



BIULETYN  
Wydziału Farmaceutycznego  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Biul. Wydz. Farm. WUM, 2012, 1, 1 - 8  
<http://biuletynfarmacji.wum.edu.pl/>

## STRATEGIE WALKI ZE ZJAWISKIEM OPORNOŚCI WIELOLEKOWEJ NOWOTWORÓW

Magdalena Bamburowicz-Klimkowska\*, Mirosław M. Szutowski

Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny  
Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

\* autorka korespondująca: tel. +22 5720760, e-mail: [mjbamburowicz@wum.edu.pl](mailto:mjbamburowicz@wum.edu.pl)

Otrzymany 6.12.2011, zaakceptowany 10.01.2012, zamieszczony 14.03.2012

### STRESZCZENIE

Zjawisko oporności wielolekowej (MDR) jest główną przeszkodą w osiągnięciu sukcesu w chemioterapii nowotworów. Znaczący postęp w zrozumieniu MDR nastąpił po identyfikacji glikoproteiny P i innych transporterów, których nadekspresję zauważono w niektórych typach komórek nowotworowych. Stopniowo zaczęto zjawisko MDR wiązać także z innymi mechanizmami, np. z hamowaniem apoptozy komórek nowotworowych. Opisano kilka strategii stosowanych w celu uniknięcia MDR. Jednak ich sukces kliniczny pozostaje ograniczony, głównie ze względu na kwestie dotyczące braku skuteczności i/lub bezpieczeństwa. Kwestie te mogą być rozwiązane przez zastosowanie nanotechnologii. Nanocząstki mają potencjał do poprawy indeksu terapeutycznego obecnie dostępnych leków poprzez zwiększenie skuteczności leku, zmniejszenie toksyczności oraz wpływ na osiągnięcie stanu stacjonarnego stężenia terapeutycznego leków przez dłuższy okres. Nanocząstki mogą także poprawić rozpuszczalność i stabilność leków.

**SŁOWA KLUCZOWE:** transportery ABC, glikoproteina P, oporność wielolekowa, nanocząstki

### ABSTRACT

#### STRATEGIES TO COMBAT MULTIDRUG RESISTANCE OF CANCER

Multidrug resistance (MDR) is a major impediment to the success of cancer chemotherapy. Significant progress in the understanding of MDR came with the identification of MDR P-glycoprotein and other transporters whose overexpression was observed in some types of cancer cells. In addition, the MDR phenomenon has also become associated with other mechanisms, such as inhibition of apoptosis of cancer cells. Several strategies of combating MDR are described here. However, their clinical success has been limited, largely due to efficacy and/or safety issues. These issues can be resolved by the use of nanotechnology. Nanoparticles have the potential to improve the therapeutic index of currently available drugs by increasing drug efficacy, reducing their toxicity, and helping to achieve a therapeutically relevant steady-state level of the drug over extended periods of time. Nanoparticles may also improve the solubility and stability of the drug.

**KEYWORDS:** ATP-binding cassette [ABC] transporters, P - glycoprotein, multidrug resistance, nanoparticles

Określenie mechanizmów powstawania oporności wielolekowej w przypadku nowotworów jest istotne przy opracowywaniu nowych leków, które mogą przeciwdziałać zjawisku MDR. Problem kliniczny MDR można podzielić na dwa główne typy: jeden - nabyty w trakcie leczenia, drugi - istniejący w momencie stawiania diagnozy. Ważne jest, aby uświadomić sobie, że istnieje wiele mechanizmów, które mogą przyczynić się do rozwoju MDR. Historycznie, pierwszy znaczący postęp w zrozumieniu zjawiska MDR miał miejsce w wyniku identyfikacji transportera błonowego glikoproteiny P, a następnie innych transporterów wiążących ATP (ABC), które mogą katalizować wypływ wielu strukturalnie niepowiązanych leków z komórek nowotworowo zmienionych [1]. Jednak, badania kliniczne wykazały, że zjawisko oporności wielolekowej może być niezależne od transporterów, co sugeruje udział innych mechanizmów w jego rozwoju. Jednym z takich mechanizmów jest zmniejszona aktywność komórkowej topoizomazy II, zwana „nieotypowym MDR” (*atypical MDR*) i odnosząca się do strukturalnie zróżnicowanej grupy leków będących modulatorami aktywności topoizomazy takich jak dokсорubicyna i etopozyd [2]. Niestety nie wyjaśnia to wszystkich powodów występowania MDR. Dlatego oporność na induk-

cję apoptozy została uznana za znacznie bardziej rozpowszechniony rodzaj oporności wielolekowej, któremu ulegają niektóre leki przeciwnowotworowe oraz środki cytotoksyczne [3].

#### Środowisko guza a MDR

Aby zrozumieć fizjologiczne mechanizmy MDR, należy zwrócić uwagę na mikrośrodowisko guza i zachodzące tam procesy, które przyczyniają się do rozwoju nowotworu. Procesy te to głównie niedotlenienie oraz zmiany w regulacji/ekspresji onkogenów, supresorów guza i czynników apoptozy [4]. Odpowiedź komórkowa na różne procesy i działanie chemioterapeutyków determinuje czy komórki pozostają w fazie spoczynku (G0), czy zaangażują się w apoptozę, wreszcie czy rozwiną MDR [5]. W przeciwieństwie do tkanek zdrowych, struktura guza nie wykazuje w budowie cech wysoko skompartmentowanych regionów. Guzy są często przedstawiane jako struktura „rdzeń-powłoka”, z martwiczym rdzeniem charakteryzującym się niedotlenieniem i proliferującymi komórkami zewnętrznej powłoki. Jednakże nowotwory są bardzo różnorodne, a anatomia nowotworu bardziej przypomina chaotyczny układ niż rzeczywistą strukturę rdzeń-powłoka [6]. Ze-

