Khả năng ức chế ung thư của Imetelstat

Dương Mỹ Phụng[1*], Nguyễn Thanh Nam[2], Nguyễn Thuận Lợi[3], Lý Huỳnh Thư Hà[4], Nguyễn Thế Phong[5].

[1, 2, 3, 4, 5]Sinh viên Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Đại học Cần Thơ, Cần Thơ, Việt Nam.

*Mọi thắc mắc xin liên hệ: phungduongmy1416222@gmail.com

Từ khóa: Imetelstat, liệu pháp trị ung thư, ung thư, telomerase, telomere.

Tóm tắt

Tình trạng bệnh ung thư ở Việt Nam đang ở mức báo động với tỉ lệ mắc un g thư đứng thứ 2 khối ASEAN [1]. Vì vậy chúng ta cần đẩy mạnh hơn nữa việc nghiên cứu chữa trị ung thư . Nghiên cứu được giải Nobel Y học của Elizabeth H. Blackburn, Carol W. Greider, và Jack W. Szostak [2] về cơ chế bảo vệ nhiễm sắc thể (NST) của telomere và telomerase mang đến một hướng điều trị ung thư mới. Telomere là cấu trúc đặc thù không chứa gen nằm ở đầu mút của NST ở sinh v ật nhân thực (Eukaryote) giúp ổn định hệ gen và bảo vệ NST trong phân bào. Telomerase là một enzyme phiên mã ngược dùng để tổng hợp lại phần telomere bị mất đi trong quá trình phân bào. Hầu hết, tế bào ung thư có lượng lớn telomerase giúp bảo tồn telomere trên NST dẫn đến khả năng phân chia vô hạn. Trong các chất ức chế telomerase , imetelstat được đánh giá là rất tiềm năng trong điều trị ung thư. Trong bài viết này, chúng tôi sẽ cung cấp thông tin về vai trò của telomere, telomerase và khả năng ức chế telomerase của imetelstat.

I. Giới thiệu

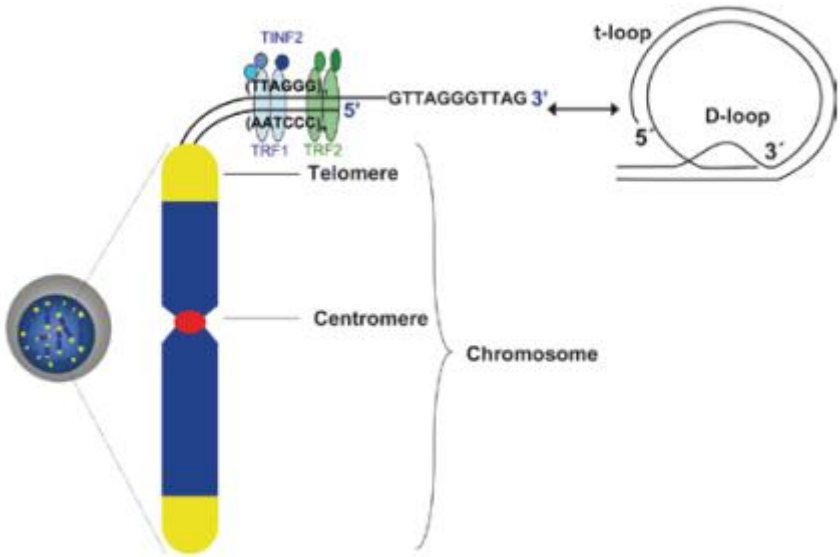
Ung thư hiện nay là căn bệnh rất phổ biến, có mặt hầu hết ở các quốc gia và châu lục. Việc điều trị ung thư hết sức phức tạp và tốn kém, chủ yếu bằng các biện pháp hóa trị và xạ trị. Bên cạnh đó, quá trình điều trị còn để lại một số hậu quả đối với sức khỏe và ung thư có khả năng tái phát. Theo thống kê của Tổ chức Y t ế thế giới (WHO) năm 2012, mỗi năm có 14,1 triệu trường hợp ca bệnh ung thư mới, 8,2 triệu ca tử vong vì ung thư, và 32,6 triệu người sống với bệnh ung thư (số liệu trong vòn g 5 năm) trên toàn thế giới [3]. Việt Nam có tỉ lệ mắc ung thư đứng thứ 2 trong khu vực Đông Nam Á (ASEAN). Bên cạnh đó, trong số 7 loại ung thư xảy ra phổ biến nhất khu vực ASEAN thì có 3 loại ung thư (phổi, gan, và dạ dày) Việt Nam có tỉ lệ mắc đứng trong nhóm ba nước dẫn đầu, thậm chí đứng đầu khu vực [1]. Vì

thế các nhà khoa học đang đẩy mạnh nghiên cứu tìm ra phương thức điều trị ung thư, nhất là tìm ra các hướng nghiên cứu mới để đưa ra các biện pháp điều trị hiệu quả hơn.

