

Systemy dostarczania leków – przełom w terapii nowotworów z użyciem antracyklin^{*})

KATARZYNA SZYSZKO*, KAROL M. PAWŁOWSKI*. **, KINGA MAJCHRZAK*,
JOANNA MUCHA*, TOMASZ MOTYL*, MAGDALENA KRÓL*

*Katedra Nauk Fizjologicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

**Katedra Biologii Środowiska Wydziału Nauk o Zwierzętach SGGW, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

Szyszko K., Pawłowski K. M., Majchrzak K., Mucha J., Motyl T., Król M.

Drug delivery systems: Breakthroughs in cancer therapy with anthracyclines

Summary

Anthracyclines have commonly been used in the treatment of many cancers in humans and animals for more than two decades. Unfortunately, the cardiotoxicity of these drugs and a mechanism of chemoresistance to anthracyclines are the main factors limiting their use.

Drug delivery systems (DDS) are of great promise in cancer therapy because they transport anthracyclines to cancer cells via endocytosis. Drugs transported with delivery systems are also less toxic. The best-studied drug carriers are liposomes, micelles, dendrimers, as well as polymeric and viral nanoparticles. They increase the apoptosis/necrosis of cancer cells, but the drugs are less toxic to normal cells and tissues. Modern drug delivery systems can improve anticancer therapy in humans and in animals.

Keywords: anthracyclines, drug delivery system, liposomes, micelles, dendrimers, nanoparticles

Antybiotyki antracyklinowe są używane w terapii nowotworów od ponad dwóch dekad (19), zarówno w leczeniu ludzi, jak i zwierząt (35). U ludzi dokсорubicyna, najpopularniejszy lek z tej grupy, stosowana jest w terapii: raka piersi (11), chłoniaka Hodgkina, chłoniaka nieziarniczego, nowotworów wątroby, raka żołądka, drobnokomórkowego raka płuc, jak również nowotworów krwi, tarczycy, jajników, pęcherza moczowego i mięsaków kości (11). U psów stosowana jest ona w leczeniu: białaczek, chłoniaków, mięsaków tkanek miękkich, nowotworów płuc, nerek, tarczycy i nowotworów sutka (36, 48). Niestety, toksyczność tych leków ogranicza możliwości stosowania aktywnych terapeutycznie ich dawek (11). Antybiotyki antracyklinowe charakteryzują się kardiotoxycznoscia zarówno u ludzi, jak i u zwierząt (19, 21, 36, 38). Wykazano, że zazwyczaj w ciągu roku po zakończeniu terapii antracyklinami rozwija się rozstrzeniowa kardiomiopatia oraz przewlekła niewydolność serca (46). Czasami już po tygodniu podawania antracyklin u pacjentów pojawiają się objawy ich ostrej kardiotoxycznosci: arytmia, hipotensja i upośledzona kurezliwość serca (54). Z kolei skojarzenie dokсорubicyny z innymi lekami, np. taksanami (paklitaksellem lub docetaksellem w leczeniu raka piersi) powoduje nasilenie działania kardiotoxycznego (37). U psów do tej pory nie

ustalono dawki dokсорubicyny, po przekroczeniu której dochodziłoby do rozwinięcia się kardiomiopatii. Uważa się, iż dawka nie powinna być większa niż 240 mg/m², chociaż rozwój kardiomiopatii obserwowano w wyniku podawania nawet dawek 180-200 mg/m² (36). Kardiotoxycznosc jest, obok mechanizmu nabywania oporności wielolekowej przez komórki nowotworowe, głównym czynnikiem ograniczającym użycie tego leku zarówno w medycynie ludzkiej, jak i weterynaryjnej (19, 36, 38). Problemy te próbuje się rozwiązywać, stosując nośniki leków – DDS (drug delivery system), czyli systemy dostarczania leków (9, 10, 38). Uważa się, iż systemy te przyniosą przełom w leczeniu chorób nowotworowych, dlatego też obecnie projektuje się i bada wiele typów DDS. Oczywiście jest, iż każdy z nich ma zarówno zalety, jak i wady. Tworzy się hybrydowe terapeutyki, a więc będące połączeniem leku, białka, polimeru, liposomów oraz przeciwciał w wielu kombinacjach (38).

