

La Palma Biosphere Reserve, Instituto De Astrofísica De Canarias, Government of The Canary Islands, Spanish Ministry of The Environment, UNESCO-MaB, 107-116.

Strony internetowe:

24. www.amphibiaweb.org/amphibian/speciesnums.html, dostęp: 28.04.2019
25. www.biuletyn.net/nt-bin/_private/zerkow/1623.pdf, dostęp: 28.04.2019

Piotr Kazimirski. Klub Przyrodników Koło Poznańskie. E-mail: kazimirski.piotr@gmail.com.
Skróty używane w pracy: PV – ogniwa fotowoltaiczne.

APTAMERY – TERAPEUTYCZNE OLIGONUKLEOTYDY: INTELIGENTNE PODEJŚCIE DO DIAGNOSTYKI I LECZENIA CHOROÓB MÓZGU

Kinga Gawlińska (Kraków)

Streszczenie

Aptamery są oligonukleotydami kwasu rybonukleinowego (RNA) lub deoksyrybonukleinowego (DNA), które wykazują zdolność wiązania z różnymi biomolekułami poprzez fałdowanie do trójwymiarowej konformacji, podobnie jak przeciwciała. Aptamery wykazują wysokie powinowactwo i specyficzność wiązania do ściśle określonych cząsteczek, takich jak: nukleotydy, aminokwasy, biopolimery, polisacharydy, peptydy i białka. Ze względu na swoje unikatowe właściwości mogą być z powodzeniem stosowane w medycynie i diagnostyce. W odróżnieniu od klasycznych przeciwciał cechuje je innowacyjny sposób wytwarzania, ponieważ mogą być produkowane *in vitro*. W tym celu wykorzystuje się metodę SELEX. Aptamery są obiecującymi kandydatami jako nowa grupa leków i coraz częściej stosowane są przy opracowywaniu nowych strategii diagnostycznych i terapeutycznych dla nieuleczalnych jak do tej pory chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Parkinsona czy Alzheimer.

Abstract

Aptamers are oligonucleotides of ribonucleic acid (RNA) or deoxyribonucleic acid (DNA) that have the ability to bind to various biomolecules by folding into a three-dimensional conformation, like antibodies. Aptamers exhibit high affinity and binding specificity to molecules such as: nucleotides, amino acids, biopolymers, polysaccharides, peptides and proteins. Due to their unique properties, they can be successfully used in medicine and diagnostics. In contrast to classic antibodies, they are characterized by an innovative method of production, because they can be produced *in vitro*. The SELEX method is used for this purpose. Aptamers are promising candidates as a new group of drugs and are increasingly used in the development of new diagnostic and therapeutic strategies for incurable neurodegenerative diseases including Parkinson's and Alzheimer's diseases.

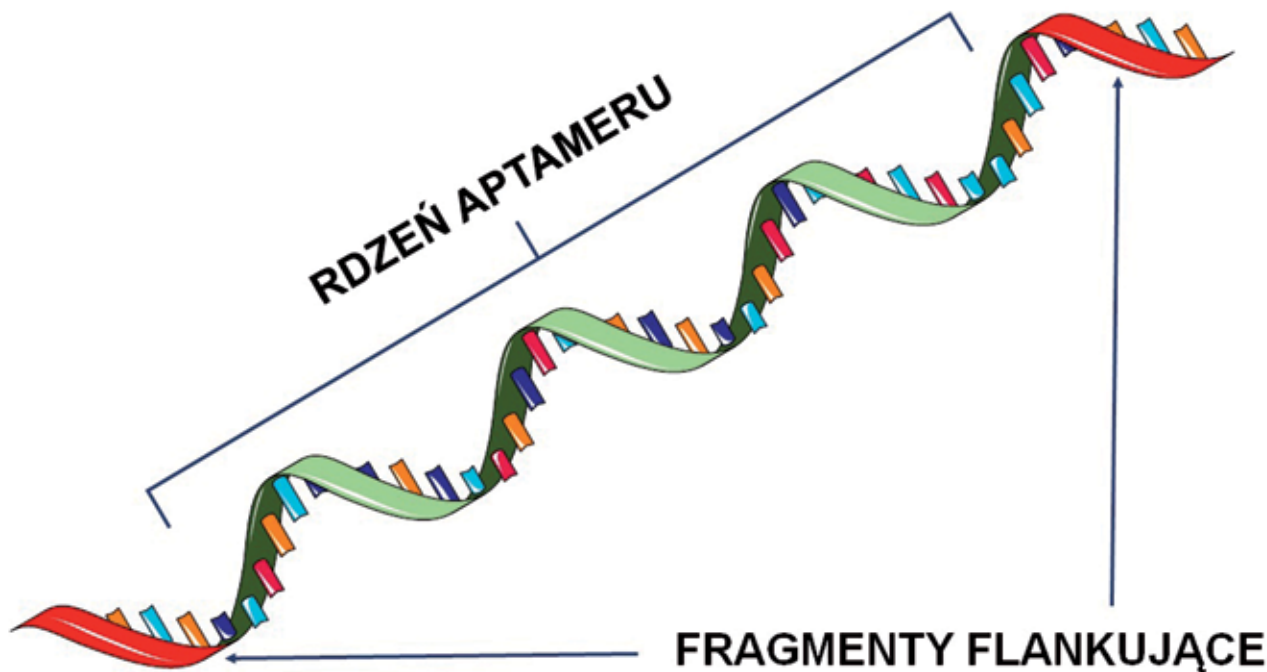
Historia aptamerów

Nazwa aptamer wywodzi się z połączenia łacińskiego słowa *aptus*, co oznacza dopasowany i greckiego słowa *meros* oznaczającego część lub region. Aptamery są jednoniciowymi oligonukleotydami kwasu rybonukleinowego (RNA) lub deoksyrybo-

