

The Role of Aptamers in the Treatment of Glioblastoma Multiform

Sadegh Shirian^{1*}, Reza Khetvan-Hafshejani^{1*}, Ehsan Ali², Sayed Mostafa Modarres Mousavi^{3,5}, Sara Abdollahi^{4,5}, Nasrin Lotfi Bakhshaesh⁶

¹Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

²Department of Pharmacology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

³Department of Nanobiotechnology, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

⁴Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

⁵Shefa Neuroscience Research Center, Khatam Alanbia Hospital, Tehran, Iran

⁶Department of Tissue Engineering, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Article Info:

Received: 27 Oct 2018

Revised: 24 Nov 2018

Accepted: 18 Dec 2018

ABSTRACT

Introduction: Glioblastoma multiform (GBM) or grade IV glioma is the most common and aggressive primary human brain tumor. Primary GBMs which arise spontaneously from glial cells and represent the vast majority of GBM are usually related to epidermal growth factor receptor amplification and mutations, deletion of phosphatase and tensin homolog (PTEN) on chromosome 10, p16 deletion, and TERT promoter mutation. Despite advances in treatment over the past few decades the median survival time of GBM patients is 12.1-14.6 months after diagnosis and only 3-5% of patients survive longer than 3 years. The effect of usual treatments, including surgery, radiotherapy, chemotherapy, and a combination of radiotherapy and chemotherapy, have extremely low effectiveness. Although surgery and temozolomide application during and after radiotherapy increases patient survival time, they have various side effects. Therefore, introducing a novel drug that able to inhibit GBM cell growth, proliferation, migration, and invasion is required. Since cancer cells have surface molecules that are over-expressed or altered, the molecular structures called aptamers have been designed using systematic evolution of ligands by exponential enrichment (SELEX) process to target these surface molecules. To date, several aptamers with advantages and disadvantages have been applied for the treatment of different diseases, including cancer, that are discussed in this study. **Conclusion:** Several aptamers with high capacity in the detection of GBM have been recently designed using the SELEX process that shows the high potential of aptamers in the management of GBM.

Key words:

1. Glioblastoma
2. Aptamers, Nucleotide
3. Oligodendroglia

*Corresponding Author: Sadegh Shirian, Reza Khetvan-Hafshejani

E-mail: Shiran85@gmail.com, rezakhetvan@gmail.com

نقش آپتامرها در درمان گلیوبلاستوم مولتی فرم

صادق شیریان^{۱*}، رضا ختوان هفشجانی^{۱*}، احسان عالی^۲، سید مصطفی مدرس موسوی^{۳،۵}، سارا عبدالهی^{۴،۵}، نسرين لطفی بخشایش^۶

^۱گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
^۲گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
^۳گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
^۴گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
^۵مرکز تحقیقات علوم اعصاب شفا، بیمارستان خاتم الانبیا، تهران، ایران
^۶گروه مهندسی بافت، دانشکده فناوری های نوین، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

اطلاعات مقاله:

تاریخ پذیرش: ۲۷ آذر ۱۳۹۷

اصلاحیه: ۳ آذر ۱۳۹۷

تاریخ دریافت: ۵ آبان ۱۳۹۷

چکیده

مقدمه: گلیوبلاستوم مولتی فرم یا گلیوما درجه ۴ متداول ترین و تهاجمی ترین تومور اولیه مغز انسان است. گلیوبلاستوم مولتی فرم اولیه که به طور خود به خودی از سلول های گلیا ایجاد می شود و اکثریت قریب به اتفاق گلیوبلاستوم مولتی فرم را تشکیل می دهند معمولاً مربوط به تقویت و جهش گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی، حذف فسفاتاز و *tensin homolog (PTEN)* روی کروموزوم ۱۰، حذف *P16* و جهش در پروموتور *TERT* می شود. علی رغم پیشرفت های درمانی در چند دهه اخیر میانگین زمان زنده ماندن بیماران مبتلا به گلیوبلاستوم مولتی فرم ۱۲/۱ تا ۱۴/۶ ماه بعد از تشخیص است و تنها ۳-۵ درصد از بیماران بیش از ۳ سال زنده می مانند. تأثیر درمان های معمول شامل: جراحی، رادیوتراپی، شیمی درمانی و ترکیب رادیوتراپی و شیمی درمانی اثر بسیار کمی دارند. هر چند جراحی و استفاده از *Temozolomide* در طول و بعد از دوره رادیوتراپی زمان زنده مانده بیماران را افزایش می دهد، اما آن ها دارای عوارض جانبی متعددی هستند. بنابراین معرفی یک دارو جدید که قادر به مهار رشد سلول گلیوبلاستوم مولتی فرم، تکثیر، متاستاز و تهاجم است، نیاز است. از آنجایی که سلول های سرطانی دارای مولکول های سطحی هستند که بیش از حد بیان شده و تغییر یافته هستند، ساختارهای مولکولی به نام آپتامر با استفاده از فرایند *SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential enrichment)* برای مورد هدف قرار دادن مولکول های سطحی طراحی شده اند. تا امروز آپتامرهای زیادی با مزایا و معایب برای درمان بیماری های مختلف از جمله سرطان که در این مطالعه مورد بحث قرار گرفته است، به کار برده شده اند. **نتیجه گیری:** اخیراً با استفاده از فرایند *SELEX* که نشان دهنده پتانسیل بالای آپتامرها در مدیریت گلیوبلاستوم مولتی فرم است، چندین آپتامر با قابلیت شناسایی بالای گلیوبلاستوم مولتی فرم طراحی شده است.

کلید واژه ها:

۱. گلیوبلاستوما
۲. آپتامرهای نوکلئوتیدی
۳. الیگوندرو گلیوما

* نویسنده مسئول: صادق شیریان، رضا ختوان هفشجانی

آدرس الکترونیکی: Shiran85@gmail.com, rezakhetvan@gmail.com

زیاد یا گیرنده‌هایی تغییر یافته دارند با استفاده از فرایند SELEX^{۱۱} ساختارهای مولکولی به نام آپتامرها^{۱۲} برای مورد هدف قرار دادن چنین گیرنده‌هایی ساخته شده است. آپتامرها مولکول‌های RNA یا DNA تک رشته‌ای و کوچکی هستند که همانند آنتی‌بادی‌ها به واسطه تشخیص شکل ۳ بعدی خاصی به ساختار هدف خاص خود متصل می‌شوند (۱۹-۱۶). آپتامرها در فرایندهای فارماکولوژیکی زیادی از جمله ساخت دارو، تشخیص بیماری، حمل دارو و مهار پروتئین‌ها استفاده می‌شوند. AMD اولین دارویی است که با کمک آپتامر در سال ۲۰۰۴ ساخته شد که در درمان دژنراسیون چشم وابسته به سن استفاده می‌شود (۲۰). تا امروز آپتامرهای زیادی برای درمان بیماری‌های مختلفی از جمله سرطان -عامل اصلی مرگ و میر جهانی- استفاده شده است. تا امروز با کمک فرایند Cell-SELEX چندین آپتامر برای درمان سرطان‌های مختلفی از جمله آدنوکارسینوم مجاری پانکراس، سرطان کولن (۲۱)، سرطان سینه (۲۲)، لوکمی (۲۳) و سرطان‌های کبد (۲۵، ۲۴) استفاده شده است. AS1411 اولین آپتامری است که برای درمان سرطان در انسان آزمایش شده است (۲۶). اخیراً محققین با کمک فرایند SELEX چندین آپتامر با قابلیت شناسایی بالا گلیوبلاستوم مولتی‌فرم ساخته‌اند که نشان‌دهنده پتانسیل بالا آپتامرها برای درمان گلیوبلاستوم مولتی‌فرم است.

آپتامر: کاوشگری نو در تشخیص ساختار هدف

آپتامرها یا آنتی‌بادی‌های شیمیایی اولین بار به طور مستقل توسط Tuerk و Gold (۲۷) و Ellington و Szostak (۲۸) معرفی شدند. آپتامرها مولکول‌های کوتاه و تک رشته‌ای RNA یا DNA هستند که به واسطه شناسایی ساختارهای ۳ بعدی خاصی قادر به اتصال به مواد متنوعی از جمله پروتئین‌ها، یون‌ها، مولکول‌های سموم و حتی کل سلول هستند (۱۹-۱۶). مشابه آنتی‌بادی‌ها آپتامرها هم با تمایل بالا و با ثابت تعادل‌هایی در طیف نانومولار تا پیکومولار به ساختار هدف خود متصل می‌شوند (۲۸، ۱۸، ۱۶). آپتامرها نسبت به آنتی‌بادی‌ها برتری‌های زیادی دارند از جمله: (۱) پایداری طولانی‌مدت (۲) سمیت و تحریک ایمنی پایین (۳) تمایل و اختصاصیت بالا برای ساختار هدف (۴) کم هزینه و سریع بودن فرایندهای ساخت و اصلاح (۵) و وزن مولکولی پایین (۶) (۲۹، ۳۰). آپتامرها قابلیت انعطاف بالایی در اتصال مناسب به گیرنده خود دارند به طوری که آن‌ها را قادر به شناسایی گیرنده‌ها می‌کند که توسط آنتی‌بادی‌ها قابل شناسایی نیستند (۳۱). علاوه بر این برخلاف واکنشگرهای پروتئینی که

(GBM)^۱ یا گلیوما^۲ درجه ۴ متداول‌ترین و تهاجمی‌ترین تومور اولیه^۳ مغز و سیستم عصبی خودکار انسان است (۱). بیشتر گلیوبلاستوم مولتی‌فرم‌ها از نوع اولیه هستند و به طور خود به خودی از تغییرات نئوپلاستیک در سلول‌های glial ایجاد می‌شوند؛ این تغییرات نئوپلاستیک شامل تقویت و جهش در ژن گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی (EGFR)^۴، حذف (PTEN)^۵ روی کروموزوم شماره ۱۰، حذف P16 و جهش در پروموتور TERT هستند. گلیوبلاستوم مولتی‌فرم‌های ثانویه^۶ که با پیشرفت یک گلیوما با درجه پایین‌تر ایجاد می‌شوند ناشی از غیرفعال شدن مسیرهای p53 و retinoblastoma. بیان بیش از حد گیرنده فاکتورهای رشد مشتق از پلاکت A و الف (PDGFA/PDGFRa)، ازدست رفتن هتروزایگوسیتی^۷ کروموزوم شماره ۱۹، جهش در ایزوسیترات دهیدروژناز^۸ و^۹ TP53 و ATRX هستند (۵-۲). علی‌رغم پیشرفت‌های درمانی در چند دهه اخیر میانگین زمان زنده ماندن بیماران مبتلا به گلیوبلاستوم مولتی‌فرم ۱۲/۱ تا ۱۴/۶ ماه بعد از تشخیص سرطان است و تنها ۵-۳ درصد بیماران مبتلا به گلیوبلاستوم مولتی‌فرم بیش از ۳ سال زنده می‌مانند (۶).