Mechanizm działania antybiotyków antracyklinowych

Wymieniane antybiotyki przeciwnowotworowe są produktami grzybów rodzaju *Streptomyces*. Pierwszym wyizolowanym antybiotykiem była aktynomycyna A (26), a następnie daunomycyna ze szczepu *Streptomyces peucetius* (19), która okazała się skutecznym le-

^{*}) Praca finansowana w ramach grantu MNiSzW nr 5013002310022.

kiem stosowanym u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną i ostrą białaczką mieloidalną (19). Krótko później wyizolowana została doksorubicyna, która okazała się skuteczna w leczeniu wielu typów nowotworów występujących ludzi (19) i zwierząt (36, 48). Zarówno daunorubicyna, jak i doksorubicyna zaliczane są do antracyklin I generacji. Cechuje je taki sam mechanizm działania: wiążą się z DNA, powodując rozwinięcie nici tego kwasu. Wiązanie to uniemożliwia replikację DNA i hamuje polimerazy DNA i RNA. Dochodzi do rozpadu DNA albo przy udziale topozomerazy II, albo w wyniku powstawania wolnych rodników (26). Nie jest to jednak jedyny mechanizm działania omawianych leków. Antracykliny biorą również udział w peroksydacji lipidów, co prowadzi do zmian w strukturze błony komórkowej. Leki te mają zdolność hamowania proliferacji komórek nowotworowych oraz indukują apoptozę. Indukcja ta może zachodzić przez aktywację kinazy białkowej p38 aktywowanej mitogenami (25), na drodze regulacji drogi sygnałowej PI3K czy z udziałem receptorów śmierci poprzez ligand Fas (47, 53). Leki te mogą również indukować apoptozę poprzez uwalnianie z mitochondriów cytochromu c (6). Udowodniono, iż antracykliny uruchamiają hydrolizę sfingomieliny i tworzenie ceramidu, co nie wymaga kontroli ze strony białka p53, a prowadzi do śmierci komórki. Bertheau i wsp. udowadniają, iż inaktywacja białka p53 poprawia odpowiedź na stosowaną chemioterapię u pacjentów z zaawansowanym rakiem piersi. Co ciekawe, mechanizm kardiotoxycznego działania antracyklin jest inny niż ten, który odpowiada za ich aktywność przeciwnowotworową (47). Działanie kardiotoxyczne jest powodowane przez: zwiększoną peroksydację lipidów (23), enzymatyczną aktywację mitochondrialnych kinaz kreatynowych (50), zaburzenia gospodarki wapniowej (39) i hamowanie ekspresji genów (1, 15).

Zalety systemów dostarczania leków

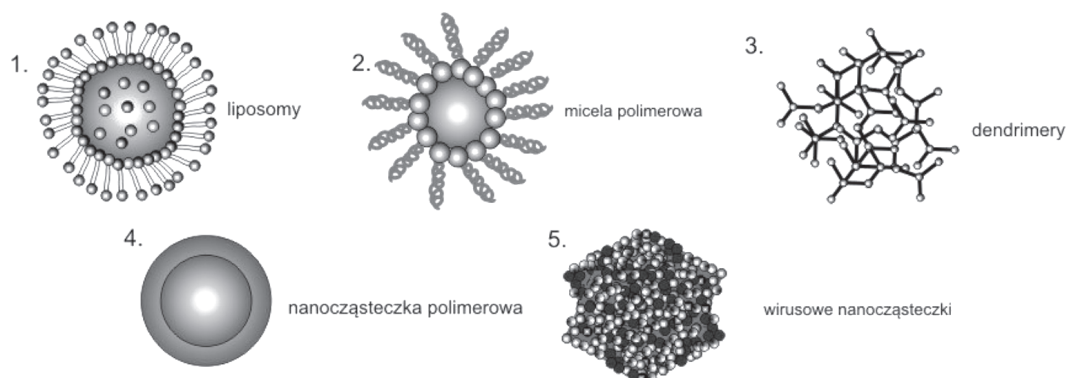
Leki nowotworowe cechuje mały rozmiar cząsteczek, a więc dyfundują one przez śródbłonek naczyń zarówno do tkanek nowotworowych, jak i zdrowych (49). Większe natomiast cząstki, jakimi są koniugaty