wewnętrzne regiony guzów wydają się być wysoce unaczynione, ale te naczynia krwionośne są niezorganizowane i nieciągłe, co warunkuje wysoką przepuszczalność i nieszczelność - zjawiska te są podstawą biernego przenikania związków (ang. *passive target delivery*) oraz zwiększonej przenikalności i retencji (EPR, ang. *enhanced permeability and retention*) [6,7]. Ze względu na ograniczenia dyfuzji tlenu, komórki nowotworowe, które leżą dalej niż 100-150  $\mu\text{m}$  od naczyń krwionośnych wydają się być pozbawione tlenu, co prowadzi do przewlekłego niedotlenienia i nieuniknionej martwicy. Dodatkowo gdy naczynia krwionośne są zamknięte, co często ma miejsce w mikrośrodowisku guza z powodu kompresji, inwazji komórek nowotworowych, a także nieciągłości komórek nabłonkowych wyścielających naczynia, mogą tworzyć się regiony ostrego niedotlenienia [8]. W wyniku obecności z jednej strony nieszczelnych naczyń, z drugiej zaś pogorszenia drenażu limfatycznego w guzach, regiony niedotlenienia są związane z wysokim ciśnieniem płynu śródmiąższowego w porównaniu do niskiego ciśnienia płynu śródmiąższowego regionów dobrze unaczynionych [6,9]. Niedotlenione komórki nowotworowe charakteryzuje również znaczne obniżenie wewnątrzkomórkowego pH w stosunku do komórek normalnych [8,10]. To kwaśne środowisko komórkowe jest związane z aktywacją proteaz przyczyniających się do powstawania przerzutów [8]. Ponadto, niedotlenienie komórek prowadzi do uruchomienia metabolizmu beztlenowego, uzyskiwania ATP poprzez przekształcenie glukozy do kwasu mlekowego, a nie poprzez metabolizm oksydacyjny (efekt Warburga) [11].

Ze względu na ich lokalizację w obrębie guza, niedotlenione komórki są mniej skłonne do gromadzenia istotnych terapeutycznie dawek chemioterapeutyków [12]. Leki, których działanie polega na wytwarzaniu reaktywnych form tlenu (ROS), a także leki wpływające na cykl komórkowy i terapeutyki ukierunkowane na szybko dzielące się komórki są nieefektywne w przypadku komórek niedotlenionych ze względu na zmniejszoną ilość tlenu i spowolnienie progresji cyklu komórkowego [6,10,12,13]. Niedotlenienie jest również związane z opornością na radioterapię, ponieważ opiera się ona na produkcji wolnych rodników tlenowych w celu wywołania śmierci komórek [10]. Badania dotyczące niedotlenienia wykazują również, że jest ono przyczyną zwiększenia ekspresji glikoproteiny P (Pgp), jednego z głównych transporterów typu ABC zaangażowanych w rozwój zjawiska MDR [12,13].

### Mechanizmy powstawania zjawiska MDR w tkance nowotworowej

Istnieje ponad 10 transporterów typu ABC, które mogą przyczyniać się do rozwoju MDR [14]. Najbardziej charakterystyczna dla komórek opornych jest ekspresja białka glikoproteiny P (MDR1, ABCB1). Pgp jest białkiem o masie 170 kDa posiadającym 12 regionów transbłonowych i dwie cytoplazmatyczne domeny wiążące nukleotydy [1,15]. Efluks Pgp obejmuje szerokie spektrum substancji i wymaga hydrolizy dwóch cząsteczek ATP. Oprócz jej roli w rozwoju MDR, Pgp jest krytycznym składnikiem bariery krew/mózg, zapewniającą neuroprotekcję. Występuje także w wątrobie, nerkach, łożysku, i jelitach [1,16]. Ostatnie badania dotyczące powstawania MDR wskazały na nadmierną ekspresję Pgp jako główny mechanizm prowadzący do transformacji nowotworowej [5]. Ponadto, na-

dekspresja Pgp wiąże się ze złym rokowaniem w wielu typach nowotworów [16].

Do pozostałych transporterów ABC, które przyczyniają się do MDR należą m. in. białko oporności wielolekowej 1 (MRP-1, ABCG2) oraz białko oporności raka piersi (BCRP, ABCG2) [14,17,18]. Białko MRP1 występuje powszechnie w zdrowych tkankach, także w barierze krew/mózg. MRP1 jest transporterem ABC odgrywającym znaczącą rolę w rozwoju zjawiska MDR komórek nowotworowych, skorelowanym ze złym rokowaniem i posiadającym szerokie spektrum substratowe [14,17]. Chociaż kliniczne znaczenie BCRP w raku MDR nie jest dobrze scharakteryzowane, BCRP został powiązany z opornością na klasyczne chemioterapeutyki, takie jak mitoksantron. BCRP może być również zaangażowane w efluks inhibitorów kinazy tyrozynowej [14,18,19].

Oprócz 13 transporterów ABC, które są związane ze zjawiskiem MDR, badane są obecnie pozostałe transportery typu ABC. Na przykład, występowanie transportera ABCB6 zostało skorelowane z MDR w różnych liniach komórkowych. Chociaż związane z wpływem środków chemioterapeutycznych, takich jak cisplatyna i paklitaksel, białko to wydaje się mieć największe powinowactwo do porfiryn [20]. Rola transporterów ABC, takich jak Pgp, MRP-1 i BCRP, jest w MDR udokumentowana, jednak sukces kliniczny hamowania aktywności tych pomp wypływu leków pozostawia wiele do życzenia [21].