درمان‌های معمول حاضر شامل برداشت به روش جراحی، رادیوتراپی، شیمی درمانی و ترکیب رادیوتراپی و شیمی درمانی اثر بسیار کمی دارند (۷). میانگین سن بالای مبتلایان، محل این تومور، درصد بالا تهاجم تومور و دانش ناکافی در مورد پاتوفیزیولوژی این تومور، برداشت آن به روش جراحی را در اکثر موارد ناممکن ساخته است (۸). متأسفانه تا به امروز bevacizumab تنها دارو ضد رگ‌زایی^۹ تأیید شده برای درمان گلیوبلاستوم مولتی‌فرم است. مکانیسم اثر این دارو اثر مهارری بر فاکتور رشد اندوتلیوم عروق (VEGF)^{۱۰} است (۹). هرچند جراحی و استفاده از Temozolomide در طی دوره شیمی درمانی و بعد از شیمی درمانی میانگین زمان زنده ماندن بیماران را افزایش می‌دهد ولی این داروها دارای عوارض جانبی زیادی هم هستند (۱۱، ۱۰). علاوه بر این‌ها در بیشتر موارد مقاومت به شیمی درمانی و عود سرطان رخ می‌دهد (۱۳، ۱۲). آنتی‌بادی‌های منوکلونال که امروزه برای درمان سرطان‌های مختلف مثل renal cell carcinoma و melanoma و سرطان‌های خون استفاده می‌شود در درمان گلیوبلاستوم مولتی‌فرم ناموفق بوده‌اند (۱۵، ۱۴). بنابراین معرفی یک دارو جدید برای مهار رشد، تکثیر، متاستاز، تهاجم و افزایش حساسیت گلیوبلاستوم مولتی‌فرم ضروری است. با توجه به اینکه سلول‌های سرطانی در سطح خود گیرنده‌هایی با بیان

¹ Glioblastoma multiforme

² Glioma

³ Primary

⁴ Epidermal growth factor receptor

⁵ Phosphatase and tensin homolog

⁶ Secondary

⁷ Heterozygosity

⁸ Isocitrate dehydrogenase

⁹ Angiogenesis

¹⁰ Vascular endothelial growth factor

¹¹ Systematic evolution of ligands by exponential enrichment

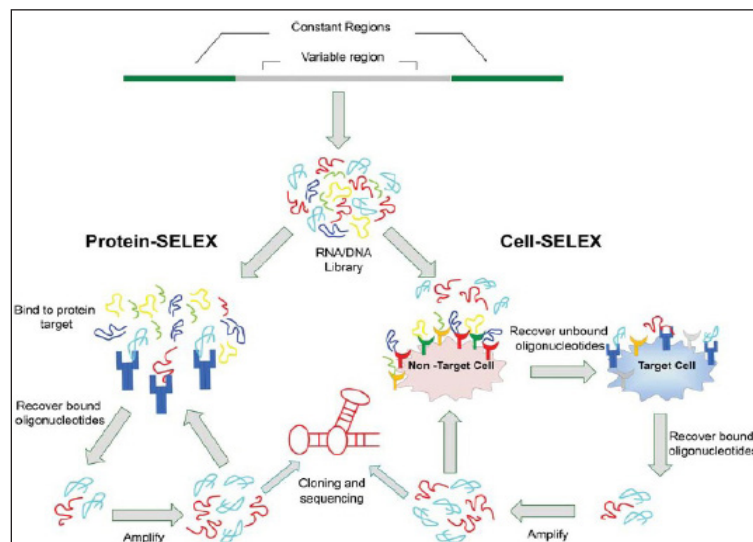
¹² Aptamers

اول با اتصال به گیرنده ترانسفرین موجود در سطح سد خونی - مغزی^{۱۳} آپتامر دوم را از این سد عبور می‌دهد و سپس آپتامر دوم به ساختار هدف خود موجود در مغز متصل شده و عمل خود را بروز می‌دهد، این ساختار هدف می‌تواند یک اختلال عصبی مثل تومور گلیوبلاستوم مولتی‌فرم باشد (۳۷).

آپتامرهایی با ساختار هدفی به نام Nucleolin

اولین آپتامری که برای درمان سرطان استفاده شده توسط فرایند SELEX ساخته نشده است. این آپتامر (AS1411) تصادفاً با مشاهده اتصال آن به سلول‌های سرطانی کشف شد (۳۸). بعدها مشخص شد که ساختار هدف Nucleolin AS1411 است؛ یک پروتئین که در هسته تمام سلول‌ها بیان می‌شود ولی در سیتوپلاسم و غشا پلاسمایی سلول‌های سرطانی بیش از حد بیان می‌شود. AS1411 یک آپتامر با ۲۶ نوکلئوتید و از جنس DNA است که در شرایط آزمایشگاهی اثرات مستقیم ضد تکثیر روی سلول‌های سرطانی شده دارد (۳۹). AS1411 در هنگام انفوزیون با دوزی تا مقدار ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم/روز ایمن و قابل استفاده برای تومورهای مختلفی است هرچند که در مقادیری بسیار کمتر از آنچه برای تأثیر مستقیم مورد نیاز است وارد هسته می‌شود. AS1411 به منظور استفاده در تصویرسازی تشدید مغناطیسی (MRI)^{۱۴} با نانو ذرات آهن و مس کونژوگه شده و موفق بوده است (۴۰). Luo و همکاران با استفاده از AS1411 موفق به درمان گلیوبلاستوم مولتی‌فرم در شرایط آزمایشگاهی شده‌اند. آن‌ها با کونژوگه کردن نانوذرات paclitaxel به AS1411 موفق به انتقال این نانوذرات به سلول‌های U87MG-

دچار دنا توره شدن غیرقابل برگشت می‌شوند، آپتامرها بعد از دنا توره شدن به راحتی با بازآرایی به ساختار ۳ بعدی اولیه خود برمی‌گردند. به علت اندازه کوچک آپتامرها نسبت به آنتی‌بادی‌ها (آپتامرها ۸-۱۵ کیلو دالتون در برابر آنتی‌بادی‌ها ۱۵۰ کیلو دالتون) آپتامرها نفوذ به غشا آسان، باقی‌مانده خونی کوتاه و پاک شدن سریع از بدن توسط فیلتراسیون کلیوی دارند (۳۴-۳۲). آپتامرها توسط فرایندی آزمایشگاهی به نام SELEX که در اوایل دهه ۱۹۹۰ معرفی شد ساخته می‌شوند (۲۸) فرایند SELEX تکرار چندین مرحله است؛ این مراحل عبارتند از: (۱) انکوبه کردن استخری از معمولا ۱۰^{۱۳}-۱۰^{۱۵} الیگونوکلئوتیدهای تصادفی با یک ساختار هدف خاص، (۲) جداسازی الیگونوکلئوتیدهایی که به ساختار هدف متصل شده‌اند از الیگونوکلئوتیدهای آزاد، (۳) استخراج کمپلکس الیگونوکلئوتید-پروتئین (ساختار هدف) - (۴) تکثیر توالی‌های باند شده به هدف با فرایندهای RT-PCR یا PCR. بسته به ترکیب ساختار هدف این مراحل ۱۶-۸ بار تکرار می‌شوند (۳۶، ۳۵). در واقع اساس عملکرد آپتامرها بر این فرض است که هر نوع سلول آنتی‌ژن‌های خاصی را بر سطح خود بیان می‌کند به طوری که سایر سلول‌ها آن آنتی‌ژن‌ها را بیان نمی‌کنند. اخیراً قابلیت درمانی آپتامرها تک عملکردی با توسعه آپتامرهایی با عملکرد دوگانه افزایش یافته است. نوع خاصی از این آپتامرها با عملکرد دوگانه از طریق اتصال ۲ آپتامر به طوری که اتصال آپتامر اول به ساختار هدف خود بر روی اتصال آپتامر دوم به ساختار هدف خود تأثیر می‌گذارد. این آپتامرها با عملکرد دوگانه به ما قابلیت انتقال دارو به محل‌های غیرقابل دسترسی مثل مغز را می‌دهد به این ترتیب که آپتامر



تصویر ۱- نمایی از فرایند SELEX. RNA یا DNA دارای یک ناحیه متغیر هستند که از دو پهلو به دو ناحیه ثابت متصل شده‌اند. در نواحی ثابت محل‌هایی برای اتصال پرایمر PCR و همچنین پروموتورهای برای اتصال RNA پلیمراز T7 (در صورتی که استخر حاوی RNA باشد). در Protein-SELEX (چپ) استخر با پروتئین‌های هدف انکوبه می‌شود. برعکس در Cell-SELEX در ابتدا استخر با سلول‌هایی غیر از سلول‌های هدف (کنترل منفی) و سپس سلول‌های هدف (کنترل مثبت) انکوبه می‌شود. در هر دو روش توالی‌های به دست آمده با فرایندهای خاصی تکثیر می‌شوند (منتشر شده توسط Camorani ۲۰۱۵- (۱۶).

¹³ Blood brain barrier

¹⁴ Magnetic resonance imaging

آزمایشگاهی نشان داده‌اند که تمایل TTA1 به TN-C انسان بیست برابر بیشتر از تمایل آن برای TN-C موش است. در تزریق داخل وریدی TTA1 رادیواکتیو شده با ^{99m}Tc به موش TTA1 به طور اختصاصی به زونگرافت تومور گلیوبلاستوم مولتی‌فرم و سلول‌های توموری U251 متصل شده است (۴۵).