nośnik–lek nie przenikają przez śródbłonek tkanek zdrowych, a z krążenia dostają się jedynie do tkanek guza nowotworowego. Dzieje się tak dlatego, iż guzy nowotworowe cechuje zjawisko zwiększonej przepuszczalności naczyniowej (EPR, enhanced vascular permeability and retention). Nieszczelna sieć naczyń krwionośnych w tkance nowotworowej jest wynikiem upośledzonej angiogenezy. Średnica szczelin w naczyniach włosowatych w tkance nowotworowej wynosi od 100 do 800 nm. W tkankach zdrowych wynosi ona jedynie od około 2 do 6 nm. Leki wraz z nośnikami nie są w stanie przenikać przez śródbłonek naczyń w zdrowych tkankach i dyfundują jedynie do guza nowotworowego (38). Ponadto gromadzą się w nim w wyniku upośledzonego drenażu limfatycznego cechującego tkankę nowotworową (18, 24, 38). Większa masa cząsteczkowa makrocząsteczek ma również wpływ na wydłużenie biologicznego okresu półtrwania w organizmie (z powodu obniżenia ich klirensu nerkowego) (32, 38).

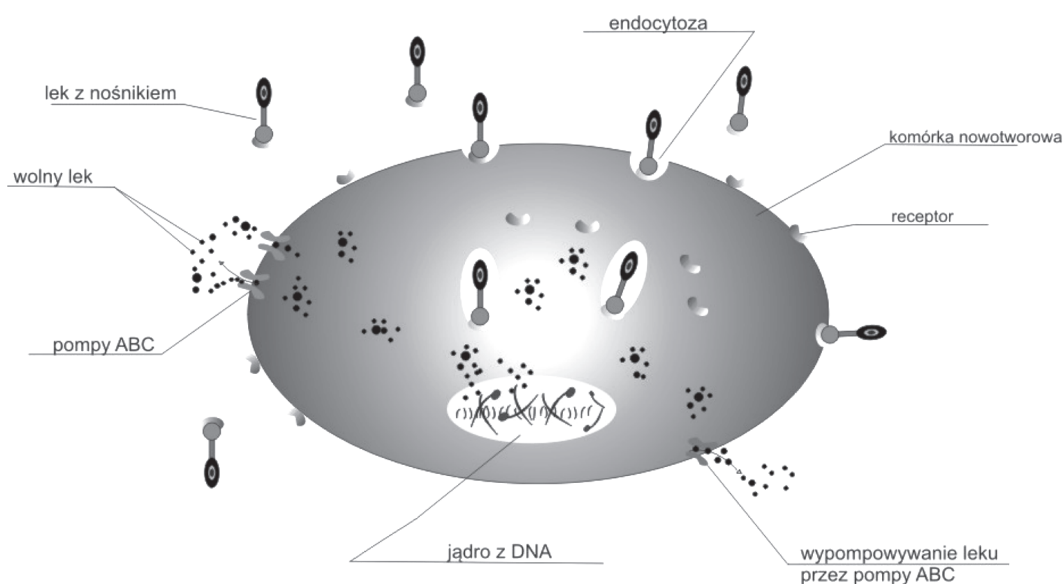
Obecnie wiadomo, że oporność komórek nowotworowych na leki cytostatyczne jest procesem złożonym, a jej najważniejszym mechanizmem jest zjawisko oporności wielolekowej (MDR multidrug resistance), związanej z ekspresją białek błonowych z rodziny ABC (ATP binding cassette), które w sposób aktywny wypompowują leki na zewnątrz komórki. Najlepiej poznana pompa błonową biorącą udział w oporności wielolekowej jest glikoproteina P (PGP, P-glycoprotein), choć z klinicznego punktu widzenia równie ważne są: białko oporności wielolekowej typu 1 (MRP1, multidrug resistance protein 1), białko oporności wielolekowej typu 3 (MRP3, multidrug resistance protein 3) czy białko oporności raka sutka (BCRP, breast cancer resistance protein) (13, 30, 47). Zaletą leków transportowanych za pomocą nośników jest „omijanie” zjawiska oporności wielolekowej. Leki po połączeniu z nanocząstką są bowiem transportowane drogą endocytozy, a to powoduje ich większą kumulację wewnątrz komórki (5). Nanocząstki mogą być wykonane z różnych materiałów, takich jak: polimery (nanocząstki polimerowe, np. micela polimerowa), lipidów (liposomy), wirusów (nanocząstki wirusowe) czy nawet związków metaloorganicznych (nanorurki) (5).