Inne mechanizmy zjawiska MDR to m. in. spadek napływu leków (co jest charakterystyczne dla niedotlenionych komórek masy nowotworu), zwiększenie aktywności enzymów naprawy DNA w komórkach nowotworowych (co powoduje, że ich eliminacja jest nieskuteczna), zwiększenie aktywności enzymów detoksykujących, takich jak cytochrom P450 (co prowadzi do szybkiego metabolizmu i inaktywacji leków przeciwnowotworowych) oraz zmiany szlaków aktywacji apoptozy (zaangażowanie antyapoptotycznych białek z rodziny Bcl-2 lub BIRC5 (ang. *survivin*) [16].

Tłumienie sygnałów prowadzących do apoptozy jest uważane za nieodłączną cechę komórek nowotworowych [22]. Cytotoksyczne leki przeciwnowotworowe bowiem indukują ścieżki sygnałowe, w których uczestniczy kinaza p38 [23,24] lub hamują ścieżkę sygnałową koordynowaną przez kinazę fosfatydylo-3-fosforanu (PI3K) i kinazę-1 (ERK1) regulowaną zewnątrzkomórkowo. Można zatem przewidzieć wystąpienie pierwotnego lub nabytego zjawiska MDR, związanego ze zwiększeniem tłumienia szlaków apoptozy w komórkach nowotworowych.

### Strategie walki ze zjawiskiem oporności wielolekowej

#### 1. Inhibitory Pgp

Kliniczne znaczenie Pgp opiera się na próbach mających na celu wyłączenie funkcji tego białka. Początkowo użyto inhibitorów Pgp „pierwszej generacji”, w tym werapamilu, chininy i cyklosporyny A, które były już zatwierdzone do innych celów medycznych. Na ogół związki te były nieskuteczne lub toksyczne w dawkach wymaganych do hamowania funkcji Pgp. Inhibitory drugiej generacji były pozbawione skutków ubocznych związanych z ich podstawową toksycznością. Na przykład, enancjomer R werapamilu i analog cyklosporyny D - PSC-833 (Valsopodar) wpływają na funkcję Pgp bez blokowania kanałów wapniowych lub efektów immunosupresyjnych cyklosporyny [25,26]. Nieste-

ty inhibitory Pgp drugiej generacji, np. PSC-833, wywołują interakcje farmakokinetyczne, ograniczające klirens i metabolizm leków chemioterapeutycznych, podnosząc tym samym ich stężenie poza akceptowalny poziom toksyczności. W celu zachowania bezpieczeństwa pacjenta konieczne było zmniejszanie dawki leku, jednak efekty takiej terapii ze względu na wystąpienie interakcji farmakokinetycznych były trudne do przewidzenia [26,27].

Inhibitory trzeciej generacji posiadają wysokie powinowactwo do transportera i nie wywołują interakcji farmakokinetycznych. Stosowanie najnowszej generacji inhibitorów, w tym laniquidaru (R101933), oc144-093 (ONT-093), zosuquidaru (LY335979), elacridaru (GF-120918) i tariquidaru (XR9576), nie wiąże się z hamowaniem aktywności cytochromu P450 3A, które jest odpowiedzialne za wiele niekorzystnych skutków farmakokinetycznych poprzedniej generacji inhibitorów [28]. Tariquidar daje dodatkowe korzyści w postaci wydłużonego hamowania aktywności glikoproteiny P, w pojedynczej dawce doustnej. Hamuje on wpływ rodaminy z komórek CD56<sup>+</sup> (biomarker komórek limfocytowych, z wysoką ekspresją Pgp) przez co najmniej 48 godzin [29]. Kilka inhibitorów późniejszej generacji działa na wiele transporterów ABC. Biricodar (VX-710) i GF-120918, na przykład, wiążą się z Pgp jak i MRP1 oraz ABCG2 [30]. Mimo, że powinowactwo do wielu transporterów leków może rozszerzyć funkcjonalność tych inhibitorów do guzów nie wykazujących dużej ekspresji Pgp z rozwiniętym MDR, zakres ich możliwych działań niepożądanych również wzrasta.

Inhibitory stosowane obecnie są dużo lepsze od tych stosowanych w przeszłości. Charakteryzują się większą specyficznością substratową, niższą toksycznością, a także posiadają lepsze profile farmakokinetyczne. Niewątpliwie jednak istnieje potrzeba poszukiwania idealnego antagonisty transportera jakim jest Pgp. Idealny środek powinien być podawany drogą bezinwazyjną, być skuteczny, nie wykazywać efektów niepożądanych, nie wchodzić w interakcje farmakokinetyczne z innymi lekami oraz efektywnie przeciwdziałać mechanizmom oporności. Bardziej realistycznie, idealny inhibitor powinien przywrócić skuteczność leczenia do poziomu obserwowanego w przypadku braku zjawiska MDR. Niemniej jednak, modulatory aktywności Pgp dają szansę na poprawę indeksu terapeutycznego leków przeciwnowotworowych [31]. Poszukiwanie inhibitorów „czwartej generacji” jest w toku. Niektóre z kandydatów są to stare leki z nowym wskazaniem, np. disulfiram, stosowany w leczeniu alkoholizmu [32] lub składniki ziołowe [33].

## 2. Przywrócenie zjawiska apoptozy

Obecnie istnieje wiele leków, które przeciwdziałają oporności komórek nowotworowych na apoptozę. Niektóre z nich są w fazie badań klinicznych [34 - 36]. Wykazano na przykład, że obatocclax, wpływając bezpośrednio hamującą na białka rodziny bcl-2, przywraca wrażliwość na kilka nowych leków przeciwnowotworowych [37]. Czynniki transkrypcyjny NF- $\kappa$ B jest odpowiedzialny za hamowanie apoptozy. Poszukiwane są inhibitory sygnalizacji NF- $\kappa$ B w celu przywrócenia aktywności apoptotycznej [38]. Rozwój inhibitorów PI3K, które indukują apoptozę poprzez oddziaływanie na jednego z członków rodziny białek Bcl2 jest obecnie ważnym celem badań [39].