آپتامرهایی با ساختار هدفی به نام گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی

آپتامری با ساختار هدف رسپتور فاکتور رشد اپیدرمی یا واریانت جهش یافته شماره ۳ آن (EGFRvIII) یک کاندیدای عالی برای درمان glioblastoma است چون که در بیشتر موارد گلیوبلاستوم مولتی‌فرم بیان بیش از حد و یا جهش در ساختارهای هدف نام برده رخ می‌دهد (۵۴-۵۲). علی‌رغم درمان ترکیبی با آنتی‌بادی‌های منوکلونال و مولکول‌های کوچک مهارکننده تیروزین کیناز برای مهار EGFR نتایج به دست آمده رضایت بخش نیستند که دال بر نیاز به توسعه یک روش درمانی جدید و مؤثر ضد EGFR است. با استفاده از فرایند SELEX و سلول‌های توموری U87MG بیان‌کننده واریانت شماره ۳ EGFR و واریانت وحشی EGFR به ترتیب به‌عنوان انتخابگرهای مثبت و منفی آپتامری به نام U2 ساخته شده است (۵۵).

U2 به طور موفقیت‌آمیز در زونگرافت گلیوبلاستوم مولتی‌فرم بیان‌کننده EGFRvIII موجود در موش‌های BALB/c نر تجمع یافته و مؤثر بوده است. شواهد حاکی از عدم توانایی U2 در عبور از سد خونی-مغزی است لذا کونژوگه کردن U2 با یک آپتامری که ساختار هدف آن گیرنده‌های ترانسفرین موجود در سد خونی-مغزی است ممکن است به U2 در عبور از این مانع کمک کند. Zhang و همکاران گزارش داده‌اند که U2 به صورت وابسته به دوز و وابسته به زمان باعث کاهش بقای سلول‌های توموری گلیوبلاستوم مولتی‌فرم بیان‌کننده EGFRvIII می‌شود. آن‌ها همچنین نشان داده‌اند که U2 باعث کاهش مقدار ATP و کاهش فسفوریلاسیون عوامل اصلی در ترمیم آسیب DNA از جمله هیستون فسفریله شده H2AX، 53BP1^{۱۶} و ATM می‌شوند لذا آسیب DNA ناشی از اشعه‌ها ترمیم نمی‌شود که نشان‌دهنده پتانسیل U2 در افزایش حساسیت گلیوبلاستوم مولتی‌فرم به پرتودرمانی است. Tan و همکاران آپتامری به نام آپتامر ۳۲ را با فرایند SELEX و با استفاده از سلول‌های U87MG-EGFRvIII به‌عنوان هدف و سلول‌های U87MG به‌عنوان کنترل منفی ساخته‌اند (۵۶). آزمون‌های ارزیابی مختلف نشان داده‌اند که آپتامر ۳۲ به سلول‌های توموری بیان‌کننده EGFRvIII (U87MG-EGFRvIII) متصل می‌شوند در حالی که هیچ‌گونه پیوندی با سلول‌های طبیعی

PMT48 موجود در زونگرافت گلیوبلاستوم مولتی‌فرم و افزایش زمان زنده ماندن در تعدادی موش BALB/c nude شده‌اند. اما علی‌رغم این نتایج امیددهنده، در ارزیابی AS1411 برای درمان مبتلایان به کارسینوم متاستاتیک سلول‌های کلیوی تنها یک بیمار از بین ۳۵ بیمار به درمان پاسخ نشان داده است (۴۱).

آپتامرهایی با ساختار هدفی به نام Tenascin-C

(TN-C)^{۱۵} یک گلیکوپروتئین بزرگ در ماتریکس خارج سلولی است (۴۲). بیان TN-C در بافت‌های طبیعی افراد بالغ صفر یا بسیار کم است. TN-C در هنگام رشد جنین، ترمیم زخم، آترواسکروز، پسوریازیس و رشد تومور بیش از حد بیان می‌شود. در حدود ۹۰ درصد گلیوماهای بدخیم خصوصاً گلیوبلاستوم مولتی‌فرم این گلیکوپروتئین بیش از حد بیان می‌شود و این برتری را آپتامر دارد که در بافت‌های طبیعی مغز به مقدار کم بیان می‌شود. یافته‌ها حاکی از وجود ارتباطی بین بیان بیش از حد TN-C و فرایند رگ‌زایی در رشد تومور است (۴۳-۴۶).

آپتامرهای نوکلئیک اسیدی علیه TN-C در دسترس هستند به طوری که محدودیت‌های آنتی‌بادی‌های علیه TN-C یعنی نیاز به انسانی کردن آنتی‌بادی‌های موش و نفوذ آهسته آنتی‌بادی‌های بلند را ندارند. اولین آپتامر برای درمان گلیوبلاستوم مولتی‌فرم با کمک فرایند cell-SELEX و با استفاده از رده سلولی U251 ساخته شده است. این آپتامر از جنس DNA است و GBI-10 نامیده شده است. GBI-10 در تشخیص TN-C بر سطح سلول‌های سرطانی در شرایط آزمایشگاهی موفق بوده است (۴۹-۴۷). رادیواکتیو کردن GBI-10 با ایزوتوپ‌های برش‌نگاری با گسیل پوزیترون (^{18}F و ^{64}Cu) امکان تصویربرداری از TN-C در سلول‌های موجود زونگرافت گلیوبلاستوم مولتی‌فرم و سلول‌های MDA-MB-435 موجود در زونگرافت سرطان سینه در موش را فراهم کرده است (۵۰). هرچند پاکسازی سریع GBI-10 از بدن برای برش‌نگاری با گسیل پوزیترون مطلوب است ولی مانع از ورود مؤثر GBI-10 به داخل تومور می‌شود که نشان‌دهنده نیاز به اصلاح GBI-10 به‌منظور انتقال مؤثر نانوذرات عکسبرداری به بافت تومور است. یکی از این اصلاحات اضافه کردن D-/L- isonucleotides و 20-di phosphoramidite به GBI-10 است که باعث افزایش پایداری و تمایل GBI-10 به سلول‌های U251 می‌شود (۵۱). آپتامری به نام TTA1 با کمک فرایند SELEX و با استفاده از سلول‌های توموری U251 و TN-C خالص انسان ساخته شده است (۴۲). TTA1 از جنس RNA و حاوی 20-F-pyrimidine است که باعث افزایش مقاومت TTA1 در برابر تجزیه توسط نوکلئاز موجود در خون می‌شود. آزمون‌های

¹⁵ Tenascin -C

¹⁶ 53 binding protein1

ورود سلول‌های استرومال به ریزمحیط اطراف تومور، اختلال در روابط بین تومور-سلول‌های استرومال و اختلال در مسیرهایی که توسط ریزمحیط اطراف تومور فعال می‌شود. به طور مثال مشخص شده است که در صورت وجود هیپوکسی و ویترونکتین^{۱۷} ماده‌ای به نام integrin $\beta 3$ با EGFRvIII واکنش می‌دهد به این صورت که یک مسیر پیام‌رسانی به نام SRC/FAK/EGFRvIII فعال می‌کند و از این طریق باعث پیشرفت تومور گلیوبلاستوم مولتی‌فرم می‌شود. لذا می‌توان با استفاده از CL4 و اثر مستقیم CL4 بر روی گیرنده EGFRvIII/Integrin $\beta 3$ کمپلکس EGFRvIII/Integrin $\alpha v \beta 3$ در نتیجه اثر مهار آنتاگونیست‌های Integrin $\alpha v \beta 3$ بر رشد و متاستاز گلیوبلاستوم مولتی‌فرم را افزایش داد (۶۴).

آپتامرهایی با ساختار هدف Axl

تفاوت‌های زیادی در میزان بیان ژن‌های گیرنده‌های تیروزین‌کینازی و نقش آن‌ها در تکثیر، تمایز و بقای سلول‌های توموری گلیوبلاستوم مولتی‌فرم وجود دارد (۶۵-۶۷). Axl یک نوع گیرنده تیروزین‌کینازی است که معمولاً در گلیوبلاستوم مولتی‌فرم بیان می‌شود (۶۸-۷۰). GL21.T یک نوع آپتامر است که اختصاصاً به گیرنده Axl متصل شده و آن را مهار می‌کند بنابراین ممکن است در درمان گلیوبلاستوم مولتی‌فرم مؤثر باشد (۷۱). GL21.T میزان مهاجرت سلول‌های توموری ریه A549 و سلول‌های توموری گلیوبلاستوم مولتی‌فرم (U87MG) در شرایط آزمایشگاهی و همچنین زونگرافت تومور گلیوبلاستوم مولتی‌فرم در موش‌های فاقد تیموس را کاهش داده است. همچنین گزارش شده است که GL21.T قادر به عبور از مدل‌های داخل آزمایشگاهی سد خونی-مغزی است که نشان‌دهنده پتانسیل آن برای استفاده به‌عنوان یک حامل دارویی در کلینیک است (۷۲).

آپتامرهای ساختار هدف گیرنده فاکتور رشد مشتق از پلاکت β

گیرنده فاکتور رشد مشتق از پلاکت β (PDGFR β)^{۱۸} یک نوع گیرنده سطحی تیروزین‌کینازی است که در فرایندهای مختلفی از جمله تکثیر، مهاجرت و رگزایی بافت‌های توموری نقش دارد (۷۳، ۷۴). Camorani و همکاران اولین آپتامری که قادر به شناسایی PDGFR β است را طی فرایند SELEX cell-internalization با کمک سلول‌های U87MG تولید کرده‌اند. این آپتامر (Gint4.T) به صورت اختصاصی به PDGFR β متصل می‌شود و همچنین قادر به تمیز PDGFR β از گیرنده‌ای با ساختار مشابه آن یعنی PDGFR α است (۷۵). مشاهده شده است که Gint4.T پیام‌های وابسته به PDGFR β

(U87MG) و یا رده سلول‌های کلیوی HEK293 ایجاد نمی‌کند. آزمایشات Pull-down و confocal microscopy نشان داده‌اند که آپتامر ۳۲ به داخل هسته سلول‌های توموری وارد می‌شود که نشان‌دهنده پتانسیل آپتامر ۳۲ برای استفاده به‌عنوان حامل داروها در درمان گلیوبلاستوم مولتی‌فرم است. کونژوگه شدن آپتامر ۳۲ با c-Met small interfering RNA (siRNA) باعث انتقال موفق siRNA به سلول‌های هدف (U87MG-EGFRvIII) و در نتیجه کاهش بیان ژن و متعاقباً تکثیر سلول‌های هدف و در عین حال افزایش آپوپتوز شده است (۵۷). مشاهده شده است که آپتامر ۳۲ قادر به عبور از سد خونی-مغزی و تجمع در توده توموری گلیوبلاستوم مولتی‌فرم در موش است (۵۸).