I.1. Telomere

Đa phần các tế bào ung thư đều phát triển từ tế bào soma hay còn gọi là tế bào sinh dưỡng. Một trong những dấu hiệu chủ chốt để phân biệt tế bào ung thư với các tế bào bình thường là khả năng phân chia vô hạn của chúng. Hầu hết (85 – 90%) tế bào ung thư đã tái lập khả năng tổng hợp số lượng lớn telomerase qua chu kì tế bào (cell cycle), qua đó ngăn chặn được sự ngắn đi của các telomere. Đây là thuộc tính khiến cho tế bào ung thư có khả năng phân chia vô hạn. Vì vậy, hiểu rõ bản chất của telomere và telomerase là rất quan trọng trong điều trị các bệnh lý về ung thư [4].

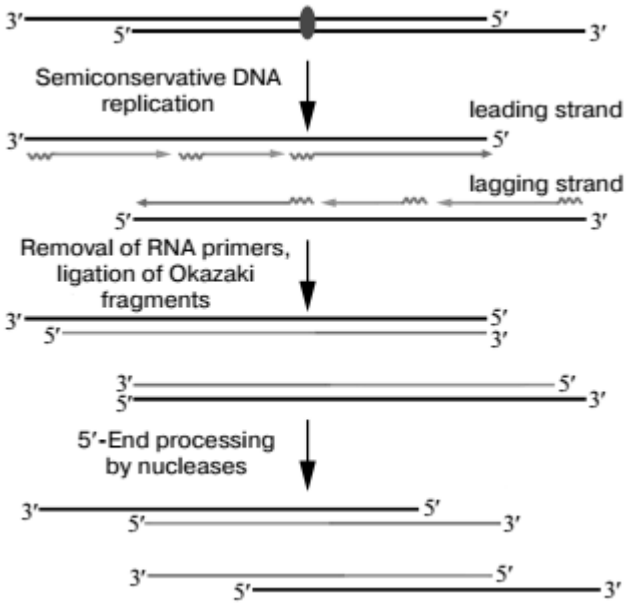
Telomere (theo tiếng Hy Lạp, telo có nghĩa là cuối, còn mere là phần) là những đoạn DNA không mã hóa gene có trình tự lặp lại (thường là TTAGGG) nằm ở phần cuối của DNA cùng với một đoạn mạch đơn nhô ra ở đầu 3' giàu guanine (G) và có chứa một số protein liên quan (TRF1, TRF2, POT1, vv) có vai trò quan trọng đối với cấu trúc ba chiều của đoạn cuối nhiễm sắc thể. Tác dụng của telomere là duy trì sự ổn định của hệ gene, bảo vệ nhiễm sắc thể trong quá trình phân bào, cũng như giữ cho các nhiễm sắc thể không dính vào nhau (Hình 1) [5].



Hình 1. Cấu trúc telomere nằm trên NST người. Chú thích: centromere: tâm động; chromosome: nhiễm sắc thể; loop: quai (Röth, A. và các cộng sự, 2010) [5].

Khi sao chép nhiễm sắc thể, các enzyme sao chép DNA không thể tiếp tục nhân bản đến đầu mút của một nhiễm sắc thể. Vì vậy, trong mỗi lần nhân bản, phần đầu của nhiễm sắc thể

sẽ bị rút ngắn (khoảng 50-200 cặp base ở phần cuối DNA sẽ bị mất trong mỗi lần tế bào phân chia) (Hình 2) [7]. Telomere là phần đệm nằm ở đầu mút và không mã hóa các gen, nên sẽ là bộ phận bị cắt ngắn đi (thay vì các gen) sau mỗi lần phân bào. Điều này giúp đảm bảo sự nguyên vẹn của NST và các NST không bị mất gen. Tuy nhiên, nếu quá trình rút ngắn của các telomere cứ tiếp tục diễn ra, đến lúc telomere quá ngắn hoặc biến mất, thì khả năng bảo vệ các đoạn gen ở đầu mút sẽ không còn. Khi đó, tế bào sẽ đi vào quá trình chết theo chương trình (programmed cell death, apoptosis). Đây là quá trình giúp cơ thể loại bỏ những tế bào không còn cần thiết, hoặc các tế bào bị tổn thương, những sai hỏng có thể phát triển thành ung thư [4-6].