Istnieją dwie strategię leczenia. Pierwsza polega na stosowaniu środków promujących apoptozę w połączeniu ze środkiem cytotoksycznym w celu przezwyciężenia mechanizmu MDR. Przy drugiej strategii używa się promotorów indukcji apoptozy w monoterapii. Obecnie większość badań klinicznych polega na potwierdzeniu skuteczności drugiej strategii. Badania kliniczne leków promujących apoptozę w połączeniu z lekami, które indukują uszkodzenia DNA lub komórkowe reakcje stresowe są jeszcze na wczesnym etapie badań [3].

## 3. Peptydy i przeciwciała hamujące aktywność glikoproteiny P

Oporność lekowa związana z Pgp może być cofnięta przez hydrofobowe peptydy, które są jej substratami o wysokim powinowactwie. Peptydy, wykazujące wysoką specyficzność do Pgp, mogą stanowić nową klasę związków potencjalnie działających jako chemosensytyzery [40]. Małe peptydy odpowiadające segmentom transbłonowym Pgp działają poprzez różne mechanizmy. Peptydowe analogi domen transbłonowych (TMDs) glikoproteiny P zakłócają prawidłowe dokowanie z centrum aktywnym, wpływając tym samym na funkcję białka docelowego. Przedstawiają to badania *in vitro* i *in vivo*, których celem było wykazanie hamowania receptorów sprzężonych z białkiem G. Małe peptydy komplementarne do segmentów transbłonowych Pgp działają specyficznie, co sugeruje, że domeny transbłonowe transporterów typu ABC mogą służyć jako szablony do konstrukcji inhibitorów [41].

Badania sugerują, że także immunizacja może być alternatywnym uzupełnieniem chemioterapii. Monoklonalne przeciwciała mysie skierowane przeciwko zewnątrzkomórkowemu epitopom Pgp okazały się hamować *in vitro* wpływ leków będących substratami tego białka [42].

## 4. Ukierunkowane hamowanie ekspresji genów MDR

Selektywne hamowanie ekspresji genów oporności w komórkach nowotworowych jest nowym podejściem w lecznictwie. Regulacja ekspresji glikoproteiny P jest niezwykle skomplikowana i jej mechanizmy mogą być różne w tkankach zdrowych w porównaniu z komórkami nowotworowymi [43]. Bartsevich i wsp. [44], korzystając z bibliotek białek kombinatorycznych, zaprojektowali represory transkrypcji, które selektywnie wiążą się z sekwencją promotora białka MDR1. Ekspresja peptydowego represora w opornych komórkach nowotworowych prowadziła do selektywnej redukcji poziomu Pgp i wyraźnego wzrostu czułości komórek nowotworowych na chemioterapeutyki. Podobnie związki będące antagonistami jądrowego receptora SXR, regulującego zarówno metabolizm leków jak i ich efluks, mogą być używane w połączeniu z lekami przeciwnowotworowymi, aby zapobiec indukcji Pgp.

Większość ostatnich prac koncentruje się na formie posttranskrypcyjnego wyciszania genów (RNAi) z wykorzystaniem krótkołańcuchowego interferującego dwuniciowego RNA (siRNA). Nić siRNA zawiera około 19-22 nukleotydów i jest ukierunkowana na mRNA, doprowadzając do jego degradacji [45]. W kilku badaniach wykazano, że podejście wykorzystujące RNAi można zastosować do zwalczania oporności wielolekowej związanej z transporterami typu ABC. Stosowanie egzogennej siRNA przeciwko ABCG2 doprowadziło do wzrostu wewnątrzkomórkowego gromadze-

nia się topotekanu i cofnęło oporność komórek na topotekan i mitoksantron [46]. Korzystanie z technologii, które pozwalają na ukierunkowaną regulację genów z zastosowaniem oligonukleotydów antysensownych i krótkołańcuchowych RNA (siRNA), przyniosło jednak niejednoznaczne rezultaty. Wystarczające hamowanie ekspresji Pgp okazało się być trudne do osiągnięcia zwłaszcza w obliczu braku bezpiecznych nośników tych „konstrukcji” do komórek nowotworowych *in vivo* [47].

### 5. Leki przeciwnowotworowe nie będące substratami transporterów typu ABC

Kilka nowych leków przeciwnowotworowych jest substratami transporterów typu ABC, w tym irynotekan (i jego metabolit SN-38), depsipeptyd, imatinib (Gleevec, Novartis) i flawopirydol. Natomiast epotilony są nowymi środkami o działaniu ukierunkowanym na mikrotubule (posiadające mechanizm działania podobny do paklitakselu), które nie są rozpoznawane przez Pgp. Zastosowanie tych związków potwierdza koncepcję, że nowe klasy leków przeciwnowotworowych, które nie oddziałują z transporterami wielolekowymi [48], mogą przynieść poprawę odpowiedzi na leczenie [21]. Dwa analogi taksanu, DJ-927 [49] i ortataxel [50], mające na celu pokonanie oporności na leki, zostały ocenione w badaniach klinicznych. W porównaniu z paklitakselem nowe analogi taksanu charakteryzuje wyższa skuteczność w odniesieniu do komórek o wysokiej ekspresji Pgp, lepsza biodostępność po podaniu doustnym oraz niższa neurotoksyczność. Również inne, nowe analogi taksanu, takie jak BMS-184476 [51] oraz RPR 109881A [52], posiadają szerokie spektrum działania zarówno na wrażliwe jak i odporne linie komórek nowotworowych.