یک آپتامر ضد EGFR از جنس RNA به نام CL4 با کمک فرایند SELEX و با استفاده از سلول‌های سرطانی ریه با قابلیت اتصال به هر دو نوع موتانت EGFR یعنی واریانت شماره ۳ و واریانت وحشی ساخته شده است. به واسطه اتصال به ساختار هدف خود (EGFR) CL4 مانع از فسفوریله شدن تیروزین به صورت وابسته به زمان و کاهش بقا، تکثیر، مهاجرت و تهاجم سلول‌های توموری در شرایط آزمایشگاهی شده است (۵۹). CL4 آثار درمانی خوبی با مهار EGFR از خود نشان می‌دهد، هرچند که به کارگیری مهارکننده‌های EGFR به تنهایی در درمان گلیوبلاستوم مولتی‌فرم مؤثر نیست لذا CL4 احتمالاً به‌عنوان یک حامل برای انتقال داروها به توده توموری مؤثرتر است (۶۰). یک آپتامر از جنس RNA حاوی 20-F-pyrimidine به نام E07 با ساختار هدف EGFR انسان توسط فرایند SELEX ساخته شده است (۶۱). E07 به صورت رقابتی به هر دو واریانت EGFR یعنی واریانت شماره ۳ و واریانت وحشی متصل می‌شود و باعث مهار اتصال لیگاند و فسفوریلاسیون خود به خودی این گیرنده‌ها در شرایط آزمایشگاهی می‌شود. E07 با کمک بیوجیپ‌ها قادر به گرفتن و جداسازی سلول‌های توموری موجود در خون است که نشان‌دهنده پتانسیل آن در تشخیص و ارزیابی متاستاز در بیماران است (۶۲، ۶۳).

اخیراً مشخص شده است که بین EGFRvIII جهش یافته و ریزمحیط گلیوبلاستوم مولتی‌فرم ارتباطی عملکردی وجود دارد به طوری که این ریزمحیط می‌تواند باعث افزایش قابلیت تهاجم توده توموری بشود. امروزه مشخص شده است که سلول‌های توموری ارتباط تنگاتنگی با ماتریکس خارج سلولی و سلول‌های استرومال موجود در ریزمحیط اطراف تومور دارند. این ارتباط تنظیم‌کننده میزان رگزایی و تهاجم تومورهای مختلف از جمله گلیوبلاستوم مولتی‌فرم است. تلاش‌های فراوانی صرف اختلال در

¹⁷ Vitronectin

¹⁸ Platelet derived growth factor receptor-beta

و نفوذ به تودهٔ توموری گلیوبلاستوم مولتی‌فرم هستند که نشان‌دهندهٔ پتانسیل آن‌ها برای تشخیص و درمان گلیوبلاستوم مولتی‌فرم است (۸۴).

آپتامر: حاملی ایده‌آل برای داروهای ضد گلیوبلاستوم مولتی‌فرم

گزارش‌های زیادی مبنی بر توانایی آپتامرها در عبور از غشا پلاسمایی سلول بعد از اتصال به پروتئین‌های سطح سلول وجود دارد؛ بنابراین، آپتامرها می‌توانند نقش یک حامل اختصاصی برای واکنشگرهای ثانویه‌ای که عملکرد آن‌ها وابسته به رسیدن به ساختمان خاصی در داخل سلول است را ایفاء کنند. تا به امروز تعداد زیادی آپتامر برای وارد کردن مواد مختلفی به سلول از جمله نانوذرات (۸۵-۸۸)، داروهای شیمی درمانی (۸۹)، سموم (۹۰)، آنزیم‌ها (۹۱)، مواد رادیواکتیو (۵۲)، small interfering RNAs (۹۳، ۹۲) و miRNAs (۹۷-۹۴) به‌منظور تشخیص و درمان انواع مختلفی از تومورها استفاده شده است. کونژوگه شدن آپتامر با نانوذرات باعث کاهش پاکسازی کلیوی و افزایش نیمه عمر پلاسمایی و زیست‌فراهمی آپتامر در داخل بدن موجود زنده می‌شود (۹۸). با کونژوگه کردن آپتامر و نانوذرات مختلف تصویربرداری تشدید مغناطیسی از تصویربرداری آناتومیکی سنتی به تصویربرداری در سطح مولکولی ارتقا یافته است (۹۹-۱۰۱). آپتامرهای رادیواکتیو شده با ^{99m}Tc با ساختار هدف TN-C و MUC1 (نوعی پروتئین غشایی) برای عکسبرداری از هستهٔ سلول‌های توموری استفاده شده است. AS1411 یک آپتامر غنی از باز آلنی گوانوزین از جنس DNA و با ساختار هدفی به نام nucleolin است که برای انتقال نانوذرات به سلول‌های مغزی سرطانی شده استفاده شده است (۸۴). Gao و همکاران مشاهده کرده‌اند که مجموعهٔ آپتامر GMT8-نانوذرات به تودهٔ سلول‌های U87 در شرایط آزمایشگاهی نفوذ می‌کند (۱۰۲).

آپتامری به نام WQY-9-B قادر به اتصال انتخابی و ورود به سیتوپلاسم سلول‌های سرطانی در دمای ۳۷ درجهٔ سانتیگراد (دمای بدن) است که دال بر پتانسیل آن در حمل داروها به داخل تودهٔ توموری است. گزارش شده است که آپتامر U2 رادیواکتیو شده با ^{188}Re در اثر تزریق داخل وریدی در تودهٔ توموری بیان‌کنندهٔ EGFRvIII در موش تجمع می‌یابد که دال بر توانایی U2 در تشخیص توسط تصویربرداری برای تومورهای بیان‌کنندهٔ EGFRvIII از جمله گلیوبلاستوم مولتی‌فرم است (۱۰۳). مهم‌ترین فاکتورهای ضروری برای تصویربرداری سینتی‌گرافی که ترجیحاً یک ساعت بعد از استفاده از آپتامر انجام می‌شود عبارتند از: میزان جذب، پاکسازی از خون و نسبت بالا تومور به

در کشت سلول‌های تومور گلیوبلاستوم مولتی‌فرم انسان مهار می‌کند و همچنین قادر به ورود به سلول‌های توموری است که دال بر پتانسیل این آپتامر در استفاده به‌عنوان یک حامل دارویی است. گزارش شده است که استفادهٔ ترکیبی از Gint4.T که ضد PDGFR β هست به همراه CL4 که ضد EGFR است یک اثر سینرژیک (تقویت‌کننده) در مهار رشد سلول‌های توموری U87MG در موش دارد (۷۶-۷۸). به‌منظور بررسی توانایی Gint4.T در حمل مواد دارویی، Gint4.T با یک anti-microRNA-10b کونژوگه شده است و مشاهده شده است که بیان ژن‌های تومورزای microRNA-10b موجود در سلول‌های بنیادی تومور^{۱۹} مهار شده است که نشان‌دهندهٔ توانایی Gint4.T در انتقال مواد دارویی است (۷۲). Kumar و همکاران گزارش داده‌اند که Gint4.T قادر به عبور از مدل آزمایشگاهی سد خونی-مغزی است که بیان‌کنندهٔ یکی از علل استفاده از آن برای حمل مواد دارویی است (۷۹).

آپتامرهایی که سلول‌های آغازکنندهٔ تومور را هدف قرار می‌دهند

یک یافتهٔ جدید در بیولوژی سرطان کشف سلول‌های آغازکنندهٔ توموری (TIC) یا سلول‌های بنیادی سرطان است که گمان می‌شود در توسعهٔ تومورها و مقاومت آن‌ها نسبت به درمان نقش مهمی داشته باشند (۸۰). CD133-یک گلیکوپروتئین قادر به شناسایی TIC در تودهٔ بافت گلیوبلاستوم مولتی‌فرم-هنوز هم یک گیرندهٔ مورد توجه برای درمان گلیوبلاستوم مولتی‌فرم است علی‌رغم اینکه برخی سلول‌ها CD133 منفی موجود در تودهٔ گلیوبلاستوم مولتی‌فرم قادر به خودبازسازی هستند که باعث می‌شود CD133 نتواند شناساگر^{۲۱} همهٔ سلول‌های بنیادی در تودهٔ گلیوبلاستوم مولتی‌فرم باشد (۸۱). محدودیت دیگر گیرندهٔ CD133 این است که ممکن است این گیرنده طی فرایندهایی کوتاه شود و در نتیجه آنتی‌بادی مربوطه (AC133) قادر به شناسایی آن نباشد (۸۲). Shigdar و همکاران با کمک فرایند SELEX و با استفاده از سلول‌های HEK293T-Cd133 به‌عنوان کنترل مثبت و سلول‌های نرمال HEK293 به‌عنوان کنترل منفی آپتامرهایی (CD133-A15 و Cd133-B19) با ساختار هدف CD133 تولید کرده‌اند. CD133-A15 دقیقاً به همان اپیتوپی در CD133 که آنتی‌بادی AC133 به آن متصل می‌شود پیوند می‌یابد ولی Cd133-B19 به اپیتوپی متفاوت در CD133 متصل می‌شود که دال بر پتانسیل Cd133-B19 در شناسایی TIC موجود در تودهٔ گلیوبلاستوم مولتی‌فرم است (۸۳). با استفاده از سلول‌های توموری گلیوبلاستوم مولتی‌فرم استخراج شده از بافت زئوگرافت انسان و فرایند SELEX آپتامرهایی (A3 و A4) ساخته شده است که قادر به شناسایی TIC

¹⁹ GBM stem cells

²⁰ Tumor-initiating cells

²¹ Marker

²² MicroRNAs

پیرامونی جدا می‌کند به طوری که مولکول‌های بزرگتر از ۵۰۰ دالتون قادر به ورود به مغز نیستند. هرچند که این سد مانع از ورود مواد سمی به مغز و محافظت از مغز می‌شود همچنین مانع از ورود عمده مولکول‌های دارویی (۹۸ درصد) به مغز و در نتیجه باعث محدودیت زیادی در درمان اختلالات مغزی شده است. تلاش‌های فراوانی برای توسعه مکانیسم‌های عبور از این سد صورت گرفته است که منجر به طراحی مکانیسم‌های تهاجمی و غیرتهاجمی شده است. اختلال موقت در سد خونی-مغزی و تزریق درون سخت شامه‌ای از جمله مکانیسم‌های تهاجمی هستند (۱۱۲-۱۱۰، ۹۲).