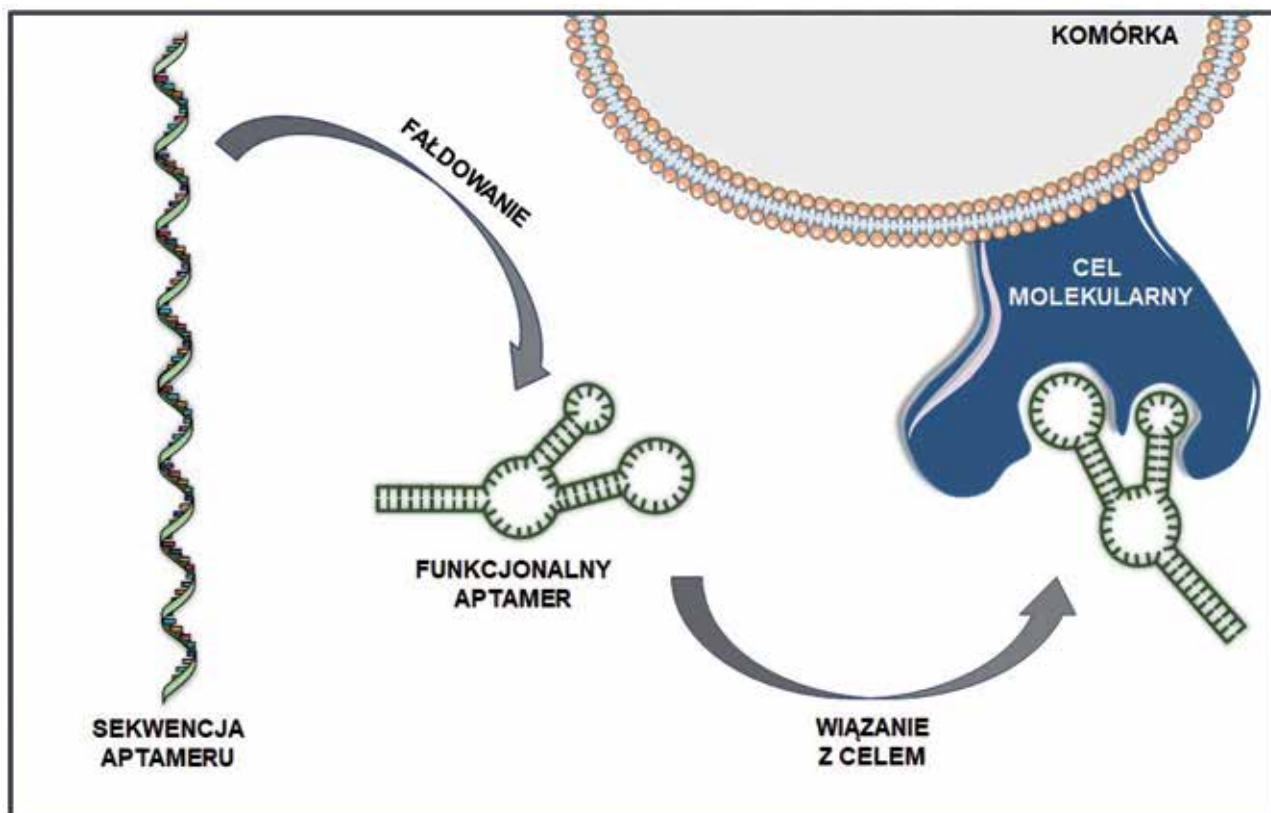
nukleinowego (DNA), których długość najczęściej waha się między 20 a 80 nukleotydami, choć niekiedy projektowane są również dłuższe łańcuchy [12, 15, 20, 25]. Pojedynczy aptamer składa się z sekwencji losowej będącej jego rdzeniem, odpowiedzialnym za strukturę oraz selektywność wiązania z celem, a także części flankujących, komplementarnych do starterów,

niezbędnych do amplifikacji metodą PCR (ang. *polymerase chain reaction*) (Ryc. 1).

nymi celami (Ryc. 2). Charakterystyczną cechą aptamerów jest wysokie powinowactwo i specyficzność



Ryc. 1. Schematyczna budowa aptameru.



Ryc. 2. Schemat tworzenia kompleksu aptamer-cel molekularny.