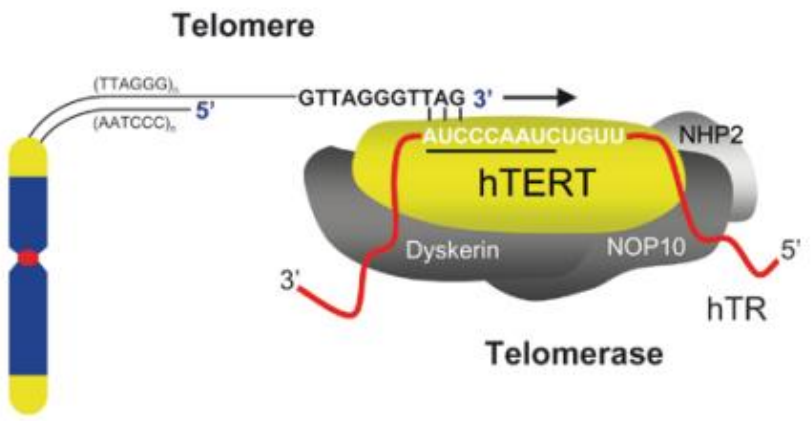


Hình 2. Telomere rút ngắn dần sau mỗi lần sao chép DNA trong từng lần phân chia tế bào (Zvereva và các cộng sự, 2010) [7].

I.2. Telomerase

Trong hầu hết sinh vật nhân thực (Eukaryote), để khắc phục sự rút ngắn của các telomere, tế bào tự động sản xuất ra enzyme telomerase. Đây là một phức hợp ribonucleoprotein bao gồm một tiểu đơn vị protein xúc tác có khả năng sao chép ngược (hTERT) và một đoạn mạch khuôn hTR RNA (telomerase RNA người, hay còn gọi là TERC, có vai trò cung cấp khuôn RNA cho việc tổng hợp trình tự lặp ngắn của telomere). Ngoài ra, trong phức hệ telomerase còn có các protein liên quan khác (dyskerin, NOP10, NHP2…) (Hình 3) [4,5]. Nhờ sự kết hợp các tiểu phần đó mà telomerase có khả năng tổng hợp và duy trì đoạn cuối DNA bằng cách thêm các nucleotide theo trình tự lặp lại vào để thay thế cho phần telomere bị rút ngắn đi ở đầu 3' của đoạn cuối DNA.

Ở người, hầu hết tế bào sinh dưỡng có lượng telomerase rất ít hoặc không có, bởi vì sau khi chúng ta được sinh ra, hoạt động của telomerase trong tế bào sinh dưỡng của cơ thể sẽ bị ức chế một cách tự nhiên để tránh hình thành các khối u gây ra ung thư. Tuy nhiên, hoạt động của telomerase ở các tế bào mầm, tế bào gốc phôi thai, tế bào sinh sản,… lại rất quan trọng trong tái lập đoạn telomere trong NST cần thiết cho duy trì nòi giống (4-7).



Hình 3. Cấu trúc của telomerase. Phức hệ telomerase người bao gồm một đơn vị xúc tác hTERT và một đoạn mạch khuôn hTR RNA, và các protein liên quan khác (Röth, A. và các cộng sự, 2010) [5].