اختلال موقتی در سد خونی-مغزی با استفاده از امواج فراصوت متمرکز شده به‌منظور تغییر لایه اندوتلیوم عروق مغزی حاصل می‌شود که دارای معایبی از جمله نکروز در محل، التهاب عروق و تشنج است (۱۱۴، ۱۱۳). تزریق درون سخت شامه‌ای دارو مورد نظر را با کاتر به مایع مغزی-نخاعی می‌رساند که این روش هم دارای معایبی از جمله احتمال فیلتر شدن دارو توسط مایع مغزی-نخاعی قبل از رسیدن به محل مورد نظر و احتمال ایجاد عفونت است (۱۱۶، ۱۱۵، ۱۱۲، ۱۱۱). لذا نیاز به یک مکانیسم جدید برای عبور از سد خونی-مغزی به‌منظور درمان مؤثر گلیوبلاستوم مولتی‌فرم ضروری می‌نماید. اخیراً اثبات شده است که یکسری گیرنده منتقل‌کننده مواد در سطح سد خونی-مغزی وجود دارد بنابراین می‌توان با استفاده از اندوسیتوز وابسته به گیرنده‌ای داروهای مختلف را به مغز منتقل کرد. Yu و همکاران یک آنتی‌بادی را با استفاده از گیرنده‌های ترانسفرین موجود بر سطح سد خونی-مغزی به‌طور موفقیت‌آمیز وارد مغز کرده‌اند (۱۱۷). اما از آنجایی که آنتی‌بادی‌ها ایمنی میزبان را تحریک می‌کنند نیاز به یک عامل ایمن برای عبور از سد خونی-مغزی است (۱۱۸).

اخیراً آپتامرهایی با عملکرد دوگانه ساخته شده‌اند به این صورت که یک آپتامر با استفاده از گیرنده‌های ترانسفرین موجود در سد خونی-مغزی آپتامر دوم را که مربوط به یک اختلال مغزی مثلاً گلیوبلاستوم مولتی‌فرم هست وارد مغز می‌کند (۱۱۹). گیرنده ترانسفرین یک گلیکوپروتئین غشایی است که مسئول هموستاز آهن است و به علت بیان بالا آن در سطح سد خونی-مغزی برای این هدف انتخاب شده است (۱۲۱، ۱۲۰). Macdonald و همکاران که با مکانیسم یاد شده و با ساخت آپتامرهایی با عملکرد دوگانه توانسته‌اند بر سد خونی-مغزی در شرایط آزمایشگاهی غلبه کنند. آن‌ها همچنین گزارش داده‌اند که با تزریق درون سیاهرگی آپتامرهای با عملکرد دوگانه به موش سالم آپتامرهای

خون. به علت اندازه کوچک و طبیعت آنیونی آپتامرها میزان پاکسازی از خون آپتامرها توسط کبد و کلیه بالا است که همین امر آپتامرها را عوامل ایده‌آلی برای تصویربرداری و تشخیص گلیوبلاستوم مولتی‌فرم می‌کند (۴۵، ۱۰۴). از طرفی آپتامرها قابلیت اصلاح و تغییرات گسترده‌ایی هم دارند؛ به طور مثال، اضافه کردن (PEG)^{۲۳} و نانوذرات شلاته شده توسط (dtpa)^{۲۴} باعث بهبود زیست‌فراهمی آپتامر می‌شود که علت آن خاصیت آب دوست PEG است که مانع از شناسایی کمپلکس PEG-نانوذرات توسط مونوسیت‌ها و ماکروفاژها می‌شود (۱۰۵، ۸۸). علاوه بر توانایی آپتامرها در درمان گلیوبلاستوم مولتی‌فرم با انتقال نانوذرات و سایر مواد به توده توموری شده، آپتامرها می‌توانند در ژن درمانی هم امیددهنده و مؤثر باشند. از آنجایی که siRNA ها قادر به خاموش کردن ژن‌های مختلف از جمله ژن‌های تومورزا هستند با استفاده از آپتامرهای کونژوگه شده به c-Met siRNA بیان c-Met-نوعی گیرنده تیروزین کینازی مؤثر در رشد تومور-در سلول‌های توموری U87-EGFRvIII کاهش و میزان آپوپتوز در این سلول‌ها افزایش پیدا می‌کند. این یافته‌ها حاکی از پتانسیل آپتامرها در خاموش کردن ژن‌ها و در نتیجه درمانی نو برای مبتلایان به گلیوبلاستوم مولتی‌فرم است (۱۰۷، ۱۰۶). سیستم درمانی انتقال ویروسی^{۲۵} هم نوعی دیگر از حاملان دارو برای درمان گلیوبلاستوم مولتی‌فرم است. آدنوویروس‌ها از رایج‌ترین ویروس‌های ضد سرطان استفاده شده در انسان هستند چون که این ویروس‌ها برای انسان تومورزا نیستند (۱۰۸). گیرنده آندروستان پایدار^{۲۶} یا به طور مختصر CAR مسئول انتقال رایج‌ترین آدنوویروس حامل دارو یعنی سروتیپ ۵ آدنوویروس است. هرچند که میزان بیان این گیرنده (CAR) در تومور مورد بحث (گلیوبلاستوم مولتی‌فرم) صفر یا کم است می‌توان با اتصال آدنوویروس به یک آپتامر این محدودیت را برطرف کرد و دارو مورد نظر را به توده توموری منتقل کرد. Chen و همکاران با مکانیسم ذکر شده و با استفاده از آپتامرهای AS1411 و GBI-10 و سروتیپ ۵ آدنوویروسی موفق به ساخت یک حامل برای انتقال دارو به گلیوبلاستوم مولتی‌فرم شده‌اند (۱۰۹).

غلبه بر سد خونی-مغزی

هرچند که تعداد آپتامرهای ساخته شده علیه سرطان در حال افزایش است عمده آن‌ها صرفاً در شرایط آزمایشگاهی^{۲۷} مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. هرچند که نتایج حاکی از تمایل و اختصاصیت بالای آپتامرها می‌دهد چالش اصلی ارزیابی کارایی آن‌ها در داخل بدن یک موجود زنده^{۲۸} است. BBB^{۲۹} یک عامل مهم در حفظ هموستاز مغز است زیرا مغز را از جریان خون

²³ Polyethylene glycol

²⁴ Diethylene-triamine-penta-acetic acid

²⁵ Viral therapy delivery system

²⁶ Constitutive androstane receptor

²⁷ In vitro

²⁸ In vivo

²⁹ Blood - brain barrier

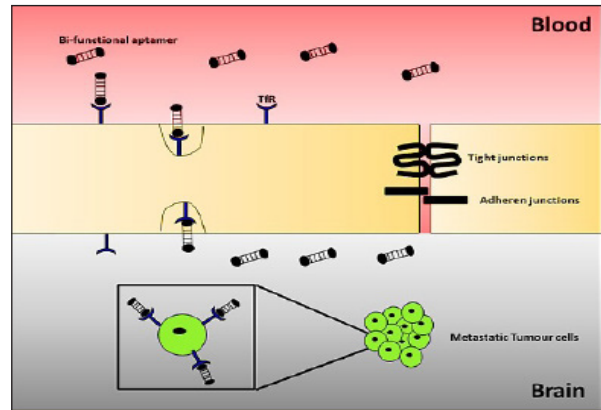
و آستروسیت‌های SVGP12 به ترتیب به‌عنوان کنترل مثبت و منفی طی فرایند SELEX به دست آمده‌اند. هرچند این دو آپتامر به سلول‌های U118-MG متصل می‌شوند و در عین حال پیوندی با سلول‌های SVGP12 ایجاد نمی‌کنند اما قادر به تشخیص گلیوبلاستوم مولتی‌فرم از بقیه انواع گلیوماها نیستند و در واقع جزو آپتامرهای با ساختار هدف ناشناخته هستند با این وجود پتانسیل استفاده در تشخیص و درمان گلیوبلاستوم مولتی‌فرم را دارند که نیازمند آزمایشات بیشتری است (۱۲۳).

نتیجه‌گیری

با توجه به تعداد بالا مبتلایان به گلیوبلاستوم مولتی‌فرم در هرسال و محدودیت‌های موجود در درمان آن از جمله ناممکن بودن برداشت کامل تومور به روش جراحی و طبیعت فوق‌العاده تهاجمی گلیوبلاستوم مولتی‌فرم توسعه یک روش درمانی جدید ضروری می‌نماید (۱۲۴، ۷). کاربرد آپتامرها در درمان اختلالات مختلف از جمله سرطان بسیار امیدوارکننده است زیرا آپتامرها همان‌طور که اشاره شد قادر به استفاده در زمینه‌های مختلفی از شناسایی سلول‌های توموری گرفته تا تشخیص و درمان سرطان هستند. آپتامرها دارای ویژگی‌های منحصر به فردی برای استفاده در درمان گلیوبلاستوم مولتی‌فرم و سایر تومورهای بدخیم هستند از جمله این ویژگی‌ها حساسیت و اختصاصیت بالا آن‌ها برای ساختار هدف خود، ساخت کم هزینه و سریع، پایداری در برابر حرارت و کم آبی، سمیت و تحریک ایمنی پایین و اصلاح شیمیایی آسان آن‌ها را می‌توان نام برد (۲۹، ۳۰). هرچند تأثیر آپتامرهای تک عملکردی در انتقال داروها به تومورهای مغزی اثبات شده است ولی آپتامری که صرفاً بتواند از سد خونی-مغزی عبور کند یک نوع درمان ناکارآمد به حساب می‌آید زیرا چنین آپتامری دارو مورد نظر را به صورت غیراختصاصی به داخل مغز می‌فرستد و در نتیجه احتمال عوارض عصبی جانبی وجود دارد. به‌منظور غلبه بر این مشکل آپتامرهایی با عملکرد دوگانه ساخته شده است تا یک آپتامر باعث ورود دارو به مغز و آپتامر دیگر باعث رساندن دارو به ساختار هدف مورد نظر بشود (۱۲۰).