Poprzez zdolność fałdowania do trójwymiarowych konformacji aptamery podobnie jak przeciwciała, mają zdolność do wiązania się z różnymi biologicz-

wiązania do ściśle określonych biomolekuł o różnej wielkości, takich jak: nukleotydy, aminokwasy, biopolimery, polisacharydy, peptydy czy białka [12, 13,

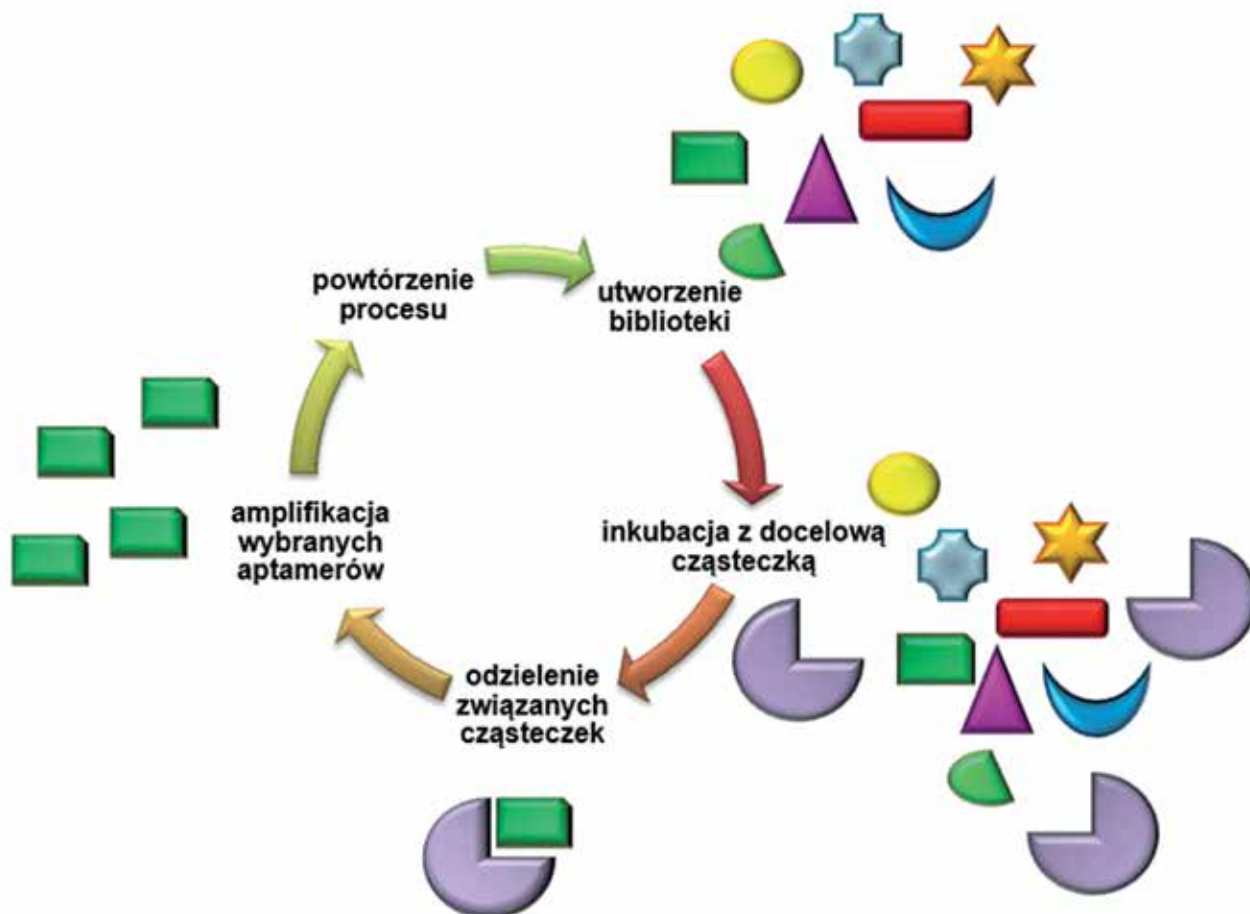
16]. W ostatnich latach coraz częściej wykorzystuje się nowo odkryte właściwości aptamerów, które umożliwiają ich zastosowanie do różnych celów biomedycznych, w tym użycie ich w roli narzędzi terapeutycznych.

Idea, że kwasy nukleinowe mogą funkcjonować jako ligandy i modulować aktywność białek docelowych, była wynikiem badań właściwości ludzkiego wirusa upośledzenia odporności – HIV (ang. *human immunodeficiency virus*) i adenowirusów. Zaobserwowano, że wirusy te kodowały małe, uporządkowane nici RNA, które wiązały się z endogennymi białkami, ułatwiając replikację wirusa lub osłabiając aktywność przeciwwirusową gospodarza. W przypadku wirusa HIV za te mechanizmy odpowiada m.in. krótka sekwencja RNA, zwana odpowiedzią transaktywacyjną – TAR (ang. *trans-activation response*). RNA TAR wiąże się z białkami komórkowymi i wirusowymi

może zapobiegać interakcji wirusowego RNA z białkiem, uniemożliwiając tym samym replikację wirusa. Aptamer pochodzący z RNA TAR ulegał ekspresji z promotora, służąc jako swojego rodzaju wabik, wiążąc się z białkami Tat i cykliny T1 w komórkach limfocytów T CD4+. Komórki prezentujące aptamer TAR stały się odporne na replikację wirusową, co dowiodło, że ligandy RNA mogą służyć jako potencjalne środki w terapii przeciwwirusowej [21].