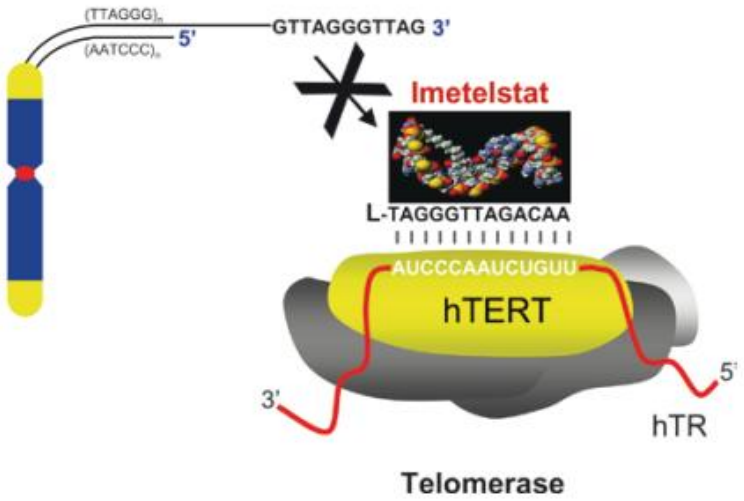
Không chỉ có trong các tế bào sinh sản, telomerase còn được biểu hiện ở các tế bào ung thư và nó đóng vai trò chủ chốt khiến tế bào ung thư có khả năng phân bào vô hạn. Các tế bào ung thư thường là những tế bào sinh dưỡng có khả năng phân chia mạnh dẫn đến đoạn telomere của NST trong những tế bào này sẽ ngắn đi nhanh chóng. Tuy nhiên, khi đoạn telomere của chúng ngắn đến một giai đoạn nhất định, thì các tế bào ung thư sẽ tái lập khả năng tạo ra telomerase để tiếp tục duy trì sự sinh sôi của tế bào. Điều này tạo nên khả năng phân chia vô hạn hay còn gọi là sự bất tử của tế bào ung thư.

Vậy, nếu chúng ta có thể ngăn chặn được hoạt động của enzyme telomerase trong tế bào ung thư thì có thể kiểm soát được sự lây lan của căn bệnh này hay không? Câu hỏi này đã khiến telomerase và telomere trở thành một hướng đi hấp dẫn trong chẩn đoán và điều trị ung thư [7]. Đặc biệt, các nghiên cứu đã chứng tỏ rằng sự ức chế telomerase có thể được sử dụng rộng rãi cho hầu hết các loại khối u ở người vì chất ức chế telomerase chủ yếu sẽ ảnh hưởng đến các tế bào ung thư nơi mà hoạt động của telomerase được biểu hiện ở mức cao.

II. Chất ức chế telomerase - imetelstat

Như đã giới thiệu ở trên, liệu pháp điều trị ung thư dựa trên sự ức chế telomerase được đánh giá cao về tính khả thi và tiềm năng. Trong bài viết này, chúng tôi sẽ giới thiệu về một chất ức chế telomerase đang nhận được nhiều sự chú ý trong nghiên cứu, đó là imetelstat.

Imetelstat (GRN163L) là một loại thuốc mới được hứa hẹn sẽ điều trị tốt bệnh ung thư. Hợp chất này là m ột phức hợp lipid có bản chất là oligonucleotide với 13 đơn phân N3'-P5' thio-phosphoramidate (Hình 4) [5].



Hình 4. Chất ức chế telomerase imetelstat và hoạt động ức chế của nó đối với telomerase. Imetelstat là một chất có 13 đơn phân có bản chất là oligonucleotide N3'-P5' thiophosphoramidate. Imetelstat gắn vào hTR- một thành phần của telomerase do đó ngăn chặn khả năng liên kết của telomerase vào telomere (Röth, A. và cộng sự, 2010) [5].

Trong telomersase, hTR đóng vai trò như một mạch khuôn kết hợp với hTERT nhờ đó enzyme này có khả năn g phiên mã ngược để tổng hợp các đoạn telomere thêm vào DNA . Đoạn mạch khuôn h TR trong telomere dễ dàng bị gắn kết bởi các chất ức chế có bản chất là oligonucleotide. Nhiều chất ức chế có bản chất là oligonucleotide đã đượ c kiểm nghiệm , trong đó , N39-P59 thiophosphoramidate oligonucleotides được đánh giá cao về tiềm năng cũng như tính đặc hiệu , chọn lọc dính vào đoạn khuôn hTR . Imetelstat là chất ức chế N 39-P59 thiophosphoramidate oligonucleotides thế hệ thứ 2 được phát triển bởi Geron Corp [8]. Đầu 5’ lipid và khung sườn oligonucleotide giúp imetelstat có khả năng xâm nhập tốt vào các mô và tế bào, bất kể tế bào thường hay tế bào ác tính, dù thuốc được dùng ở nồng độ thấp. Bên cạnh đó, tương tự những hợp chất polyacroinic khác, cấu trúc oligonucleotide trong imetelstat không có khuynh hướng trở thành hợp chất nền cho các phản ứng hóa học thông thường. Vì thế, imetelstat sẽ không thể hiện chức năng của nó cho đến khi nó trực tiếp liên