در مجموع می‌توان گفت آپتامرها پتانسیل ایجاد انقلابی در تشخیص، تصویربرداری و درمان سرطان با انتقال داروهای مختلف به توده‌های توموری از جمله گلیوبلاستوم مولتی‌فرم را دارند که ارزیابی این موضوع نیازمند مطالعات و پژوهش‌های گسترده‌تری است.

TEPP, TENN و TENP از سد خونی-مغزی عبور کرده و در مغز باعث مهار سلول‌های بیان‌کننده گیرندهٔ مولکول چسبندهٔ سلول‌های اندوتلیال (EpCAM)^{۲۰} شده‌اند (۱۲۲).



تصویر ۲- نشان‌دهندهٔ آپتامرهای با عملکرد دوگانه. آپتامرهای با عملکرد دوگانه در اثر کونژوگه شدن یک آپتامر با ساختار هدف گیرنده‌های ترانسفرین موجود در سطح سد خونی-مغزی و یک آپتامر با هدف یک اختلال عصبی در داخل مغز ساخته می‌شوند (منتشر شده توسط Macdonald ۲۰۱۶-۱۱۹).

آپتامرهایی با ساختارهای هدف شناخته نشده

از آنجایی که روش Cell-SELEX از کل یک سلول به‌عنوان هدف آپتامر استفاده می‌کند و اینکه هر سلول در سطح خود گیرنده‌های متنوعی دارد می‌توان با Cell-SELEX انواعی از آپتامرها را ساخت که حتی ساختار هدف آن‌ها برای ما شناخته شده نیست و بدین ترتیب دانش خود را دربارهٔ تومورهای مختلف از جمله گلیوبلاستوم مولتی‌فرم بالا ببریم. با کمک روش Cell-SELEX و با استفاده از ردهٔ سلولی A172 glioblastoma انواعی آپتامر از جنس DNA ساخته شده است. این آپتامرها (GMT 3، GMT 4، GMT 5، GMT 8، GMT 9) با تمایل بالا به سلول‌های گلیوبلاستوم مولتی‌فرم متصل می‌شوند. GMT 3 و GMT 8 به سلول‌های CEM مربوط به لوکمی و سلول‌های GMBJ1 مربوط به سرطان پستان هم متصل می‌شوند که نشان‌دهندهٔ این است که این دو تومور یک گیرندهٔ مشترک با گلیوبلاستوم مولتی‌فرم دارند. برای مشخص شدن ساختار هدف این ۵ آپتامر رفتار آن‌ها در حضور پروتئیناز k و تریپسین سنجیده شده است. به این صورت که در حضور پروتئیناز k هر ۵ آپتامر توانایی اتصال خود را از دست دادند که دال بر پروتئینی بودن گیرندهٔ این آپتامرهاست و در حضور تریپسین توانایی اتصال صرفاً GMT 3 و GMT 5 اندکی کم شد که دال بر مقاوم بودن ساختار هدف این دو آپتامر به تجزیهٔ توسط تریپسین است. آپتامرهای GBM128 و GBM131 با استفاده از سلول‌های توموری U118-MG

³⁰ Epithelial cell adhesion molecule

منابع

1. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, Von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 world health organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Acta Neuropathologica*. 2016; 131(6): 803-20.
2. Cerchia L, Esposito CL, Camorani S, Rienzo A, Stasio L, Insabato L, et al. Targeting Axl with an high-affinity inhibitory aptamer. *Molecular Therapy*. 2012; 20(12): 2291-303.
3. Ohgaki H, Kleihues P. Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma. *Am J Pathol*. 2007; 170(5): 1445-53.
4. Appin CL, Brat DJ. Molecular pathways in gliomagenesis and their relevance to neuropathologic diagnosis. *Adv Anat Pathol*. 2015; 22(1): 50-8.
5. Dimitrov L, Hong CS, Yang C, Zhuang Z, Heiss JD. New developments in the pathogenesis and therapeutic targeting of the IDH1 mutation in glioma. *Int J Med Sci*. 2015; 12(3): 201-13.
6. Bayat N, Ebrahimi-Barough S, Norouzi-Javidan A, Saberi H, Tajerian R, Ardakan MMM, et al. Apoptotic effect of atorvastatin in glioblastoma spheroids tumor cultured in fibrin gel. *Biomed Pharmacother*. 2016; 84: 1959-66.
7. Cloughesy TF, Cavenee WK, Mischel PS. Glioblastoma: from molecular pathology to targeted treatment. *Annu Rev Pathol*. 2014; 9: 1-25.
8. Gilbert CA, Ross AH. Glioma stem cells: cell culture, markers and targets for new combination therapies. *J Cell Biochem*. 2009; 108(5): 1031-8.
9. Friedman HS, Prados MD, Wen PY, Mikkelsen T, Schiff D, Abrey LE, et al. Bevacizumab alone and in combination with irinotecan in recurrent glioblastoma. *J Clin Oncol*. 2009; 27(28): 4733-40.
10. Stupp R, Mason WP, Van Den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med*. 2005; 352(10): 987-96.
11. Jakola AS, Gulati S, Weber C, Unsgård G, Solheim O. Postoperative deterioration in health related quality of life as predictor for survival in patients with glioblastoma: a prospective study. *PLoS One*. 2011; 6(12): e28592.
12. Thomas RP, Recht L, Nagpal S. Advances in the management of glioblastoma: the role of temozolomide and MGMT testing. *Clin Pharmacol*. 2013; 5: 1-9.
13. Omuro A, DeAngelis LM. Glioblastoma and other malignant gliomas: a clinical review. *Jama*. 2013; 310(17): 1842-50.
14. Capietto A-H, Keirallah S, Gross E, Dauguet N, Laprevotte E, Jean C, et al. Emerging concepts for the treatment of hematological malignancies with therapeutic monoclonal antibodies. *Current drug Targets*. 2010; 11(7): 790-800.
15. Gyorki DE, Spillane J, Speakman D, Shackleton M, Henderson MA. Current management of advanced melanoma: a transformed landscape. *ANZ Journal of Surgery*. 2014; 84(9): 612-7.
16. Camorani S, Cerchia L. Oligonucleotide aptamers for glioma targeting: an update. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents)*. 2015; 15(2): 126-37.
17. Keefe AD, Pai S, Ellington A. Aptamers as therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2010; 9(7): 537-50.
18. Thiel KW, Giangrande PH. Therapeutic applications of DNA and RNA aptamers. *Oligonucleotides*. 2009; 19(3): 209-22.
19. Cerchia L, De Franciscis V. Targeting cancer cells with nucleic acid aptamers. *Trends Biotechnol*. 2010; 28(10): 517-25.
20. de Franciscis V, Esposito CL, Catuogno S, Cellai L, Cerchia L. Aptamers as innovative diagnostic and therapeutic agents in the central nervous system. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2009; 8(5): 393-401.
21. Ireson CR, Kelland LR. Discovery and development of anticancer aptamers. *Mol Cancer Ther*. 2006; 5(12): 2957-62.
22. Wu X, Zhao Z, Bai H, Fu T, Yang C, Hu X, et al. DNA aptamer selected against pancreatic ductal adenocarcinoma for in vivo imaging and clinical tissue recognition. *Theranostics*. 2015; 5(9): 985-94.
23. Li X, An Y, Jin J, Zhu Z, Hao L, Liu L, et al. Evolution of DNA aptamers through in vitro metastatic-cell-based systematic evolution of ligands by exponential enrichment for metastatic cancer recognition and imaging. *Anal Chem*. 2015; 87(9): 4941-8.
24. Li X, Zhang W, Liu L, Zhu Z, Ouyang G, An Y, et al. In vitro selection of DNA aptamers for metastatic breast cancer cell recognition and tissue imaging. *Anal Chem*.

2014; 86(13): 6596-603.

25. Sefah K, Tang Z, Shangguan D, Chen H, Lopez-Colon D, Li Y, et al. Molecular recognition of acute myeloid leukemia using aptamers. *Leukemia*. 2009; 23(2): 235-44.

26. Shangguan D, Meng L, Cao ZC, Xiao Z, Fang X, Li Y, et al. Identification of liver cancer-specific aptamers using whole live cells. *Anal Chem*. 2008; 80(3): 721-8.

27. Wu Q, Wu L, Wang Y, Zhu Z, Song Y, Tan Y, et al. Evolution of DNA aptamers for malignant brain tumor gliosarcoma cell recognition and clinical tissue imaging. *Biosens Bioelectron*. 2016; 80: 1-8.

28. Tuerk C, Gold L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. *Science*. 1990; 249(4968): 505-10.

29. Ellington AD, Szostak JW. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands. *Nature*. 1990; 346(6287): 818-22.

30. Missailidis S, Hardy A. Aptamers as inhibitors of target proteins. *Expert Opin Ther Pat*. 2009; 19(8): 1073-82.

31. Ni X, Castanares M, Mukherjee A, Lupold SE. Nucleic acid aptamers: clinical applications and promising new horizons. *Curr Med Chem*. 2011; 18(27): 4206-14.

32. Ilgu M, Nilsen-Hamilton M. Aptamers in analytics. *Analyst*. 2016; 141(5): 1551-68.

33. Šmuc T, Ahn I-Y, Ulrich H. Nucleic acid aptamers as high affinity ligands in biotechnology and biosensorics. *J Pharm Biomed Anal*. 2013; 81: 210-7.

34. Keefe AD, Cload ST. SELEX with modified nucleotides. *Curr Opin Chem Biol*. 2008; 12(4): 448-56.

35. Chelliserrykattil J, Ellington AD. Evolution of a T7 RNA polymerase variant that transcribes 2'-O-methyl RNA. *Nat Biotechnol*. 2004; 22(9): 1155-60.

36. Burmeister PE, Lewis SD, Silva RF, Preiss JR, Horwitz LR, Pendergrast PS, et al. Direct in vitro selection of a 2'-O-methyl aptamer to VEGF. *Chem Biol*. 2005; 12(1): 25-33.