Atrakcyjnym rozwiązaniem w chemioterapii byłoby chemiczne modyfikowanie leków przeciwnowotworowych w kierunku podatności na transport, np. przy udziale Pgp, z zachowaniem ich działania przeciwnowotworowego. Mimo, że zmiany te często wiążą się ze zmniejszeniem biodostępności biologicznej lub skuteczności, w oparciu o tę koncepcję zostały opracowane nowe leki [53]. Wewnątrzkomórkowe stężenie leku może być również podwyższone poprzez zwiększenie stopnia jego napływu do komórki. To „pozorne obejście” mechanizmu efluksu charakteryzującego Pgp można osiągnąć przez zwiększenie lipofilności związków (kontrolując dodatni ładunek i stopień lipofilności) lub poprzez zastosowanie tzw. „preparatów podstępnych” (ang. *stealth formulations*). Na przykład, zastosowanie wysoce lipofilnych analogów antracykliny, takich jak annamycyna i idarubicyna, prowadzi do uzyskania remisji w przypadkach Pgp zależnej ostrej białaczki szpikowej (AML, ang. *acute myelogenous leukemia*) z pierwotną opornością na chemioterapię [54]. Inkorporacja doksorubicyny do liposomów powlekanych polietylenoglikolem (PLD) skutkuje lepszym profilem skuteczności i bezpieczeństwa niż tradycyjna doksorubicyna [55]. Stwierdzono ponadto, że PLD przenikają barierę krew/mózg, a ich zastosowanie powodowało przezwyciężanie zjawiska MDR w przedklinicznych modelach nowotworów. Natomiast połączenie tej postaci doksorubicyny z PSC-833 prowadziło do znaczącego tłumienia wzrostu guza w modelach myszy z heteroprzeszczepem, dostarczając tym samym argumentów do rozpoczęcia I fazy badań klinicznych [56,57]. Modyfikowanie budowy leków wpływa na zdolność wiązania ich analogów do Pgp, tym

samym pozwala na ich skuteczne wejście i gromadzenie się w komórkach nowotworowych, gdzie mogą wywierać efekt terapeutyczny.

### 6. Wykorzystanie ochrony zdrowych komórek

Inna strategia selektywnej ochrony normalnych komórek oparta jest na zastosowaniu kombinacji, które zawierają leki cytotoksyczne i cytoprotekcyjne [58]. W obecności środka ochronnego, zdrowe komórki pozostają nienaruszone, natomiast komórki MDR które wypompowują środek cytoprotekcyjny ulegają działaniu leków cytotoksycznych. Na przykład nie będący substratem Pgp induktor apoptozy flawopirydol wykazuje działanie niszczące komórki o wysokiej ekspresji tej glikoproteiny po użyciu w kombinacji z inhibitorem kaspazy 3 Z-DEVD-fmk, który jest wypompowywany z komórki [21].

Niedawno zostało opracowanych kilka różnych preparatów zawierających inkorporowany lek przeciwnowotworowy będący substratem Pgp. W badaniu klinicznym II fazy oceniano paklitaksel w emulsji do wstrzykiwań (TOCOSOL) zawierającej bursztynian D- $\alpha$ -tokoferolu oraz glikol polietylenowy 1000 (TPGS) jako substancję pomocniczą. Postać ta wydaje się wykazywać działanie hamujące aktywność Pgp pozwalające na osiągnięcie wysokich stężeń leku w komórkach nowotworowych. Uzyskano obiecujące wyniki potwierdzające skuteczność TOCOSOL-u podawanego przez tydzień u pacjentów z opornym na leczenie nowotworem jajnika [59].

### 7. Wykorzystanie nadwrażliwości komórek MDR

Badania ekspresji genów wykazały, że komórki MDR mogą znacząco różnić się od swoich wrażliwych odpowiedników [60]. Być może w wyniku tych różnic komórki MDR, które są odporne krzyżowo na strukturalnie i funkcjonalnie niepowiązane leki, mogą jednocześnie wykazać paradoksalnie nadwrażliwość na niektóre związki. Komórki MDR okazały się być wrażliwe na leki wykazujące aktywność błonową, takie jak np. bloker kanału wapniowego - wera-pamil [61, 62] oraz różne związki indukujące stres komórkowy, w tym 2-deoksy-D-glukozę, tunikamycynę i 5-fluorouracyl [63]. Ostatnie obserwacje potwierdzają przypuszczenie, że Pgp może promować przeżycie komórek w mechanizmie niezależnym od efluksu. Pgp jest zdolne hamować apoptozę kaspazozależną [64] oraz jest odpowiedzialna za obniżenie poziomu ceramidów, albo przez zmniejszenie wewnętrznych zasobów sfingomieliny, albo poprzez modulację szlaku syntazy glikozyloceramidu [65]. W świetle tych ustaleń wysunięto przypuszczenie, że dalsze zmiany szlaków indukcji apoptozy w komórkach MDR mogą być odpowiedzialne za podatność tych komórek na działanie związków anty-MDR1 [61]. Natomiast komórki, w których ekspresji ulegają inne typy transporterów ABC mogą pod wpływem działania tego rodzaju związków stawać się podobnie wrażliwe. Dla przykładu, podwyższonej ekspresji białka MDR1 towarzyszy wyczerpanie wewnątrzkomórkowych zasobów ważnych związków, np. glutationu, podwyższając tym samym podatność komórki na stres oksydacyjny [62].

### 8. Zastosowanie nanotechnologii

Głównym problemem limitującym powodzenie działania wielu leków przeciwnowotworowych jest ich niezdol-

ność do selektywnego przenikania do komórek guza i tkanek docelowych. Dlatego prawie wszystkie leki przeciwnowotworowe powodują poważne efekty niepożądane w zdrowych tkankach i narządach. W chemioterapii farmakologicznie czynne stężenia leku przeciwnowotworowego w tkance nowotworowej są często osiągnięte kosztem ogromnego „zanieczyszczenia” reszty ciała. Zjawisku słabej specyficzności towarzyszy nasilona toksyczność, która stanowi istotną przeszkodę w skutecznej terapii przeciwnowotworowej.