Liposomy

Najbardziej powszechnym nośnikiem antracyklin są liposomy (2, 28, 40, 41, 42). Podstawową jednostką liposomów są amfipatyczne fosfolipidy, tworzące pęcherzyki liposomowe, w których zamknięty jest lek (28). Pierwsza generacja liposomów była zbyt szybko



Ryc. 1. Schemat systemów dostarczania leków (DDS, drug delivery system) (wg 5 – zmodyfikowano)



Ryc. 2. Schemat działania leku skoniugowanego i nieskoniugowanego na komórkę nowotworową (wg 5 – zmodyfikowano)

eliminowana z krążenia przez komórki układu siateczkowo-śródbłonkowego (38). Ulepszenia polegały więc na wprowadzeniu do dwuwarstwy lipidowej fosfatydyloinozytolu (ester kwasu fosfatydowego) albo gangliozydu GM1 (sjalozyloglikozylosfingolipid) (11, 52). Bardzo dobre wyniki dało użycie PEG (polyethylene glycol) – hydrofilowego glikolu polietylenowego, gdyż pozwoliło otrzymać molekuly o znacznie dłuższym okresie półtrwania (33, 38). PEG użyto do opłaszczania liposomów, które nazwano niewidzialnymi (stealth liposomes), ponieważ nie są one rozpoznawane przez układ siateczkowo-śródbłonkowy (38). Ułożenie przestrzenne głównych grup PEG stanowi barierę ochronną dla liposomów (28). Liposomy z PEG utrzymują się zdecydowanie dłużej w krążeniu niż klasyczne liposomy, co skutkuje efektywniejszym ich docieraniem do miejsc słabo/źle ukrwionych, takich, jak guzy nowotworowe (51). Liposomy te zostają dłużej w guzach nowotworowych niż liposomy pierwszej generacji, czyli nieopłaszczane PEG. Liposomy z lekiem akumulują się w tkance nowotworowej, ale nie stwierdza się ich obecności w tkankach zdrowych (14). Badania z udziałem liposomalnej doksorubicyny dowodzą, iż cechuje się ona mniejszym działaniem kardiotoxycznym niż wolna doksorubicyna (43). W przypadku zastosowania liposomalnej doksorubicyny odnotowano również mniejszy procent innych działań niepożądanych (łysienie, nudności) (11). Na polskim rynku są już dostępne preparaty zawierające liposomalną doksorubicynę. Stosowane są one w terapii raka piersi ze skłonnością do przerzutowania oraz mięsaków Kaposiego u chorych na AIDS (33). Kolejnym udoskonaleniem liposomów jest przyłączanie cząsteczki, która ma za zadanie rozpoznawać komórki docelowe. Gabizon i wsp. (12) opisali liposomy zawierające zarówno PEG, jak i kwas foliowy, które dostarczają lek do komórek nowotworowych wykazujących eks-

presję białka wiążącego foliany. Nową generacją liposomów są immunoliposomy. Jest to kompleks swoistych przeciwciał monoklonalnych lub fragmentów Fab z liposomowymi antracyklinami. Jednym z celów dla immunoliposomów jest HER2 – (human epidermal growth factor receptor 2) – białko receptorowe odpowiadające za proliferację komórek nowotworowych. Badania wskazują, iż liposomalna doksorubicyna antyHER2 wybiórczo wiąże jedynie komórki wykazujące ekspresję HER2 (8).

Micelle

Micelle to kuliste cząstki utworzone z kilkudziesięciu do kilkuset cząsteczek amfifilowych (27, 38). Region hydrofobowy miceli jest swoistym „zbiornikiem” dla hydrofobowych leków, zaś osłona hydrofilowa sprawia, iż można te cząstki podawać drogą dożylną. Wśród zalet miceli wyróżniamy: stabilność (28), małe rozmiary (pomiędzy 10 a 100 nm), łatwość umieszczenia w nich leku, zdolność do absorpcji na określonej powierzchni oraz zdolność do usuwania przez makrofagi (27). Pierwszym lekiem przeciwnowotworowym, jaki próbowano podać z wykorzystaniem miceli, był paklitaksel. Wykazano, iż ten sposób podawania paklitakselu pozwala na stosowanie większych dawek leku bez zwiększania jego toksyczności (29). Obecnie trwają intensywne badania nad łączeniem innych leków z micelami. Wykazano, że micelle zawierające doksorubicynę i epirubicynę również wykazywały aktywność w warunkach *in vivo* (3). Obiecujące wydają się również wyniki badań dotyczących miceli zbudowanych z kopolimerów PEG i PGA, zawierających związaną doksorubicynę (NK911) (34).