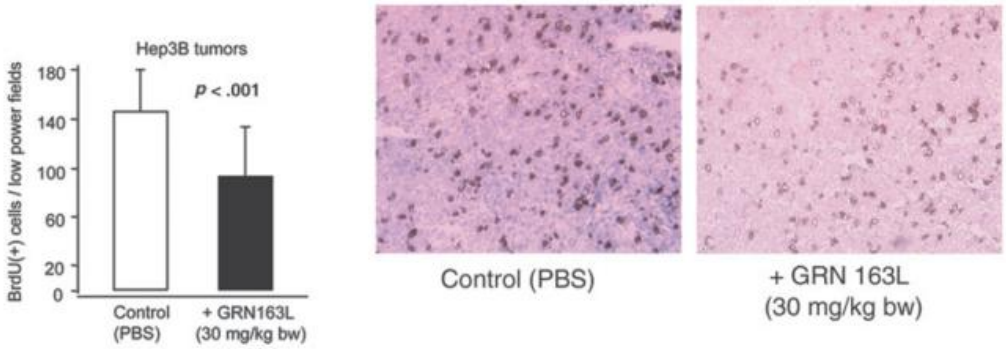
kết với các RNA của telomerase (hTR) với ái lực cao và đặc hiệu. Đây là một tín hiệu an toàn khi sử dụng hợp chất này trong trị liệu [5]. Sau khi imetelstat đã gắn vào hTR của telomerase, enzyme này sẽ không thể thực hiện chức năng kéo dài đoạn telomere được. Nhờ vậy mà telomere của các NST không được phục hồi dẫn đến các tế bào ung thư dần dần bị tiêu diệt do mất khả năng tăng sinh vô hạn.

Những ảnh hưởng của imetelstat đã được thể hiện trong nhiều nghiên cứu tiền lâm sàng *in vitro,* trên chuột (*in vivo*), và trong nhiều dạng tế bào khối u khác nhau của người như phổi, gan, não, vú, tuyến tiền liệt, bàng quang, và cả ở một số bệnh ung thư máu ác tính như: đa u tủy xương và u lympho (ung thư hạch bạch huyết). Các kết quả đều cho kết quả khả quan nhất là ở trường hợp các bệnh ung thư máu. Ngoài ra, tính an toàn của imetelstat ở điều kiện *in vivo* cũng đã được khẳng định trong số những thử nghiệm này [5,9]. Thêm vào đó, theo một báo cáo của C.M. Buseman (2012) tiến hành thử nghiệm trên các tế bào ung thư của người và mô ghép ung thư (tumor xenograft) ở chuột; khi chỉ sử dụng biện pháp hóa trị đối với các tế bào ung thư thì chiều dài đoạn telomere của tế bào gần như không đổi (do telomerase không bị ức chế). Các tế bào do bị ảnh hưởng của hóa trị sẽ giảm sinh sôi, nhưng bệnh vẫn có dấu hiệu tái phát lại. Khi sử dụng chất ức chế telomerase kết hợp với hóa trị, các đoạn telomere của tế bào có dấu hiệu ngắn đi. Số lượng tế bào ung thư giảm bớt, nhưng lại có phản ứng phụ của thuốc. Khi kết hợp giữa biện pháp hóa trị cùng với imetelstat được thêm vào ở giai đoạn thích hợp, các đoạn telomere có ngắn bớt, số lượng tế bào ung thư giảm đồng thời cũng giảm được tình trạng phản ứng phụ của thuốc [10].