Nanocząstki mają potencjał do poprawy indeksu terapeutycznego obecnie dostępnych leków poprzez zwiększenie skuteczności leku, zmniejszenie toksyczności oraz wpływ na osiągnięcie stanu stacjonarnego stężenia terapeutycznego leków przez dłuższy okres. Nanocząstki mogą także poprawić rozpuszczalność i stabilność leku, umożliwiając rozwój badań nad potencjalnie skutecznymi nowymi substancjami chemicznymi, które zostały wstrzymane w badaniach przedklinicznych i klinicznych z powodu nieoptymalnych właściwości farmakokinetycznych lub biochemicznych. Wreszcie, elastyczna chemicznie powierzchnia nanocząstek pozwala również na przyłączenie aktywnych ligandów pozwalających dystrybuować lek w sposób ściśle ukierunkowany.

Ostatnio poczyniono starania w projektowaniu nanocząstek o kształcie i właściwościach powierzchni, które pozwalają na zwiększenie gromadzenia się leku w tkance nowotworowej. Aby poprawić specyficzność nanocząstek, do ich powierzchni przyłącza się struktury pozwalające na szczegółowe rozpoznanie właściwości komórki docelowej w tkance nowotworowej. I tak, często do funkcjonalizacji powierzchni stosuje się kwas foliowy, gdyż wiele rodzajów komórek nowotworowych charakteryzuje wysoka ekspresja wiążącego go białka. Preparat zawierający heparynę, paklitaksel i kwas foliowy charakteryzuje wysoki wychwyty przez komórki nowotworowe. Stosuje się także modyfikowanie powierzchni liposomów za pomocą przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko antygenom powierzchni komórek nowotworowych [66].

Powlekanie polietylenoglikolem (PEG) nanocząstki w postaci kopolimeru [67] charakteryzuje długi czas przebywania w organizmie i zmniejszony wychwyty wątrobowy [68]. Wykazano także ich gromadzenie się w mózgu w większym stopniu niż w przypadku innych preparatów, w tym nie powlekanym PEG [69]. Biokompatybilne i sterycznie stabilizowane micelle (SSM) także zostały wykorzystane jako nanoosiłki dla chemioterapeutyków. SSM składające się ze związanych z glikolem polietylenowym fosfolipidów są atrakcyjnymi nośnikami do podawania leków, ponieważ są one na tyle małe (14 nm), że mogą wykorzystać zjawisko zwiększonej przenikalności i retencji *in vivo*, co powoduje wysokie stężenie leku w tkance nowotworów i obniżoną toksyczność leku dla tkanek zdrowych [70].

Nanotechnologia może również zostać z powodzeniem wykorzystana do stworzenia nowego systemu dostarczania leków, wspomagających rozwiązanie problemu ich słabej rozpuszczalności w wodzie, wspólnego dla wielu obiecujących i obecnie dostępnych leków przeciwnowotworowych, a tym samym wpłynąć na zwiększenia ich efektywności. Słaba rozpuszczalność leków przeciwnowotworowych wymaga zastosowania rozpuszczalników w celu umożliwienia wchłaniania. Niestety, dodatek rozpuszczalników może

osłabić siłę działania leków, jak również prowadzi do wzrostu toksyczności całego preparatu. W celu dostarczenia hydrofobowych leków przeciwnowotworowych i innych nierozpuszczalnych w wodzie leków do komórek nowotworowych wykorzystywane są nanocząstki na bazie krzemionki [71].

Paklitaksel jest szeroko stosowany w leczeniu wielu rodzajów guzów litych. Dostępne w handlu preparaty paklitakselu wykorzystują Cremophor z etanolem (C/E) jako solubilizator. Preparaty nanotechnologiczne oraz preparaty z zastosowaniem solubilizatora C/E wykazują istotne różnice w porównaniu do samego paklitakselu. Nanocząstki wydłużają retencję i zwiększają akumulację w narządach i tkankach. Nanotechnologiczny preparat paklitakselu wpływa na jego klirens, jak również dystrybucję w tkankach z preferencją akumulacji w wątrobie, śledzionie, jelicie cienkim i w nerkach [72].

Micelarne kopolimery blokowe o strukturze rdzeń-powłoka (ang. *core-shell*) posiadają stosunkowo dużą przestrzeń ładunkową, która może służyć przenoszeniu leków hydrofobowych. Powłoka zaś ma postać hydrofilowej korony, co sprawia, że micelle te są bardzo dobrze rozpuszczalne w wodzie, umożliwiając dostarczanie słabo rozpuszczalnej zawartości i zgromadzenie jej w obszarze guza [73].

Niewątpliwie w ostatnich dziesięcioleciach zwrócono większą uwagę na rosnące znaczenie przewyciężenia MDR w nowotworach. Nanotechnologia zaoferowała możliwość poprawy skuteczności chemioterapii poprzez stosowanie efektywnych systemów dostarczania leków o wysokim potencjale przewyciężenia zjawiska MDR, zaś powszechnie stosowane preparaty m. in. modulatory aktywności glikoproteiny P mogą zyskać lepszy profil leczenia dzięki jej zastosowaniu. Pomimo faktu, że mechanizmy pokonywania MDR za pomocą nanocząsteczek są skomplikowane i nie w pełni zrozumiałe, poprawa skuteczności przeciwnowotworowej w komórkach z rozwiniętym MDR została potwierdzona w badaniach *in vitro* i *in vivo*. Niektóre leki, stosowane w leczeniu guzów MDR, inkorporowane do nanocząstek przechodzą obecnie fazę badań klinicznych. Dlatego też przewiduje się, że obecny rozwój nanotechnologii może dostarczyć nowych strategii leczenia MDR.