Wytwarzanie aptamerów – chemicznych przeciwciał

Aptamery ze względu na swoje właściwości mogą być z powodzeniem stosowane w medycynie i diagnostyce, podobnie jak klasyczne przeciwciała [16]. W odróżnieniu od przeciwciał cechuje je innowacyjny sposób wytwarzania, ponieważ mogą być wytwarzane w „probówce” (*in vitro*). W tym celu wykorzy-



Ryc. 3. Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment (SELEX) – iteracyjny cykl prowadzony do uzyskania pojedynczej sekwencji oligonukleotydu. Proces podzielony na trzy główne części: a) utworzenie biblioteki kombinatorycznej poprzez syntezę chemiczną; b) selekcja oligonukleotydów i wiązanie ich z docelową cząsteczką; c) powielenie wyselekcjonowanych aptamerów za pomocą RT-PCR.

cykliny T1 i Tat, które są zaangażowane w kontrolę ekspresji genów i replikacji wirusa [13]. Co więcej, w latach 90. ubiegłego wieku grupa Sullengera opublikowała pierwsze wyniki dowodzące, że aptamer RNA

staje się metodę SELEX (ang. *Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment*), którą po raz pierwszy opisano ponad 25 lat temu [2, 25]. SELEX jest procesem iteracyjnym (powtarzalnym), w którym

pierwszy etap oparty jest na utworzeniu biblioteki kombinatorycznej RNA bądź DNA za pomocą syntezy chemicznej. Bibliotekę tworzą cząsteczki o różnych formach i kształtach, jednak o określonej długości, z dwoma stałymi końcami umożliwiającymi ich powielanie w reakcji PCR z odwrotną transkrypcją (RT-PCR) i randomizowanym regionem w środku (Ryc. 3) [12]. Biblioteka składa się zazwyczaj z 10^{13} – 10^{15} oligonukleotydów, które pokrywają w pewnym stopniu możliwą liczbę kombinacji aptamerów dla danej długości sekwencji losowej (całkowita liczba wynosi X^N , gdzie X oznacza liczbę nukleotydów, zazwyczaj cztery – adenina, cytozyna, tymina, guanina, zaś N długość sekwencji losowej). W przypadku wytwarzania aptamerów RNA niezbędne jest użycie biblioteki cDNA (ang. *complementary DNA*) wraz z procesem odwrotnej transkrypcji. Drugi, kluczowy etap produkcji aptamerów stanowi inkubacja z docelową cząsteczką oraz odpowiednia selekcja oligonukleotydów, związanych z nią za pomocą specyficznego oddziaływania. Powstawanie kompleksów z aptamerami może obejmować różne typy interakcji (wiązania wodorowe, siły Van der Waalsa, oddziaływania elektrostatyczne) [25]. Aptamery mogą rozpoznawać cząsteczki o zróżnicowanej strukturze chemicznej, łącząc się zarówno ze związkami mało- jak i wielkocząsteczkowymi, np. z jonami metali, enzymami, białkami regulatorowymi, czynnikami wzrostu, przeciwciałami (zarówno mono- i poliklonalnymi), lektynami oraz witaminami, antybiotykami, aminokwasami, peptydami, nukleotydami czy barwnikami organicznymi. Proces ten powtarza się 8–12 razy, aż do wyizolowania puli RNA o wysokim powinowactwie do białka docelowego [13]. W celu zwiększenia swoistości aptameru niekiedy stosuje się również etap inkubacji z cząsteczkami bardzo podobnymi do pierwotnego celu molekularnego (tzw. selekcja negatywna) [4]. Pula jest następnie sekwencjonowana w celu zidentyfikowania aptamerów o najwyższym powinowactwie. Liczba cykli w reakcji PCR jest zmienna, zazwyczaj proces przebiega w 8–15 cyklach [22]. Metoda SELEX nie jest jednorodna, wyróżnia się m.in. wariant: bezstarterowy, przełącznikowy, genomowy, dopasowany, komórkowy czy tkankowy, a wszystkie modyfikacje mają służyć optymalizacji procesu otrzymywania swoistych aptamerów [17].

Dynamiczny rozwój prac nad aptamerami i metodami ich wytwarzania przypisuje się pracom Craiga Tuerka i Larry'ego Golda, zapoczątkowanym w latach 90. ubiegłego wieku. Współcześnie naukowcy bazując na coraz szerszej wiedzy na temat chemicznych przeciwciałach, wykorzystują je do projektowania

nowych leków, które sukcesywnie są wprowadzane do leczenia chorób lub testowane na etapie badań przedklinicznych i klinicznych. Kontynuowanie prac nad rozwojem nowych aptamerów może przyczynić się do poszerzenia ich właściwości farmakologicznych, prowadząc tym samym do powstania wszechstronnej klasy związków, którą będzie można ukierunkować do konkretnych potrzeb klinicznych, np. diagnostyki i leczenia chorób neurodegeneracyjnych i nowotworowych.