37. de Franciscis V, Rienzo A, Cerchia L. Nucleic acid aptamers for in vivo molecular imaging. *Molecular Imaging: InTech*; 2012.

38. Blind M, Blank M. Aptamer selection technology and recent advances. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2015; 4(1): e223. doi: 10.1038/mtna.2014.74.

39. Le TT, Scott S, Cass AE. Streptavidin binding bifunctional aptamers and their interaction with low molecular weight ligands. *Anal Chim Acta*. 2013; 761: 143-8.

40. 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): 151-64.

41. Soundararajan S, Wang L, Sridharan V, Chen W, Courtenay-Luck N, Jones D, et al. Plasma membrane nucleolin is a receptor for the anticancer aptamer AS1411 in MV4-11 leukemia cells. *Mol Pharmacol*. 2009; 76(5): 984-91.

42. Soundararajan S, Chen W, Spicer EK, Courtenay-Luck N, Fernandes DJ. The nucleolin targeting aptamer AS1411 destabilizes Bcl-2 messenger RNA in human breast cancer cells. *Cancer Res*. 2008; 68(7): 2358-65.

43. Ko HY, Lee JH, Kang H, Ryu SH, Song IC, Lee DS, et al. A nucleolin-targeted multimodal nanoparticle imaging probe for tracking cancer cells using an aptamer. *J Nucl Med*. 2010; 51(1): 98-105.

44. Rosenberg JE, Bambury RM, Van Allen EM, Drabkin HA, Lara PN, Harzstark AL, et al. A phase II trial of AS1411 (a novel nucleolin-targeted DNA aptamer) in metastatic renal cell carcinoma. *Invest New Drugs*. 2014; 32(1): 178-87.

45. Hicke BJ, Marion C, Chang Y-F, Gould T, Lynott CK, Parma D, et al. Tenascin-C aptamers are generated using tumor cells and purified protein. *J Biol Chem*. 2001; 276(52): 48644-54.

46. Erickson HP, Bourdon MA. Tenascin: an extracellular matrix protein prominent in specialized embryonic tissues and tumors. *Annu Rev Cell Biol*. 1989; 5(1): 71-92.

47. Tiitta O, Virtanen I, Sipponen P, Gould V. Tenascin expression in inflammatory, dysplastic and neoplastic lesions of the human stomach. *Virchows Archiv*. 1994; 425(4): 369-74.

48. Herold-Mende C, Mueller MM, Bonsanto MM, Schmitt HP, Kunze S, Steiner HH. Clinical impact and functional aspects of tenascin-C expression during glioma progression. *Int J Cancer*. 2002; 98(3): 362-9.

49. Leins A, Riva P, Lindstedt R, Davidoff MS, Mehraein P, Weis S. Expression of tenascin-C in various human brain tumors and its relevance for survival in patients with astrocytoma. *Cancer*. 2003; 98(11): 2430-9.

50. Daniels DA, Chen H, Hicke BJ, Swiderek KM, Gold L. A tenascin-C aptamer identified by tumor cell SELEX: systematic evolution of ligands by exponential

- enrichment. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100(26): 15416-21.
51. Chen X-C, Deng Y-L, Lin Y, Pang D-W, Qing H, Qu F, et al. Quantum dot-labeled aptamer nanoprobe specifically targeting glioma cells. *Nanotechnology*. 2008; 19(23): 235105. doi: 10.1088/0957-4484/19/23/235105.
52. Li Y, Qiao H, Yan W, Zhang J, Xing C, Wang H, et al. Molecular recognition force spectroscopy study of the dynamic interaction between aptamer GBI-10 and extracellular matrix protein tenascin-C on human glioblastoma cell. *J Mol Recognit*. 2013; 26(1): 46-50.
53. Jacobson O, Yan X, Niu G, Weiss ID, Ma Y, Szajek LP, et al. PET imaging of tenascin-C with a radiolabeled single-stranded DNA aptamer. *J Nucl Med*. 2015; 56(4): 616-21.
54. Li K, Deng J, Jin H, Yang X, Fan X, Li L, et al. Chemical modification improves the stability of the DNA aptamer GBI-10 and its affinity towards tenascin-C. *Organic & Biomolecular Chemistry*. 2017; 15(5): 1174-82.
55. Gan HK, Cvrljevic AN, Johns TG. The epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII): where wild things are altered. *FEBS J*. 2013; 280(21): 5350-70.
56. Li B, Yuan M, Kim I-A, Chang C-M, Bernhard EJ, Shu H-KG. Mutant epidermal growth factor receptor displays increased signaling through the phosphatidylinositol-3 kinase/AKT pathway and promotes radioresistance in cells of astrocytic origin. *Oncogene*. 2004; 23(26): 4594-602.
57. Wu X, Liang H, Tan Y, Yuan C, Li S, Li X, et al. Cell-SELEX aptamer for highly specific radionuclide molecular imaging of glioblastoma in vivo. *PloS One*. 2014; 9(3): e90752.
58. Tan Y, Shi Y-s, Wu X-d, Liang H-y, Gao Y-b, Li S-j, et al. DNA aptamers that target human glioblastoma multiforme cells overexpressing epidermal growth factor receptor variant III in vitro. *Acta Pharmacol Sin*. 2013; 34(12): 1491-8.
59. Zhang X, Liang H, Tan Y, Wu X, Li S, Shi Y. A U87-EGFRvIII cell-specific aptamer mediates small interfering RNA delivery. *Biomed Rep*. 2014; 2(4): 495-9.
60. Tang J, Huang N, Zhang X, Zhou T, Tan Y, Pi J, et al. Aptamer-conjugated PEGylated quantum dots targeting epidermal growth factor receptor variant III for fluorescence imaging of glioma. *Int J Nanomedicine* 2017; 12: 3899-3911.
61. Esposito CL, Passaro D, Longobardo I, Condorelli G, Marotta P, Affuso A, et al. A neutralizing RNA aptamer against EGFR causes selective apoptotic cell death. *PLoS One*. 2011; 6(9): e24071.
62. Camorani S, Crescenzi E, Colecchia D, Carpentieri A, Amoresano A, Fedele M, et al. Aptamer targeting EGFRvIII mutant hampers its constitutive autophosphorylation and affects migration, invasion and proliferation of glioblastoma cells. *Oncotarget*. 2015; 6(35): 37570-87.
63. Padfield E, Ellis HP, Kurian KM. Current therapeutic advances targeting EGFR and EGFRvIII in glioblastoma. *Front Oncol*. 2015; 5: doi: 10.3389/fonc.2015.00005.
64. Li N, Nguyen HH, Byrom M, Ellington AD. Inhibition of cell proliferation by an anti-EGFR aptamer. *PloS One*. 2011; 6(6): e20299.
65. Wan Y, Mahmood MAI, Li N, Allen PB, Kim Yt, Bachoo R, et al. Nanotextured substrates with immobilized aptamers for cancer cell isolation and cytology. *Cancer*. 2012; 118(4): 1145-54.
66. Wan Y, Liu Y, Allen PB, Asghar W, Mahmood MAI, Tan J, et al. Capture, isolation and release of cancer cells with aptamer-functionalized glass bead array. *Lab Chip*. 2012; 12(22): 4693-701.
67. Liu Z, Han L, Dong Y, Tan Y, Li Y, Zhao M, et al. EGFRvIII/integrin $\beta 3$ interaction in hypoxic and vitronectin-enriching microenvironment promote GBM progression and metastasis. *Oncotarget*. 2016; 7(4): 4680-94.
68. Cerchia L, Esposito CL, Jacobs AH, Tavittian B, De Franciscis V. Differential SELEX in human glioma cell lines. *PloS One*. 2009; 4(11): e7971.
69. Stommel JM, Kimmelman AC, Ying H, Nabioullin R, Ponugoti AH, Wiedemeyer R, et al. Coactivation of receptor tyrosine kinases affects the response of tumor cells to targeted therapies. *Science*. 2007; 318(5848): 287-90.
70. Cerchia L, De Franciscis V. Nucleic acid aptamers against protein kinases. *Curr Med Chem*. 2011; 18(27): 4152-8.
71. Shinh Y-S, Lai C-Y, Kao Y-R, Shiah S-G, Chu Y-W, Lee H-S, et al. Expression of axl in lung adenocarcinoma and correlation with tumor progression. *Neoplasia*. 2005; 7(12): 1058-64.
72. Zhang Y-X, Knyazev PG, Cheburkin YV, Sharma K, Knyazev YP, Örfi L, et al. AXL is a potential target for therapeutic intervention in breast cancer progression.

Cancer Research. 2008; 68(6): 1905-15.

73. Cerchia L, Martinez Montero J-C, Monfared P. Signal transduction alterations in glioma: implications for diagnosis and therapy. *J Signal Transduct*. 2012; 2012. doi: 10.1155/2012/704247.

74. Hutterer M, Knyazev P, Abate A, Reschke M, Maier H, Stefanova N, et al. Axl and growth arrest-specific gene 6 are frequently overexpressed in human gliomas and predict poor prognosis in patients with glioblastoma multiforme. *Clin Cancer Res*. 2008; 14(1): 130-8.

75. Esposito CL, Nuzzo S, Kumar SA, Rienzo A, Lawrence CL, Pallini R, et al. A combined microRNA-based targeted therapeutic approach to eradicate glioblastoma stem-like cells. *J Control Release*. 2016; 238: 43-57.

76. Östman A. PDGF receptors-mediators of autocrine tumor growth and regulators of tumor vasculature and stroma. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2004; 15(4): 275-86.

77. Gilbertson RJ, Clifford SC. PDGFRB is overexpressed in metastatic medulloblastoma. *Nat Genet*. 2003; 35(3): 197-8.

78. Camorani S, Esposito CL, Rienzo A, Catuogno S, Iaboni M, Condorelli G, et al. Inhibition of receptor signaling and of glioblastoma-derived tumor growth by a novel PDGFRβ aptamer. *Mol Ther*. 2014; 22(4): 828-41.

79. Yu D, Wang D, Zhu F-G, Bhagat L, Dai M, Kandimalla ER, et al. Modifications incorporated in CpG motifs of oligodeoxynucleotides lead to antagonist activity of toll-like receptors 7 and 9. *J Med Chem*. 2009; 52(16): 5108-14.