Dendrymery

Dendrymery to nanocząstki szeroko badane w ostatnich latach. Są to syntetyczne polimerowe cząsteczki zbudowane z wielu silnie rozgałęzionych monomerów, które rozchodzą się promieniście z rdzenia (5, 31). Dendrymery posiadają wiele zalet, m.in.: monodispersyjne rozmiary, zdolność do modyfikacji powierzchni czy rozpuszczalność w wodzie. Właściwości te powodują, iż dendrymery mogą być używane do transportu wielu leków. Łatwość modyfikacji powierzchni dendrymerów pozwala na jednoczesne sprzężenie z kilkoma cząsteczkami leku, dając wielofunkcyjny system ich podawania (5).

Inne polimerowe nanocząstki

Polimery, takie jak heparyna, chitozan czy albumina mogą służyć do transportu DNA, oligonukleotydów, białek i leków (5). Tego typu nanocząstki mają wiele zalet: są bardzo stabilne, mogą transportować różne rodzaje leków, zarówno hydrofobowe, jak i hydrofilowe, łatwiejsza jest także procedura ich wytwarzania (24). Do oligomerowych nośników leków przeciwnowotworowych można zaliczyć koniugaty antybiotyków antracyklinowych z łańcuchami peptydowymi. Takim przykładem jest L-377,202, czyli koniugat doksorubicyny ze specyficznym dla nowotworu gruczołu krokowego N-glutarylo[4-hydroksypropylo]-Ala-Ser-cykloheksaglicylo-Glu-Ser-Leu, ulegającym aktywacji przez PSA (prostate specific antygen) (7, 32, 47). Kolejnym przykładem użycia polimerów może być zastosowanie długołańcuchowych glikozaminoglikanów, np. jako nośnika dla doksorubicyny użyto DS 435, czyli siarczanu dermatynu 435, który tworzy stabilną otoczkę dla leku. Również heparyna znalazła zastosowanie jako jeden ze składników nośnika dla doksorubicyny, wchodząc w skład liposomów. Dzięki neutralizacji dodatnich ładunków powierzchni lipidowej spowodowała ona stabilizację liposomów (20, 38).

Innym przykładem nośników są polimery, które bazują na HPMA (N-(2-hydroksypropylo) metakrylamid). Przykładem jest PK2 – koniugat złożony z doksorubicyny połączonej tetrapeptydowym mostkiem z N-(2-hydroksypropylo)metakrylamidem, który posiada na jednym końcu resztę galaktozaminy (20, 22, 38). Wyniki I fazy badań klinicznych u pacjentów z pierwotnym lub przerzutującym rakiem wątroby wykazały dużo lepszą akumulację tego koniugatu w komórkach wątroby niż „wolnej” doksorubicyny. Co więcej, lek ten charakteryzuje się mniejszą toksycznością dla zdrowych komórek (38, 44). W leczeniu przerzutującego raka piersi stosowany jest od niedawna paklitaxel, którego nośnikiem jest albumina surowicza (16). Preparat ten jest obecnie poddawany badaniom klinicznym w leczeniu innych nowotworów, na przykład niedrobnokomórkowego raka płuc (17).

Nanocząstki wirusowe

Jako nośniki leków znalazło zastosowanie także wiele wirusów (w tym parwovirus psi) i bakteriofagów (45). Trwają badania *in vivo* nad skutecznością transportu przez wirusy kilku cząstek jednocześnie (5). Wiadomo już, iż parwovirus psi ma naturalne powinowactwo do receptorów transferyny, których ekspresją charakteryzują się komórki nowotworowe (45).

Perspektywy na przyszłość

Pomimo iż antracykliny są stosowane w terapii przeciwnowotworowej od prawie czterdziestu lat (47), zainteresowanie nimi naukowców nie słabnie. Są one szeroko stosowane w leczeniu ludzi i zwierząt, również w terapii kombinowanej z innymi lekami prze-

ciwnowotworowymi. Niestety, działanie kardiotoksyczne tych leków stanowi obecnie główny element ograniczający ich stosowanie. Drugim słabym punktem terapii z użyciem antracyklin jest zjawisko oporności wielolekowej i wypompowywanie tych leków przez pompy błonowe, co czyni leczenie nieskutecznym. Odpowiedzią naukowców na te problemy są właśnie systemy dostarczania leków DDS. Ich zastosowanie zwiększy efektywność zabijania komórek nowotworowych przy ograniczeniu toksyczności dla tkanek zdrowych. Podając lek z nośnikiem możliwe będzie także „ominięcie” zjawiska oporności wielolekowej. Wraz z rozwojem badań nowoczesne systemy dostarczania leków będą mieć ogromny wpływ na postęp terapii przeciwnowotworowych zarówno u ludzi, jak i zwierząt.