Porównanie aptamerów i przeciwciał

Przeciwciała stanowią grupę związków, która została wprowadzona jako narzędzie w biologii molekularnej, diagnostyce oraz leczeniu chorób, dzięki szerokiemu wachlarzowi zastosowań oraz dużemu potencjałowi terapeutycznemu. Przeciwciała wniosły znaczący wkład w rozwój klinicznych testów diagnostycznych, a we współczesnej medycynie stanowią zdecydowaną większość takich testów. Precyzyjne rozpoznawanie molekuł, takich jak zdefiniowane markery różnych chorób w diagnostyce i terapii, staje się kluczowym zagadnieniem współczesnej medycyny. Wprowadzenie metody SELEX umożliwiło izolowanie sekwencji oligonukleotydowych zdolnych do rozpoznawania niemal każdej klasy fragmentu docelowego danej cząsteczki, nie tylko z wysokim powinowactwem, ale również z wysoką swoistością, generując tym samym ciekawą alternatywę dla klasycznych przeciwciał [2, 16, 25]. Obecnie uważa się, że aptamery mogą stanowić klasę związków skutecznie rywalizujących z przeciwciałami pod względem możliwości ich zastosowania do celów diagnostycznych i terapeutycznych. Aptamery można w łatwy sposób modyfikować chemicznie i znakować bez utraty specyficzności, a dodatkowy plus stanowi możliwość ich produkcji w dużych ilościach, bez konieczności wykorzystywania immunizowanych zwierząt. Dzięki możliwości uzyskania wysokiej specyficzności i selektywności interakcji zachodzącej między aptamerami a związanymi przez nie cząsteczkami, istnieje szansa na zwiększenie skuteczności przy jednoczesnym zmniejszeniu skutków ubocznych obserwowanych podczas stosowania terapii z wykorzystaniem tradycyjnych leków. Tak więc aptamery posiadają podobne zalety, jak stosowane do tej pory przeciwciała, jednak są wzbogacone w unikatowe cechy [1, 5, 9, 18]. W Tabeli 1 zestawiono ogólne właściwości aptamerów i przeciwciał.

Tabela 1. Porównanie wybranych właściwości przeciwciał i aptamerów.

	Przeciwciała	Aptamery
Masa	~150–180 kDa	~12–30 kDa
Struktura wtórna	β -sheet	różne: hairpin, loop, G-kwadrupeks, etc.
Czas produkcji	kilka miesięcy (~6 miesięcy)	godziny – miesiące
Immunogenność	wysoka	niska
Minimalny rozmiar targetu	~600 Da	~60 Da
Cel	cząsteczki immunogenne	szeroka gama celów
Trwałość	niska	wysoka
Wprowadzanie modyfikacji chemicznych	ograniczone	różne modyfikacje
Degradacja nukleazy	odporne	wrażliwe
Okres półtrwania in vivo	(~miesiąc)	(~20 min)
Stabilność	wrażliwe na zmiany temperatury i pH	stabilne
Wytwarzanie	wykorzystanie immunizowanych zwierząt	<i>in vitro</i>
Koszty produkcji	wyższe	niższe

Aptamery w diagnostyce i leczeniu chorób neurologicznych

Zaburzenia psychiczne i neurodegeneracyjne skupiają uwagę naukowców na całym świecie na poszukiwaniu nowych, a co za tym idzie coraz to dokładniejszych metod diagnostycznych oraz efektywniejszych form terapii. Dzieje się tak głównie ze względu na rosnącą skalę występowania tych chorób w populacji, cierpienie pacjentów, a także generowanie olbrzymich kosztów dla społeczeństwa. Przykładem może być depresja, której koszty na całym świecie, medyczne i społeczne, wynoszą wiele bilionów euro rocznie.

Wieloletnie, intensywne i wielośrodkowe badania nadal nie przyniosły przełomu w postaci dostępności

skutecznych terapii prowadzących do całkowitego wyleczenia większość chorób neurodegeneracyjnych, a także brak leków znacząco poprawiających jakość i długość życia. Zdiagnozowanie chorób układu nerwowego, takich jak choroba: Alzheimera, Parkinsona, Huntingtona, zakaźna encefalopatia gąbczasta (choroba szalonych krów) czy stwardnienie rozsiane na dzień dzisiejszy dla pacjenta brzmią jak wyrok. Etiologia ich powstania jest nadal w pełni nieuchwytna, a skuteczność dostępnych na rynku leków jest niezadowalająca. Dlatego nowym orężem mogącym pomóc w walce z wieloma schorzeniami wydają się być aptamery, będące relatywnie nową rodziną związków. Stanowią one obiecujący materiał do wykrywania i określania stężenia biologicznie ważnych cząsteczek.

Tabela 2. Zestawienie aptamerów w badaniach klinicznych.

Aptamer	Cel biologiczny	Zastosowanie
Macugen	VEGF ₁₆₅	cukrzycowy obrzęk plamki, retinopatia cukrzycowa, zwyrodnienie plamki żółtej
E10030	PDGF	zespół von Hippel-Lindaua, zwyrodnienie plamki żółtej
ARC1905	ludzkie białko C5 dopełniacza	choroba Stargardta, polipoidalna waskulopatia naczyńkowa, zwyrodnienie plamki żółtej
AS1411 (AGRO100)	nukleolina	ostra białaczka szpikowa, rak nerki, zaawansowane guzy lite
NOX-A12	CXCL12	rak jelita grubego, rak trzustki, przewlekła białaczka limfocytowa, transplantacja hematopoetycznych komórek macierzystych
NOX-E36	CCL2	cukrzyca typu 2, albuminuria, toczeń rumieniowaty układowy, zaburzenia czynności nerek
NOX-H94	hepcydyna	niedokrwistość chorób przewlekłych: anemia, zapalenie, niewydolność nerek
ARC1779	domena A1 cząsteczki vWF (von Willebrand Factor)	choroba von Willebranda, zakrzepowa plamica małopłytkowa, przezskórna interwencja wieńcowa, zakrzepica
NU172	trombina	choroby serca
REG1 system	czynnik krzepnięcia IXa (FIXa)	ostry zespół wieńcowy, choroba wieńcowa
BX499	czynnik tkankowy (TFPI)	hemofilia