80. Group ES. Preclinical and phase 1A clinical evaluation of an anti-VEGF pegylated aptamer (EYE001) for the treatment of exudative age-related macular degeneration. *Retina*. 2002; 22(2): 143-52.

81. Zhou J, Neff CP, Swiderski P, Li H, Smith DD, Aboellail T, et al. Functional in vivo delivery of multiplexed anti-HIV-1 siRNAs via a chemically synthesized aptamer with a sticky bridge. *Mol Ther*. 2013; 21(1): 192-200.

82. Hays E, Duan W, Shigdar S. Aptamers and glioblastoma: their potential use for imaging and therapeutic applications. *Int J Mol Sci*. 2017; 18(12): 2576. doi: 10.3390/ijms18122576.

83. Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, Squire JA, Bayani J, Hide T, et al. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature*. 2004; 432(7015): 396-401.

84. Brescia P, Ortensi B, Fornasari L, Levi D, Broggi G, Pelicci G. CD133 is essential for glioblastoma stem cell maintenance. *Stem Cells*. 2013; 31(5): 857-69.

85. Schmohl JU, Vallera DA. CD133, selectively targeting the root of cancer. *Toxins (Basel)*. 2016; 8(6): 165. doi: 10.3390/toxins8060165.

86. Shigdar S, Qiao L, Zhou S-F, Xiang D, Wang T, Li Y, et al. RNA aptamers targeting cancer stem cell marker CD133. *Cancer Lett*. 2013; 330(1): 84-95.

87. Kim Y, Wu Q, Hamerlik P, Hitomi M, Sloan AE, Barnett GH, et al. Aptamer identification of brain tumor initiating cells. *Cancer Res*. 2013; 73(15): 4923-36.

88. Guo J, Gao X, Su L, Xia H, Gu G, Pang Z, et al. Aptamer-functionalized PEG-PLGA nanoparticles for enhanced anti-glioma drug delivery. *Biomaterials*. 2011; 32(31): 8010-20.

89. Shan L. Indotricarbocyanine-loaded AS1411 DNA aptamer-and TGN peptide-modified poly (ethylene glycol)-poly (ε-caprolactone) nanoparticles. 2012.

90. Farokhzad OC, Cheng J, Teply BA, Sherifi I, Jon S, Kantoff PW, et al. Targeted nanoparticle-aptamer bioconjugates for cancer chemotherapy in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006; 103(16): 6315-20.

91. Bagalkot V, Farokhzad OC, Langer R, Jon S. An aptamer-doxorubicin physical conjugate as a novel targeted drug-delivery platform. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2006; 45(48): 8149-52.

92. Chen H, Zheng X, Di B, Wang D, Zhang Y, Xia H, et al. Aptamer modification improves the adenoviral transduction of malignant glioma cells. *J Biotechnol*. 2013; 168(4): 362-6.

93. Thiel KW, Hernandez LI, Dassie JP, Thiel WH, Liu X, Stockdale KR, et al. Delivery of chemo-sensitizing siRNAs to HER2+ breast cancer cells using RNA aptamers. *Nucleic Acids Res*. 2012; 40(13): 6319-37.

94. Zhou J, Rossi JJ. Aptamer-targeted cell-specific RNA interference. *Silence*. 2010; 1(1): 4. doi: 10.1186/1758-907X-1-4.

95. Wu X, Ding B, Gao J, Wang H, Fan W, Wang X, et al. Second-generation aptamer-conjugated PSMA-targeted delivery system for prostate cancer therapy. *Int J Nanomedicine*. 2011; 6:1747-56.

96. Dai F, Zhang Y, Zhu X, Shan N, Chen Y. Anticancer role of MUC1 aptamer-miR-29b chimera in epithelial ovarian carcinoma cells through regulation of PTEN

- methylation. *Target Oncol.* 2012; 7(4): 217-25.
97. Liu N, Zhou C, Zhao J, Chen Y. Reversal of paclitaxel resistance in epithelial ovarian carcinoma cells by a MUC1 aptamer-let-7i chimera. *Cancer Invest.* 2012; 30(8): 577-82.
98. Esposito CL, Cerchia L, Catuogno S, De Vita G, Dassie JP, Santamaria G, et al. Multifunctional aptamer-miRNA conjugates for targeted cancer therapy. *Mol Ther.* 2014; 22(6): 1151-63.
99. Das M, Duan W, Sahoo SK. Multifunctional nanoparticle-EpCAM aptamer bioconjugates: a paradigm for targeted drug delivery and imaging in cancer therapy. *Nanomedicine.* 2015; 11(2): 379-89.
100. Tian J, Ding L, Ju H, Yang Y, Li X, Shen Z, et al. A multifunctional nanomicelle for real-time targeted imaging and precise near-infrared cancer therapy. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2014; 53(36): 9544-9.
101. Zhang Y, Zhang T, Liu M, Kuang Y, Zu G, Zhang K, et al. Aptamer-targeted magnetic resonance imaging contrast agents and their applications. *J Nanosci Nanotechnol.* 2018; 18(6): 3759-74.
102. Da Pieve C, Perkins AC, Missailidis S. Anti-MUC1 aptamers: radiolabelling with ^{99m}Tc and biodistribution in MCF-7 tumour-bearing mice. *Nucl Med Biol.* 2009; 36(6): 703-10.
103. Gao H, Qian J, Yang Z, Pang Z, Xi Z, Cao S, et al. Whole-cell SELEX aptamer-functionalised poly (ethyleneglycol)-poly (ε-caprolactone) nanoparticles for enhanced targeted glioblastoma therapy. *Biomaterials.* 2012; 33(26): 6264-72.
104. Hicke BJ, Stephens AW, Gould T, Chang Y, Lynott CK, Heil J, et al. Tumor targeting by an aptamer. *J Nucl Med.* 2006; 47(4): 668-78.
105. Jokerst JV, Lobovkina T, Zare RN, Gambhir SS. Nanoparticle PEGylation for imaging and therapy. *Nanomedicine.* 2011; 6(4): 715-28.
106. Ma H, Gao Z, Yu P, Shen S, Liu Y, Xu B. A dual functional fluorescent probe for glioma imaging mediated by blood-brain barrier penetration and glioma cell targeting. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014; 449(1): 44-8.
107. Liu W, Fu Y, Xu S, Ding F, Zhao G, Zhang K, et al. c-Met expression is associated with time to recurrence in patients with glioblastoma multiforme. *J Clin Neurosci.* 2011; 18(1): 119-21.
108. Huang PH, Mukasa A, Bonavia R, Flynn RA, Brewer ZE, Cavenee WK, et al. Quantitative analysis of EGFRvIII cellular signaling networks reveals a combinatorial therapeutic strategy for glioblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007; 104(31): 12867-72.
109. Delač M, Motaln H, Ulrich H, Lah TT. Aptamer for imaging and therapeutic targeting of brain tumor glioblastoma. *Cytometry A.* 2015; 87(9): 806-16.
110. Patel MM, Goyal BR, Bhadada SV, Bhatt JS, Amin AF. Getting into the brain. *CNS Drugs.* 2009; 23(1): 35-58.
111. Baseri B, Choi JJ, Tung Y-S, Konofagou EE. Multi-modality safety assessment of blood-brain barrier opening using focused ultrasound and definity microbubbles: a short-term study. *Ultrasound Med Biol.* 2010; 36(9): 1445-59.
112. Calias P, Banks WA, Begley D, Scarpa M, Dickson P. Intrathecal delivery of protein therapeutics to the brain: a critical reassessment. *Pharmacol Ther.* 2014; 144(2): 114-22.
113. Bleier BS, Kohman RE, Feldman RE, Ramanlal S, Han X. Permeabilization of the blood-brain barrier via mucosal engrafting: implications for drug delivery to the brain. *PLoS One.* 2013; 8(4): e61694.
114. Sheikov N, McDannold N, Vykhodtseva N, Jolesz F, Hynynen K. Cellular mechanisms of the blood-brain barrier opening induced by ultrasound in presence of microbubbles. *Ultrasound Med Biol.* 2004; 30(7): 979-89.
115. Miyake MM, Bleier BS. The blood-brain barrier and nasal drug delivery to the central nervous system. *Am J Rhinol Allergy.* 2015; 29(2): 124-7.
116. Aprili D, Bandschapp O, Rochlitz C, Urwyler A, Ruppen W. Serious complications associated with external intrathecal catheters used in cancer pain patients: a systematic review and meta-analysis. *Anesthesiology.* 2009; 111(6): 1346-55.
117. Yu YJ, Zhang Y, Kenrick M, Hoyte K, Luk W, Lu Y, et al. Boosting brain uptake of a therapeutic antibody by reducing its affinity for a transcytosis target. *Sci Transl Med.* 2011; 3(84): 84ra44-84ra44.
118. Pestourie C, Tavitian B, Duconge F. Aptamers against extracellular targets for in vivo applications. *Biochimie.* 2005; 87(9-10): 921-30.
119. Macdonald J, Henri J, Goodman L, Xiang D, Duan W, Shigdar S. Development of a bifunctional aptamer targeting the transferrin receptor and epithelial cell adhesion molecule (EpCAM) for the treatment of brain cancer metastases. *ACS Chem Neurosci.* 2017; 8(4):

777-84.

120. Eichler AF, Chung E, Kodack DP, Loeffler JS, Fukumura D, Jain RK. The biology of brain metastases-translation to new therapies. *Nat Rev Clin Oncol*. 2011; 8(6): 344-56.

121. Ponka P, Lok CN. The transferrin receptor: role in health and disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 1999; 31(10): 1111-37.

122. Bayrac AT, Sefah K, Parekh P, Bayrac C, Gulbakan

B, Oktem HA, et al. In vitro selection of DNA aptamers to glioblastoma multiforme. *ACS Chem Neurosci*. 2011; 2(3): 175-81.

123. Kang D, Wang J, Zhang W, Song Y, Li X, Zou Y, et al. Selection of DNA aptamers against glioblastoma cells with high affinity and specificity. *PLoS One*. 2012; 7(10): e42731.

124. Krex D, Klink B, Hartmann C, von Deimling A, Pietsch T, Simon M, et al. Long-term survival with glioblastoma multiforme. *Brain*. 2007; 130(10): 2596-606.