#### Wykaz symboli i skrótów

ABC	Typ transportera błonowego (ang. ATP binding cassette transporters)
ABC1	Podrodzina transporterów błonowych, obecnie ABCA
ABC	Typ transportera błonowego (ang. ATP binding cassette transporters)
ABCB1	Ludzki gen oporności wielolekowej, izoforma białka związanego ze zjawiskiem oporności wielolekowej
ABCB6	Transporter typu ABC z podrodziny ABCB
ABCC1	Transporter typu ABC z podrodziny ABCC (CFTR/MRP)
ABCG2	Białko oporności raka piersi (ang. Breast cancer resistance protein), także gen je kodujący
AML	Ostra białaczka szpikowa (ang. acute myelogenous leukemia)
Bcl-2	Rodzina białek antyapoptotycznych regulująca uwalnianie cytochromu c i AIF (czynnik indukujący apoptozę) z mitochondriów
BIRC5	Rodzina białek antyapoptotycznych (ang. survivin)

BCRP	Białko oporności raka piersi (ang. Breast cancer resistance protein), kodowane przez gen ABCG2
BMS-184476	Analog taksanu, diterpenu produkowanego przez rośliny z rodziny cisowatych Taxaceae
CD56+	Linia komórkowa z antygenem różnicowania komórkowego, biomarker komórek limfatycznych, z wysoką ekspresją glikoproteiny P
DJ-927	Analog taksanu, diterpenu produkowanego przez rośliny z rodziny cisowatych Taxaceae
EPR	Zjawisko zwiększonej przenikalności i retencji (ang. enhanced permeability and retention)
ERK1	Regulowana zewnątrzkomórkowo kinaza-1
GF-120918	Elacridar, inhibitor glikoproteiny P trzeciej generacji
LY335979	Zosuquidar, inhibitor glikoproteiny P trzeciej generacji
MDR	Oporność wielolekowa (ang. multidrug resistance)
MDR1	Ludzki gen oporności wielolekowej, wg HUGO - Human Genes Mapping Organization ABCB1, także izoforma białka ABCB1 związana ze zjawiskiem oporności wielolekowej
MRP-1	Transporter typu ABC z podrodziny ABCC (CFTR/MRP), białko kodowane przez gen ABCC1
NF-κB	Czynnik transkrypcyjny odpowiedzialny za hamowanie apoptozy
PEG	Glikol polietylenowy
Pgp	Glikoproteina P
PI3K	Kinaza fosfatydylo-3-fosforanowa, enzym biorący udział w wielu procesach komórkowych, np. wzrost, proliferacja, różnicowanie, przeżycie komórki
PLD	Rodzaj liposomów powlekanych polietylenoglikolem
PSC-833	Analog cyklosporyny D, inhibitor glikoproteiny P drugiej generacji
R101933	Laniquidar, inhibitor glikoproteiny P trzeciej generacji
RNAi	Interferencja RNA (ang. RNA interference), zjawisko wyciszania albo wyłączenia ekspresji genu
ROS	Reaktywne formy tlenu (ang. Reactive oxygen species)
RPR 109881A	Analog taksanu, diterpenu produkowanego przez rośliny z rodziny cisowatych Taxaceae
siRNA	siRNA (ang. small interfering RNA), dwuniciowe cząsteczki RNA o długości ok. 20-25 par zasad, które powodują wyciszanie ekspresji genów o homologicznej sekwencji (interferencja RNA, RNAi).
SSM	Sterycznie stabilizowane micelle
SXR	Receptor jądrowy pośredniczący w metabolizmie i wydalaniu leków z komórki (ang. steroid xenobiotic receptor)
TMD	Domena transbłonowa, segmenty, które rozciągając się w poprzek błony tworzą kanały do transportu substratów (ang. transmembrane domain)
TOCOSOL	Preparat zawierający inhibitor pglg, bursztynian D-α-tokoferolu oraz glikol polietylenowy 1000 (TPGS) jako substancję pomocniczą
TPGS	Glikol polietylenowy 1000 (TPGS), substancja pomocnicza w tworzeniu postaci leków
VX-710	Biricodar, inhibitor glikoproteiny P trzeciej generacji
XR9576	Tariquidar, inhibitor glikoproteiny P trzeciej generacji
Z-DEVD-fmk	Inhibitor kaspazy 3