Pomimo wciąż nieuchwytnej etiologii zaburzeń neurodegeneracyjnych, istnieje charakteryzująca je wspólna cecha, mianowicie akumulacja nieprawidłowo sfałdowanych białek w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) [9]. Stąd nowatorskie podejście przy użyciu aptamerów, jakim jest spowolnienie czy zapobieganie gromadzenia się takiego białka, jest potencjalnym środkiem do leczenia chorób neurodegeneracyjnych. Aptamery dzięki swoim właściwościom mogą wiązać się z docelowymi białkami, aby zapobiec agregacji nieprawidłowo sfałdowanych białek lub zmniejszyć negatywne skutki poprzez wczesne wykrywanie degeneracyjnych procesów.

Choroba Alzheimera jest najczęstszym typem demencji. Dotyczy milionów ludzi na całym świecie, a liczba ta, między innymi poprzez starzenie się społeczeństwa, stale rośnie [6]. Mózgi pacjentów z chorobą Alzheimera charakteryzują się morfologicznie zaburzeniami neurofibrilarnymi oraz złoгами β -amyloidowymi peptydów mięsżowych i mózgowo-naczyniowych [6, 7, 9]. β -amyloid, jako podstawowe białko pełniące rolę w patogenezie choroby, powstaje w wyniku swoistych endoproteolitycznych cięć cząsteczki białka prekursora amyloidu (App). Białko odpowiedzialne za aktywność β -sekreazy było zidentyfikowane jako proteaza aspartylowa i nazwane BACE1 (enzym tnący App w miejscu β). Stąd BACE1 wydaje się stanowić odpowiedni cel w leczeniu choroby Alzheimera [16]. Jednym z aptamerów, który miał wiązać się z BACE1 z wysokim powinowactwem i specyficznością był aptamer DNA – A1, wybrany przez grupę Lianga [7]. Do badań wykorzystano oczyszczoną ludzką domenę zewnątrzkomórkową BACE, a po przeprowadzeniu procesu metodą SELEX otrzymano dwa aptamery (A1 i A2) o wysokiej specyficzności do BACE1. Wykazano, że w modelu komórkowym choroby Alzheimera (hodowla komórkowa M17–APPsw) aptamer A1 zmniejszał wytwarzanie β -amyloidu: A β 40 i A β 42, a także sAPP β (ang. *soluble amyloid precursor protein* β). Badania te wydają się potwierdzać potencjał terapeutyczny aptameru A1 jako inhibitora BACE1 w leczeniu choroby, wpływając na hamowanie jego aktywności [7]. Stąd takie aptamery mogłyby stanowić potencjalne narzędzie, aby zapobiec bądź też spowolnić rozwój wyniszczających objawów choroby.

Choroba Parkinsona jest jedną z najczęstszych chorób neurozwyrodnieniowych, a jej charakterystyczną cechą jest utrata neuronów na skutek odkładania się w nich patologicznego białka α -synukleiny (należy do grupy tak zwanych synukleinopatii) z obecnością wtęretów śródcytoplazmatycznych, które określane są ciałami Lewy’ego. Agregacje α -synu-

kleiny, zwłaszcza oligomerów, wpływają negatywnie na neurony, między innymi uszkadzając mitochondria czy generując stres oksydacyjny [9, 14, 23]. Stąd zaprojektowanie aptamerów skierowanych przeciwko α -synukleinie wydaje się być potencjalnym narzędziem w diagnozowaniu bądź leczeniu choroby Parkinsona. Dotychczas immunoterapia okazała się być obiecującym podejściem do tej choroby, ponieważ może zapobiegać tworzeniu się form patogennych czy ułatwiać ich usuwanie. Jednak ze względu na charakterystykę przeciwciał, terapia z ich wykorzystaniem może być utrudniona. Na przykład przeciwciała nie są łatwo dostępne dla wewnątrzkomórkowego celu, są immunogenne i często niestabilne termicznie. Stąd istnieje pilna potrzeba, aby znaleźć alternatywne formy terapii choroby Parkinsona. Pierwszy aptamer, nazwany M5-15, którego głównym zadaniem było wiązanie się z oligomerami α -synukleiny, został zaprojektowany w 2010 [24]. Okazało się jednak, że aptamer ten może również nieznacznie wiązać się z monomerami α -synukleiny, co świadczyło o niskiej swoistości wobec toksycznych oligomerów. Później ta sama grupa naukowców opracowała kolejne osiem aptamerów DNA przeciwko oligomerom α -synukleiny. Co ciekawe, te aptamery mogły wiązać się nie tylko z oligomerami α -synukleiny, a także oligomerami β -amyloidu, co dowodzi, że te aptamery mogą być stosowane zarówno w leczeniu choroby Parkinsona, jak i Alzheimera. W procesach neurodegeneracyjnych choroby Parkinsona uszkodzany jest także układ dopaminowy mózgu (układ neuronów posługujących się dopaminą jako neuroprzekaźnikiem). Konsekwencją zaburzenia funkcji neuronów jest niedobór dopaminy (ok. 70–80%) w istocie czarnej i prążkowie oraz przewaga aktywności neuronów glutaminergicznych, hamujących jądra wzgórza. Czerpiąc ze zdobyczy bioinformatyki naukowcy opracowują nanotechnologię, dzięki której implantując do wybranej struktury mózgu biosensory z aptamerami (wiązącymi się specyficznie z danym neuroprzekaźnikiem), będzie można monitorować zmiany biochemiczne u chorych. Nowe narzędzie, zwane aptabiosensorem, dałoby unikalną szansę na lepsze zrozumienie patogeny schorzeń mózgu, wcześniejsze diagnozowanie, prawidłowy dobór leczenia, monitorowanie działania leków oraz wdrażanie terapii spersonalizowanej. Stąd odpowiednio zaprojektowane aptamery mogą być przełomowym narzędziem do monitorowania stężenia poziomu neuroprzekaźników.

