehensive Review. *The AAPS Journal* 2005; 7: 61-77. 16. Amalfitano A: Utilization of adenovirus vectors for multiple gene transfer applications. *Methods* 2004; 33: 173-178. 17. Russell WC: Update on adenovirus and its vectors. *J Gen Virol* 2000; 81: 2573-2604. 18. Yeh P, Perricaudet M: Advances in adenoviral vectors: from genetic engineering to their biology. *FASEB J* 1997; 11: 615-623. 19. Amalfitano A, Parks RJ: Separating fact from fiction: assessing the potential of modified adenovirus vectors for use in human gene therapy. *Curr Gene Ther* 2002; 2: 111-133. 20. Chuah MK, Collen D, Vanden-Driessche T: Biosafety of adenoviral vectors. *Curr Gene Ther* 2003; 3: 527-543. 21. Yang Y, Nunes FA, Berencsi K et al.: Cellular immunity to viral antigens limits E1-deleted adenoviruses for gene therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 4407-4411. 22. Wilson RF: The death of Jesse Gelsinger: new evidence of the influence of money and prestige in human research. *Am J Law Med* 2010; 36: 295-325. 23. Brower V: Cancer gene therapy steadily advances. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 1276-1278. 24. Upton B, Chu Q, Li BD: Li-Fraumeni syndrome: the genetics and treatment considerations for the sarcoma and associated neoplasms. *Surg Oncol Clin N Am* 2009; 18: 145-156. 25. Guangyu M, Shimada H, Hiroshima K et al.: Gene medicine for cancer treatment: Commercially available medicine and accumulated clinical data in China. *Drug Des Devel Ther* 2008; 2: 115-122. 26. INGN 201: Ad-p53, Ad5CMV-p53, Adenoviral p53, p53 gene therapy – Introgen, RPR/INGN 201. *Drugs RD* 2007; 8: 176-187. 27. Yoo GH, Moon J, Leblanc M et al.: A phase 2 trial of surgery with perioperative INGN 201 (Ad5CMV-p53) gene therapy followed by chemoradiotherapy for advanced, resectable squamous cell carcinoma of the oral cavity, oropharynx, hypopharynx, and larynx: report of the Southwest Oncology Group. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2009; 135: 869-874. 28. Shimada H, Matsubara H, Shiratori T et al.: Phase I/II adenoviral p53 gene therapy for chemoradiation resistant advanced esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Sci* 2006; 97: 554-561. 29. Wolf JK, Bodurka DC, Gano JB et al.: A phase I study of Adp53 (INGN 201; ADVEXIN) for patients with platinum – and paclitaxel-resistant epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2004; 94: 442-448. 30. Withdrawal assessment report for Advexin inn: contusogene ladenovec Procedure No. EMEA/H/C/919. Doc. Ref: EMEA/692328/2008. 31. Sakai R, Kagawa S, Yamasaki Y et al.: Preclinical evaluation of Differentially Targeting Dual Virotherapy for Human Solid Cancer. *Mol Cancer Ther* 2010; 9: 1884-1893. 32. Huang PI, Chang JF, David H et al.: Targeted genetic and viral therapy for advanced head and neck cancers. *Drug Discov Today* 2009; 14: 570-578. 33. INGN 201: Ad-p53, Ad5CMV-p53, Adenoviral p53, INGN 101, p53 gene therapy – Introgen, RPR/INGN 201. *Biodrugs* 2003; 17: 216-222. 34. Peng Z, Yu Q, Bao L: The application of gene therapy in China. *Drugs* 2008; 11: 346-350. 35. Shi J, Zheng D: An update on gene therapy in China. *Curr Opin Mol Ther* 2009; 11: 547-553. 36. Wallraven G, Nemunaitis JJ, Maples PB: Compassionate approval process for experimental gene-based products. *J Clin Oncol* 2008; 26: 1899-1900.

nadesłano: 15.07.2013

zaakceptowano do druku: 26.08.2013

Adres do korespondencji:

*Katarzyna Drabczyk

Oddział Kliniczny Kliniki Onkologii SU

ul. Śniadeckich 10, 31-531 Kraków

tel.: +48 (12) 424-88-88

e-mail: kdrabczyk1@gmail.com