Piśmiennictwo

1. Arai M., Tomaru K., Takizawa T., Sekiguchi K., Yokoyama T., Suzuki T., Nagai R.: Sarcoplasmic reticulum genes are selectively down-regulated in cardiomyopathy produced by doxorubicin in rabbits. *J. Mol. Cell Cardiol.* 1998, 30, 243-254.
2. Bangham A. D.: Lipid bilayers and biomembranes. *Annu. Rev. Biochem.* 1972, 41, 753-776.
3. Batrakova E. V., Dorodnych T. Y., Klinskii E. Y., Kliushnenkova E. N., Shemchukova O. B., Goncharova O. N., Arjakov S. A., Alakhov V. Y., Kabanov A. V.: Anthracycline antibiotics non-covalently incorporated into the block copolymer micelles: in vivo evaluation of anti-cancer activity. *Br. J. Cancer* 1996, 74, 1545-1552.
4. Bertheau P., Plassa F., Espie M., Turpin E., de Roquancourt A., Marty M., Lerebours F., Beuzard Y., Janin A., de The H.: Effect of mutated TP53 on response of advanced breast cancers to high-dose chemotherapy. *Lancet* 2002, 360, 852-854.
5. Cho K., Wang Xu, Nie Sh, Chen Z., Shin D. M.: Therapeutic Nanoparticles for Drug Delivery in Cancer. *Clin. Cancer Res.* 2008, 14, 1310-1316.
6. Clementi M. E., Giardina B., Di Stasio E., Mordente A., Misiti F.: Doxorubicin-derived metabolites induce release of cytochrome C and inhibition of respiration on cardiac isolated mitochondria. *Anticancer Res.* 2003, 23, 2445-2450.
7. Denmeade S. R., Nagy A., Gao J., Lilja H., Schally A. V., Isaacs J. T.: Enzymatic activation of a doxorubicin-peptide prodrug by prostate-specific antigen. *Cancer Res.* 1998, 58, 2537-2540.
8. Drummond D. C., Meyer O., Hong K., Kirpotin D. B., Papahadjopoulos D.: Optimizing liposomes for delivery of chemotherapeutic agents to solid tumors. *Pharmacol. Rev.* 1999, 51, 691-743.
9. Duncan R.: The dawning era of polymer therapeutics. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2003, 2, 347-360.
10. Duncan R., Vicent M. J., Greco F., Nicholson R. I.: Polymer-drug conjugates: towards a novel approach for the treatment of endocrine-related cancer. *Endocr. Relat. Cancer* 2005, 12, 189-199.
11. Gabizon A., Papahadjopoulos D.: Liposome formulations with prolonged circulation time in blood and enhanced uptake by tumors. *Proc. natl. Acad. Sci. USA* 1988, 85, 6949-6953.
12. Gabizon A., Shmeeda H., Horowitz A. T., Zalipsky S.: Tumor cell targeting of liposome-entrapped drugs with phospholipid-anchored folic acid-PEG conjugates. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2004, 56, 1177-1192.
13. Gariboldi M. B., Ravizza R., Riganti L., Meschini S., Calcabrini A., Marra M., Arancia G., Dolfini E., Monti E.: Molecular determinants of intrinsic resistance to doxorubicin in human cancer cell lines. *Int. J. Oncol.* 2003, 22, 1057-1064.
14. Gennes P. G.: A second type of phase separation in polymer solutions. *C.R. Acad. Sci.* 1991, 313-II, 1117-1122.
15. Gniazdowski M., Denny W. A., Nelson S. M., Czyz M.: Transcription factors as targets for DNA-interacting drugs. *Curr. Med. Chem.* 2003, 10, 909-924.
16. Gradishar W. J., Tjulandin S., Davidson N.: Phase III trial of nanoparticle albumin-bound paclitaxel compared with polyethylated castor oil-based paclitaxel in women with breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2005, 23, 7794-7803.
17. Green M. R., Manikhas G. M., Orlov S.: Abraxane, a novel Cremophor-free, albumin-bound particle form of paclitaxel for the treatment of advanced non-small-cell lung cancer. *Ann. Oncol.* 2006, 17, 1263-1268.