Trong một nghiên cứu, Z. Gunnur Dikmen và cộng sự đã kiểm tra tác dụng của imetelstat trên tế bào ung thư phổi trên cả qui mô ống nghiệm (*in vitro)* và chuột (*in vivo).* Kết quả cho thấy, imetelstat không chỉ giảm đi hoạt tính của telomerase trong tế bào ung thư phổi mà còn làm giảm sự phát triển và nhân đôi của chúng trên *in vitro* cũng như ức chế khả năng hình thành khối u khi cấy tế bào ung thư phổi đã được điều trị bằng imetelstat vào chuột (*in vivo*). Cụ thể, khi tiêm tế bào ung thư phổi không qua trị liệu với imetelstat vào chuột khỏe mạnh rồi chuyển chúng qua giai đoạn trị liệu với imetelstat 3 ngày/lần trong 3 tuần. Kết quả, chuột đối chứng có phát triển các khối u trong khi chuột được trị liệu với imetelstat chỉ có khối u rất nhỏ, thậm chí là không có sự phát triển khối u.

Đối với ung thư gan, Meta W. Djojosubroto và cộng sự đánh giá khá tốt về khả năng ức chế telomerase của imetelstat khi thử nghiệm trên các dòng tế bào ung thư gan Hep3B, Huh7, và HepG2 với nồng độ IC_{50} lần lượt là 0,36 µmol/L, 1,20 µmol/L, và 0,63 µmol/L [11]. Chiều dài của telomere trong NST trong các tế bào này cũng không được duy trì do sự ức chế

telomerase. Bên cạnh đó, imetelstat cũng có tác dụng ức chế sự sinh sôi của các tế bào ung thư và dẫn đến chu kỳ chết của tế bào ung thư (Hình 5).



Hình 5. Các tế bào ung thư phổi sau khi trị liệu bằng GRN163L (imetelstat) đã có những biểu hiện giảm khả năn g sinh sôi và tăng dần xu hướng tiến vào giai đoạn chu trình chết của tế bào. Biểu đồ bên trái cho thấy số lượng trung bình của các tế bào dương tính với BrdU (các tế bào đang phân chia). Hình bên phải là các hình đại diện khi so sánh sự phân chia của các tế bào ung thư đối chứng với các tế bào ung thư có trải qua trị liệu. Có thể nhận thấy sau khi sử dụng GRN163L (imetelstat), khả năng phân chia của các tế bào ung thư đã giảm bớt rõ rệt (số chấm đen BrdU dương tính của các tế bào đã trải qua trị liệu bằng imetelstat giảm đi nhiều so với các tế bào đối chứng) (Djojosubroto và cộng sự, 2005) [11].

Có hai nghiên cứu đã tiến hành th ử nghiệm imetelstat đối với tế bào ung thư vú của người, đó là nghiên cứu của Ginelle C. Gellert và cộng sự năm 2006 [12] và nghiên cứu của Amelia E. Hochreiter và cộng sự, cũng trong năm 2006 [13]. Các kết quả cho thấy rằng GRN163L (imetelstat) có khả năng ức chế telomerase hiệu quả , ngăn chặn được s ự phục hồi telomere [12,13], và ức chế được cả sự phát triển của tế bào [12].

Sau đó, các nghiên cứu về ảnh hưởng của imetelstat đối với các tế bào ung thư tụy và các tế bào ung thư bàng quang cũng đã được tiến hành [4,14]. Kết quả là GRN163L có dấu hiệu làm giảm đi chu trình sống và s ự sinh sôi của các tế bào ung thư tụy và bàng quang do sự ngắn lại của telomere khi hoạt động của enzyme telomerase bị ức chế . Nghiên cứu cũng kết luận rằng imetelstat có hiệu quả tốt hơn so với các oligonucleotide khác , khả quan về tiềm năng trị ung thư của imetelstat trong việc ngăn chặn sự tái phát hoặc giảm đi sự nguy hiểm của ung thư khi kết hợp imetelstat với các phương pháp trị liệu khác [14].

Imetelstat cũng đã trải qua các thử nghiệm lâm sàng. Thông thường có 4 giai đoạn kiểm nghiệm lâm sàng cho mỗi thuốc [15]:

- Giai đoạn 1: thử nghiệm nhóm nhỏ (từ 20-80 người) để xác định liều lượng an toàn và tác dụng phụ (nếu có).

- Giai đoạn 2: thử nghiệm đối với nhóm lớn hơn (100-300 người) để xác định hiệu quả và đánh giá mức độ an toàn và tác dụng phụ của thuốc.
- Giai đoạn 3: (1000-3000 người) đánh giá hiệu quả, mức độ an toàn, kiểm soát tác dụng phụ, và so sánh với các phương pháp trị liệu đang được áp dụng.
- Giai đoạn 4: Nghiên cứu đưa ra thị trường và tiến hành các phê duyệt cần có khác. Tiếp tục theo dõi lâu dài mức độ an toàn và hiệu quả của thuốc sau khi đưa ra thị trường.