Płasawica Huntingtona jest chorobą genetyczną ośrodkowego układu nerwowego, która objawia się zaburzeniami ruchowymi, psychicznymi oraz otępieniem. Choroba ma przebieg postępujący. Przyczyną

choroby jest mutacja w genie *IT15* kodującym białko huntingtinę (mHTT). Choroba dziedziczona jest w sposób autosomalny dominujący, co oznacza, że statystycznie połowa potomstwa chorego na płasawicę odziedziczy zmutowany allel powodujący chorobę. Nieprawidłowe białko gromadzi się w komórkach nerwowych, powodując ich śmierć. Stąd trwają poszukiwania potencjalnych środków, które mogłyby zahamować ścieżkę agregacji mHTT [10]. W 2006 roku naukowcy podjęli badania nad aptamerem, który mógłby hamować agregację mHTT. Wykazano, że aptamer zwiększa żywotność szczurzych komórek linii PC12 z nadekspresją genu fuzyjnego zmutowanego fragmentu Htt [19].

Stwardnienie rozsiane jest przewlekłą, zapalną, demielinizacyjną chorobą ośrodkowego układu nerwowego, w której dochodzi do wieloogniskowego uszkodzenia tkanki nerwowej. Chorobie tej może towarzyszyć wiele objawów, do których należą zaburzenia ruchowe, czuciowe, zaburzenia równowagi, widzenia, zaburzenia autonomiczne, zespoły bólowe oraz objawy psychiatryczne. Charakterystyczną cechą dla tego schorzenia jest zniszczenie mieliny aksonów w ośrodkowym układzie nerwowym. Stąd trwają prace nad aptamerami, które mogłyby wznowić mielinizację uszkodzonych neuronów [3]. W 2012 roku grupa naukowców zaprojektowała 40-nukleotydu aptamer DNA skierowany na mysią mielinę. Badania prowadzone na myszach wykazały, że ten aptamer może promować proces mielinizacji u myszy [11]. Stąd opracowanie aptameru jako terapeutycznego czynnika remielinizującego wydaje się być potencjalny źródłem w leczeniu tej choroby.

Badania kliniczne nad zastosowaniem aptamerów w terapii

Aptamery są obiecującymi kandydatami jako nowa grupa leków i coraz częściej stosowane są przy opracowywaniu nowych strategii terapeutycznych. Dotychczas amerykańska Agencja ds. Żywności

i Leków (FDA, ang. *Food and Drug Administration*) zatwierdziła wprowadzenie na rynek jednego aptameru RNA – Macugen, do leczenia zwyrodnienie plamki żółtej [8, 25]. Kolejne projektowane aptamery poddawane są próbom klinicznym w leczeniu różnych schorzeń, takich jak choroby związane z krzepnięciem krwi, stany zapalne czy nowotwory. W Tabeli 2 przedstawiono aptamery analizowane w badaniach klinicznych [5, 8].

Wobec wyzwań współczesnej medycyny wciąż aktualnym zadaniem dla naukowców jest dalsze zgłębianie wiedzy odnośnie patogenezы powstawania chorób psychicznych i neurodegeneracyjnych oraz poszukiwanie innowacyjnych metod pozwalających wdrożyć nowe, skuteczniejsze rodzaje terapii. W tym celu konieczne jest interdyscyplinarne podejście, wykorzystujące zdobycze wiedzy i techniki z wielu dziedzin, aby dla dobra pacjentów rozwijać coraz to bardziej zaawansowane i spersonalizowane narzędzia diagnostyczne i terapeutyczne. Projektowanie i wykorzystanie unikalnych właściwości aptamerów jest stosunkowo nowym i bardzo obiecującym podejściem dla rozwoju nowych leków, testów diagnostycznych, biosensorów, a także do zgłębiania wiedzy z zakresu badań podstawowych (np. oddziaływań ligand–receptor). Wraz z rozwojem nauk medycznych rośnie zapotrzebowaniem na nowe cząsteczki rozpoznające określone cele molekularne. Aptamery dzięki unikalnym właściwości powodują, że mogą być one zastosowane z powodzeniem tam, gdzie dotychczas używane przeciwciała nie są najlepszym rozwiązaniem i w przyszłości przyczynić się do skuteczniejszej terapii wielu chorób.