18. *Haag R., Kratz F.*: Polymer therapeutics: concepts and applications. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2006, 45, 1198-1215.
19. *Hale J. P., Lewis I. J.*: Anthracyclines: cardiotoxicity and its prevention. *Arch. Dis. Childhood* 1994, 71, 457-462.
20. *Han H. D., Lee A., Song C. K., Hwang T., Seong H., Lee C. O., Shin B. C.*: In vivo distribution and antitumor activity of heparin-stabilized doxorubicin-loaded liposomes. *Int. J. Pharm.* 2006, 313, 181-188.
21. *Herman E. H., Rahman A., Ferrans A. V., Vick J. A., Schein P. S.*: Prevention of Chronic Doxorubicin Cardiotoxicity in Beagles by Liposomal Encapsulation. *Cancer Res.* 1983, 43, 5427-5432.
22. *Hovorka O., Etrych T., Subr V., Strohalm J., Ulbrich K., Rihova B.*: HEMA based macromolecular therapeutics: internalization, intracellular pathway and cell death depend on the character of covalent bond between the drug and the peptidic spacer and also on spacer composition. *J. Drug Target.* 2006, 14, 391-403.
23. *Iliskovic N., Singal P. K.*: Lipid lowering: an important factor in preventing adriamycin-induced heart failure. *Am. J. Pathol.* 1997, 150, 727-734.
24. *Jang S. H., Wienjes M. G., Lu D., Au J. L.*: Drug delivery and transport to solid tumors. *Pharm. Res.* 2003, 20, 1337-1350.
25. *Kang Y. J., Zhou Z. X., Wang G. W., Buridi A., Klein J. B.*: Suppression by metallothionein of doxorubicin-induced cardiomyocyte apoptosis through inhibition of p38 mitogen-activated protein kinases. *J. Biol. Chem.* 2000, 275, 13690-13698.
26. *Kania B. F.*: Praktyczna chemioterapia weterynaryjna. MEDYK sp. z o.o. Warszawa 2005, wyd. II poprawione, 401-403.
27. *Kataoka K., Harada A.*: Block copolymer micelles for drug delivery: design, characterization and biological significance. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2001, 47, 113-131.
28. *Kik K., Lwow F., Szmigiero L.*: Polimerowe i oligomerowe nośniki doksorubicyny. *Polymers in Medicine* 2007, 37, 1-25.
29. *Kim T. Y., Kim D. W., Chung J. Y.*: Phase I and pharmacokinetic study of Genexol-PM, a cremophor-free, polymeric micelle-formulated paclitaxel, in patients with advanced malignancies. *Clin. Cancer Res.* 2004, 10, 3708-3716.
30. *Król M., Pawłowski K. M., Majchrzak K., Szyszko K., Motyl T.*: Why chemotherapy can fail? Review. *Pol. J. Vet. Sci.* 2010, 13, 399-406.
31. *Lee C. C., MacKay J. A.*: Designing dendrimers for biological applications. *Nature Biotechnology* 2005, 23, 1517-1526.
32. *Maeda H., Wu J., Sawa T., Matsumura Y., Hori K.*: Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review. *J. Control Release* 2000, 65, 271-284.
33. *Markman M.*: Pegylated liposomal doxorubicin in the treatment of cancers of the breast and ovary. *Expert Opin. Pharmacother.* 2006, 7, 1469-1474.
34. *Matsumura Y., Hamaguchi T., Ura T., Muro K., Yamada Y., Shimada Y., Shirao K., Okusaka T., Ueno H., Ikeda M., Watanabe N.*: Phase I clinical trial and pharmacokinetic evaluation of NK911, a micelle encapsulated, doxorubicin. *Br. J. Cancer* 2004, 91, 1775-1781.
35. *Monneret C.*: Recent developments in the field of antitumor anthracyclines. *Eur. J. Med. Chem.* 2001, 36, 483-493.
36. *Morris J., Dobson J.*: Onkologia małych zwierząt. SIMA WLW Warszawa 2003, 50-276.
37. *Nabholtz J. M., Falkson C., Campos D., Szanto J., Martin M., Chan S., Pienkowski T., Zaluski J., Pinter T., Krzakowski M., Vorobiof D., Leonard R., Kennedy I., Azli N., Murawsky M., Riva A., Pouillart P.*: TAX 306 Study Group. Docetaxel and doxorubicin compared with doxorubicin and cyclophosphamide as first-line chemotherapy for metastatic breast cancer: results of a randomized, multicenter, phase III trial. *J. Clin. Oncol.* 2003, 21, 968-975.