GRN163L hiện đã trải qua nghiên cứu lâm sàng ở các giai đoạn 1 và 2 và thử nghiệm kết hợp trị liệu với paclitaxel, bevacizumab, và trastuzumab [10,18]. Các kết quả cho thấy liều khuyên dùng của imetelstat là 285 mg/m^2 [16]. Tác dụng phụ chủ yếu là làm giảm đi lượng bạch cầu và tiểu cầu, có thể ảnh hưởng tới quá trình đông máu cũng như hệ miễn dịch của cơ thể. Vẫn có những tác dụng phụ khác xảy ra như tiêu chảy, ói mửa, mệt mỏi,… [16-18]. Tuy nhiên, vẫn cần phải có thêm nhiều nghiên cứu chuyên sâu và lâu dài để đánh giá tiềm năng của hợp chất này, tính an toàn, và hiệu quả ở mức độ lâm sàng.

III. Bàn luận

Dù có những đánh giá khả quan về các phương pháp trị liệu ung thư dựa trên sự ức chế enzyme telomerase nhưng vẫn còn tồn tại nhiều thách thức. Đáng chú ý nhất là ảnh hưởng của các chất ức chế vẫn còn phụ thuộc vào sự phân bố chiều dài đoạn đầu telomere trên NST trong các tế bào ung thư. Thêm vào đó, dù cho có sự hiện diện của các chất ức chế telomerase thì các tế bào vẫn phải trải qua nhiều lần phân bào cho đến khi các telomere trở nên ngắn đến mức các tế bào ung thư bị buộc đi vào quá trình tự sát theo chương trình (programmed cell death, apoptosis). Do đó, liệu pháp sử dụng chất ức chế telomerase không có hiệu quả tức thì trong việc loại bỏ các tế bào ung thư, đặc biệt là đối với các tế bào vẫn còn đoạn telomere tương đối dài [11].

Tuy vậy, đối với những tế bào có đoạn telomere ngắn và có hàm lượng enzyme telomerase cao thì liệu pháp trị liệu này lại rất lý tưởng. Ví dụ, trong một số bệnh hiếm gặp liên quan đến bạch cầu tiền lympho, các tế bào T vô tính (the clonal T-cells) có một đặc trưng là telomere ngắn và có mức hoạt động telomerase cao để tăng cường phục hồi các telomere. Do đó, các tế bào ung thư này là một trong những mục tiêu thích hợp cho việc chữa trị bằng phương pháp ức chế telomerase. Thậm chí sự ức chế enzyme này có thể là một chiến lược điều trị hữu hiệu đối với căn bệnh nguy hiểm này [5].

Mặc dù phương pháp mà chúng tôi đề cập đến chưa mang lại hi ệu quả tức thì trong việc điều trị đối với các tế bào có telomere dài, nhưng chúng ta vẫn có thể lợi dụng tốt sự hiện diện của telomerase trong tế bào ung thư. Bởi vì khi gây ức chế telomerase, các tế bào ung thư trở nên nhạy cảm hơn với các trị liệu bức xạ cũng như các liệu pháp khác. Do đó, liệu pháp ức chế telomerase có thể mang lại hiệu quả cao nhất khi kết hợp với các phương pháp điều trị khác, đặc biệt cho các khối u kháng thuốc [5].

Về tác giả:

Nhóm tác giả Dương Mỹ Phụng, Nguyễn Thanh Nam, Nguyễn Thuận Lợi, Lý Huỳnh Thư Hà, Nguyễn Thế Phong là những sinh viên đến từ Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, trường Đại học Cần Thơ với niềm đam mê chung về nhiều lĩnh vực công nghệ sinh học đặc biệt là về lĩnh vực y sinh và công nghệ tế bào gốc. Tác giả chính Dương Mỹ Phụng hiện là sinh viên năm cuối chuyên ngành Công nghệ Sinh học Tiên tiến.