Bibliografia

1. Ali M.H., Elsherbiny M.E., Emara M., Ali M.H., Elsherbiny M.E., Emara M. (2019) Updates on Aptamer Research. *International Journal of Molecular Sciences*, 20: 2511.
 2. Catuogno S., Esposito C.L. (2017) Aptamer Cell-Based Selection: Overview and Advances. *Biomedicines*, 5: 1–18.
 3. Correale J., Gaitán M.I., Ysraelit M.C., Fiol M.P. (2016) Progressive multiple sclerosis: from pathogenic mechanisms to treatment. *Brain*, 140: 527–546.
-

4. Davlieva M., Donarski J., Wang J., Shamoo Y., Nikonowicz E.P. (2014) Structure analysis of free and bound states of an RNA aptamer against ribosomal protein S8 from *Bacillus anthracis*. *Nucleic acids research*, 42: 10795–10808.
5. Kaur H., Bruno J.G., Kumar A., Sharma T.K. (2018) Aptamers in the Therapeutics and Diagnostics Pipelines. *Theranostics*, 8: 4016–4032.
6. Lecocq S., Spinella K., Dubois B., Lista S., Hampel H., Penner G. (2018) Aptamers as biomarkers for neurological disorders. Proof of concept in transgenic mice. *PLoS One*, 13: e0190212.
7. Liang H., Shi Y., Kou Z., Peng Y., Chen W., Li X., et al. (2015) Inhibition of BACE1 Activity by a DNA Aptamer in an Alzheimer's Disease Cell Model. *PLoS One*, 10: e0140733.
8. Maier K.E., Levy M. (2016) From selection hits to clinical leads: progress in aptamer discovery. *Molecular Therapy – Methods & Clinical Development*, 3: 16014.
9. Martinelli A.H.S., Lopes F.C., John E.B.O., Carlini C.R., Ligabue-Braun R. (2019) Modulation of Disordered Proteins with a Focus on Neurodegenerative Diseases and Other Pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 20: 1322.
10. Migliore S., Jankovic J., Squitieri F. (2019) Genetic Counseling in Huntington's Disease: Potential New Challenges on Horizon? *Frontiers in Neurology*, 10: 453.
11. Nastasijevic B., Wright B.R., Smestad J., Warrington A.E., Rodriguez M., Maher L.J. (2012) Remyelination Induced by a DNA Aptamer in a Mouse Model of Multiple Sclerosis. *PLoS One*, 7: e39595.
12. Nezlin R. (2014) Aptamers in immunological research. *Immunology Letters*, 162: 252–255.
13. Nimjee S.M., White R.R., Becker R.C., Sullenger B.A. (2017) Aptamers as Therapeutics. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 57: 61–79.
14. Norwitz N.G., Hu M.T., Clarke K. (2019) The Mechanisms by Which the Ketone Body D-β-Hydroxybutyrate May Improve the Multiple Cellular Pathologies of Parkinson's Disease. *Frontiers in Nutrition*, 6: 63.
15. Pleiko K., Saulite L., Parfejevs V., Miculis K., Vjaters E., Riekstina U. (2019) Differential binding cell-SELEX method to identify cell-specific aptamers using high-throughput sequencing. *Scientific Reports*, 9: 8142.
16. Qu J., Yu S., Zheng Y., Zheng Y., Yang H., Zhang J. (2017) Aptamer and its applications in neurodegenerative diseases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 74: 683–695.
17. Radom F., Jurek P.M., Mazurek M.P., Otlewski J., Jeleń F. (2013) Aptamers: Molecules of great potential. *Biotechnology Advances*, 31: 1260–1274.
18. Röthlisberger P., Gasse C., Hollenstein M. (2017) Nucleic Acid Aptamers: Emerging Applications in Medical Imaging, Nanotechnology, Neurosciences, and Drug Delivery. *International Journal of Molecular Sciences*, 18: 2430.
19. Skogen M., Roth J., Yerkes S., Parekh-Olmedo H., Kmiec E. (2006) Short G-rich oligonucleotides as a potential therapeutic for Huntington's Disease. *BMC Neuroscience*, 7: 65.
20. Stoltenburg R., Reinemann C., Strehlitz B. (2007) SELEX–A (r)evolutionary method to generate high-affinity nucleic acid ligands. *Biomolecular Engineering*, 24: 381–403.
21. Sullenger B.A., Gallardo H.F., Ungers G.E., Gilboa E. (1990) Overexpression of TAR sequences renders cells resistant to human immunodeficiency virus replication. *Cell*, 63: 601–608.
22. Toh S.Y., Citartan M., Gopinath S.C.B., Tang T.-H. (2015) Aptamers as a replacement for antibodies in enzyme-linked immunosorbent assay. *Biosensors and Bioelectronics*, 64: 392–403.
23. Vasili E., Dominguez-Mejide A., Outeiro T.F. (2019) Spreading of α-Synuclein and Tau: A Systematic Comparison of the Mechanisms Involved. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 12: 107.
24. Weng C.-H., Huang C.-J., Lee G.-B. (2012) Screening of aptamers on microfluidic systems for clinical applications. *Sensors (Basel)*, 12: 9514–29.
25. Zhou J., Rossi J. (2017) Aptamers as targeted therapeutics: current potential and challenges. *Nature reviews. Drug discovery*, 16: 181–202.