38. *Nevozhay D., Kańska U., Budzyńska R., Boratyński J.*: Współczesny stan badań nad koniugatami i innymi systemami dostarczania leków w leczeniu schorzeń nowotworowych i innych jednostek chorobowych. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2007, 61, 350-360.
39. *Olson R. D., Li X., Palade P., Shadle S. E., Mushlin P. S., Gambliel H. A., Fill M., Boucek R. J. Jr, Cusack B. J.*: Sarcoplasmic reticulum calcium release is stimulated and inhibited by daunorubicin and daunorubicinol. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2000, 169, 168-176.
40. *Penault-Llorca F., Cayre A., Bouchet Mishellany F., Amat S., Feillel V., Le Bouedec G., Ferriere J. P., De Latour M., Chollet P.*: Induction chemotherapy for breast carcinoma: predictive markers and relation with outcome. *Int. J. Oncol.* 2003, 22, 1319-1325.
41. *Rivera E.*: Current status of liposomal anthracycline therapy in metastatic breast cancer. *Clin. Breast Cancer* 2003, 4, 76-83.
42. *Rosenthal E., Poizot-Martin L., Saint-Marc T., Spano J. P., Cacoub P.*: GroupDNXS. Phase IV study of liposomal daunorubicin (DaunoXome) in AIDS-related Kaposi sarcoma. *Am. Clin. Oncol.* 2002, 25, 57-59.
43. *Safra T., Muggia F., Jeffers S., Tsao-Wei D. D., Groshen S., Lyass O., Henderson R., Berry G., Gabizon A.*: Pegylated liposomal doxorubicin (Doxil): reduced clinical cardiotoxicity in patients reaching or exceeding cumulative doses of 500 mg/m². *Ann. Oncol.* 2000, 11, 1029-1033.
44. *Seymour L. W., Ferry D. R., Anderson D., Hesslewood S., Julypan P. J., Poyner R., Doran J., Young A. M., Burtles S., Kerr D. J.*: Cancer Research Campaign Phase I/II Clinical Trials committee. Hepatic drug targeting: phase I evaluation of polymer-bound doxorubicin. *J. Clin. Oncol.* 2002, 20, 1668-1676.
45. *Singh P., Destito G., Schneemann A., Manchester M.*: Canine parvovirus-like particles, a novel nanomaterial for tumor targeting. *J. Nanobiotechnol.* 2006, 13, 4:2.
46. *Steinherz L. J., Steinherz P. G., Tan C. T., Heller G., Murphy M. L.*: Cardiac toxicity 4 to 20 years after completing anthracycline therapy. *JAMA* 1991, 266, 1672-1677.
47. *Szulawska A., Czyż M.*: Molekularne mechanizmy działania antrycyklin. *Postepy Hig. Med. Dośw.* 2006, 60, 78-100.
48. *Szyszko K., Pawłowski K. M., Motyl T., Król M.*: Chemoresistance in cancer: not only a human problem. *Med. Weter.* 2011, 67, 453-457.
49. *Takakura Y., Hashida M.*: Macromolecular carrier systems for targeted drug delivery: pharmacokinetic considerations on biodistribution. *Pharm. Res.* 1996, 13, 820-831.
50. *Tokarska-Schlattner M., Wallimann T., Schlattner U.*: Multiple interference of anthracyclines with mitochondrial creatine kinases: preferential damage of the cardiac isoenzyme and its implications for drug cardiotoxicity. *Mol. Pharmacol.* 2002, 61, 516-523.
51. *Umalkar D. G., Rajesh K. S., Bangale G. S., Rathinaraj B. S., Shinde G. V., Panicker P. S.*: Applications of liposomes in medicine – a review. *Pharm. Sci. Monit.* 2011, 2, 24-39.
52. *Woodle M. C., Lasic D. D.*: Sterically stabilized vesicles. *Biochim. Biophys. Acta* 1992, 1113, 171-199.
53. *Yamaoka M., Yamaguchi S., Suzuki T., Okuyama M., Nitobe J., Nakamura N., Mitsui Y., Tomoike H.*: Apoptosis in rat cardiac myocytes induced by Fas ligand: priming for Fas-mediated apoptosis with doxorubicin. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2000, 32, 881-889.
54. *Zucchi R., Danesi R.*: Cardiac toxicity of antineoplastic anthracyclines. *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents* 2003, 3, 151-171.

Adres autora: dr Magdalena Król, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa; e-mail: magdalena_krol@sggw.pl