Biên tập viên: Lê Hoàng

Tài liệu tham khảo

1. Kimman, M., Norman, R., Jan, S., Kingston, D., & Woodward, M. (2012). The burden of cancer in member countries of the Association of Southeast Asian Nations (ASEAN). *Asian Pacific journal of cancer prevention*, 13(2), 411-420.
2. Corey, D. R. (2009). Telomeres and telomerase: from discovery to clinical trials. *Chemistry & biology*,16(12), 1219-1223.
3. http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx
4. Burchett, K. M., Yan, Y., & Ouellette, M. M. (2014). Telomerase inhibitor Imetelstat (GRN163L) limits the lifespan of human pancreatic cancer cells. *PloS one*, 9(1), e85155.
5. Röth, A., Harley, C. B., & Baerlocher, G. M. (2010). Imetelstat (GRN163L)-telomerase-based cancer therapy. *Recent Results Cancer Res*, 184:221-34.
6. Jäger, K., & Walter, M. (2016). Therapeutic Targeting of Telomerase. *Genes*, 7(7), 39.
7. Zvereva, M. I., Shcherbakova, D. M., & Dontsova, O. A. (2010). Telomerase: structure, functions, and activity regulation. *Biochemistry (Moscow)*, 75(13), 1563-1583.
8. Herbert, B. S., Gellert, G. C., Hochreiter, A., Pongracz, K., Wright, W. E., Zielinska, D., ... & Gryaznov, S. M. (2005). Lipid modification of GRN163, an N3′→ P5′ thio-phosphoramidate oligonucleotide, enhances the potency of telomerase inhibition. *Oncogene*, 24(33), 5262-5268.
9. Dikmen, Z. G., Gellert, G. C., Jackson, S., Gryaznov, S., Tressler, R., Dogan, P., ... & Shay, J. W. (2005). In vivo inhibition of lung cancer by GRN163L: a novel human telomerase inhibitor. *Cancer research*, 65(17), 7866-7873.

10. Buseman, C. M., Wright, W. E., & Shay, J. W. (2012). Is telomerase a viable target in cancer? *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 730(1), 90-97.
11. Djojosubroto, M. W., Chin, A. C., Go, N., Schaetzlein, S., Manns, M. P., Gryaznov, S., ... & Rudolph, K. L. (2005). Telomerase antagonists GRN163 and GRN163L inhibit tumor growth and increase chemosensitivity of human hepatoma. *Hepatology*, 42(5), 1127-1136.
12. Gellert, G. C., Dikmen, Z. G., Wright, W. E., Gryaznov, S., & Shay, J. W. (2006). Effects of a novel telomerase inhibitor, GRN163L, in human breast cancer. *Breast cancer research and treatment*, 96(1), 73-81.
13. Hochreiter, A. E., Xiao, H., Goldblatt, E. M., Gryaznov, S. M., Miller, K. D., Badve, S., ... & Herbert, B. S. (2006). Telomerase template antagonist GRN163L disrupts telomere maintenance, tumor growth, and metastasis of breast cancer. *Clinical Cancer Research*, 12(10), 3184-3192.
14. Dikmen, Z. G., Wright, W. E., Shay, J. W., & Gryaznov, S. M. (2008). Telomerase targeted oligonucleotide thio-phosphoramidates in T24-luc bladder cancer cells. *Journal of cellular biochemistry*,104(2), 444-452.
15. http://www.fda.gov/ForPatients/Approvals/Drugs/ucm405622.htm#phases (20/11/2016)
16. Thompson, P. A., Drissi, R., Muscal, J. A., Panditharatna, E., Fouladi, M., Ingle, A. M., ... & Blaney, S. M. (2013). A phase I trial of imetelstat in children with refractory or recurrent solid tumors: a Children's Oncology Group Phase I Consortium Study (ADVL1112). *Clinical Cancer Research*, 19(23), 6578-6584.
17. Salloum, R., Hummel, T. R., Kumar, S. S., Dorris, K., Li, S., Lin, T., ... & Stevenson, C. (2016). A molecular biology and phase II study of imetelstat (GRN163L) in children with recurrent or refractory central nervous system malignancies: a pediatric brain tumor consortium study. *Journal of neuro-oncology*, 129(3), 443-451.
18. Kozloff, M., Sledge, G. W., Benedetti, F. M., Starr, A., Wallace, J. A., Stuart, M. J., ... & Miller, K. (2010). Phase I study of imetelstat (GRN163L) in combination with paclitaxel (P) and bevacizumab (B) in patients (pts) with locally recurrent or metastatic breast cancer (MBC). *J Clin Oncol*, 28, 15s.