## Bibliografia

- Bamburowicz-Klimkowska M., Bogucka U., Szutowski M.M. „Funkcje transporterów typu ABC”, *Biuletyn Wydziału Farmaceutycznego WUM*, 2011, 3, 34-40
- Baguley B.C. „Novel strategies for overcoming multidrug resistance in cancer”, *BioDrugs*, 2002, 16, 97-103
- Baguley B.C. „Multiple drug resistance mechanisms in cancer”, *Molecular Biotechnology*, 2010, 46, 308-316
- Nelson D.A., Tan T.T., Rabson A.B., Anderson D., Degenhardt K., White E. „Hypoxia and defective apoptosis drive genomic instability and tumorigenesis”, *Genes & Development*, 2004, 18(17), 2095-2107
- Yague E., Arance A., Kubitzka L., O'Hare M., Jat P., Ogilvie C.M. „Ability to acquire drug resistance arises early during the tumorigenesis process”, *Cancer Research*, 2007, 67(3), 1130-1137
- Tredan O., Galmarini C.M., Patel K., Tannock I.F. „Drug resistance and the solid tumor microenvironment”, *Journal of the National Cancer Institute*, 2007, 99(19), 1441-1454
- Maeda H., Fang J., Inutsuka T., Kitamoto Y. „Vascular permeability enhancement in solid tumor: various factors, mechanisms involved and its implications”, *International Immunopharmacology*, 2003, 3(3), 319-328
- Harris A.L. „Hypoxia - a key regulatory factor in tumour growth”, *Nature Reviews*, 2002, 2(1), 38-47
- Cairns R., Papandreou I., Denko N. „Overcoming physiologic barriers to cancer treatment by molecularly targeting the tumor microenvironment”, *Molecular Cancer Research*, 2006, 4(2), 61-70
- Kizaka-Kondoh S., Inoue M., Harada H., Hiraoka M. „Tumor hypoxia: a target for selective cancer therapy”, *Cancer Science*, 2003, 94(12), 1021-1028
- Guppy M. „The hypoxic core: a possible answer to the cancer paradox”, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2002, 299(4), 676-680
- Comerford K.M., Wallace T.J., Karhausen J., Louis N.A., Montalto S.P., Colgan S.P. „Hypoxia-inducible factor-1-dependent regulation of the multidrug resistance (MDR1) gene”, *Cancer Research*, 2002, 62(12), 3387-3394
- Shannon A.M., Bouchier-Hayes D.J., Condon C.M., Toomey D. „Tumour hypoxia, chemotherapeutic resistance and hypoxiarelated therapies”, *Cancer Treatment Reviews*, 2003, 29(4), 297-307
- Gillet J.P., Effertth T., Remacle J. „Chemotherapy-induced resistance by ATP-binding cassette transporter genes”, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2007, 1775(2), 237-262
- Chinn L.W., Kroetz D.L. „ABCB1 pharmacogenetics: progress, pitfalls, and promise” *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2007, 81(2), 265-269
- Gottesman M.M., Fojo T., Bates S.E. „Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters”, *Nature Reviews Cancer*, 2002, 2(1), 48-58
- Kimura Y., Morita S., Matsuo M., Ueda K. „Mechanism of multidrug recognition by MDR1/ABCB1”, *Cancer Science*, 2007, 98(9), 1303-1310
- Lemos C., Jansen G., Peters G.J. „Drug transporters: recent advances concerning BCRP and tyrosine kinase inhibitors”, *British Journal of Cancer*, 2008, 98(5), 857-862
- Robey R.W., Polgar O., Deeken J., To K.W., Bates S.E. „ABCG2: determining its relevance in clinical drug resistance” *Cancer Metastasis Reviews*, 2007, 26(1), 39-57
- Paterson J.K., Shukla S., Black C.M., Tachiwada T., Garfield S., Wincovitch S. „Human ABCB6 localizes to both the outer mitochondrial membrane and the plasma membrane” *Biochemistry*, 2007, 46(33), 9443-9452
- Szakacs G., Paterson J.K., Ludwig J.A., Booth-Genthe C., Gottesman M.M. „Targeting multidrug resistance in cancer” *Nature Reviews Drug Discovery*, 2006, 5(3), 219-34
- Hanahan D., Weinberg R.A. „The hallmarks of cancer”, *Cell*, 2000, 100, 57-70

23. Sharma S.V., Gajowniczek P., Way I.P., Lee, D.Y., Jiang J., Yuza Y. „A common signaling cascade may underlie “addiction” to the Src, BCR-ABL, and EGF receptor oncogenes”, *Cancer Cell*, 2006, 10, 425-435
24. Olson J.M., Hallahan A. R. „p38 MAP kinase: A convergence point in cancer therapy”, *Trends in Molecular Medicine*, 2004, 10, 125-129
25. Holtt V., Kouba M., Dietel M., Vogt G. „Stereoisomers of calcium antagonists which differ markedly in their potencies as calcium blockers are equally effective in modulating drug transport by P-glycoprotein”, *Biochemical Pharmacology*, 1992, 43, 2601-2608
26. Baer M.R. „Phase 3 study of the multidrug resistance modulator PSC-833 in previously untreated patients 60 years of age and older with acute myeloid leukemia: Cancer and Leukemia Group B Study 9720”, *Blood*, 2002, 100, 1224-1232
27. Koltitz J.E. „Dose escalation studies of cytarabine, daunorubicin, and etoposide with and without multidrug resistance modulation with PSC-833 in untreated adults with acute myeloid leukemia younger than 60 years: final induction results of Cancer and Leukemia Group B Study 9621”, *Journal of Clinical Oncology*, 2004, 22, 4290-4301
28. Guns E.S., Denyssevyeh T., Dixon R., Bally M.B., Mayer, L. „Drug interaction studies between paclitaxel (Taxol) and OC144-093 - a new modulator of MDR in cancer chemotherapy”, *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 2002, 27, 119-126
29. Stewart A. „Phase I trial of XR9576 in healthy volunteers demonstrates modulation of P-glycoprotein in CD56<sup>+</sup> lymphocytes after oral and intravenous administration”, *Clinical Cancer Research*, 6, 2000, 4186-4191
30. Minderman H., O’Loughlin K.L., Pendyala L., Baer M.R. „VX-710 (biricodar) increases drug retention and enhances chemosensitivity in resistant cells overexpressing P-glycoprotein, multidrug resistance protein, and breast cancer resistance protein”, *Clinical Cancer Research*, 2004, 10, 1826-1834
31. Dantzig A.H., de Alwis D.P., Burgess M. „Considerations in the design and development of transport inhibitors as adjuncts to drug therapy”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2003, 55, 133-150
32. Loo T.W., Clarke D.M. „Blockage of drug resistance in vitro by disulfiram, a drug used to treat alcoholism”, *Journal of the National Cancer Institute*, 2000, 92, 898-902
33. Zhou S., Lim L.Y., Chowbay B. „Herbal modulation of P-glycoprotein”, *Drug Metabolism Reviews*, 2004, 36, 57-104
34. Foster B.A., Coffey H.A., Morin M.J., Rastinejad, F. „Pharmacological rescue of mutant p53 conformation and function”, *Science*, 1999, 286, 2507-2510
35. Sebolt-Leopold J.S. „MEK inhibitors: A therapeutic approach to targeting the Ras-MAP kinase pathway in tumors” *Current Pharmaceutical Design*, 2004, 10, 1907-1914
36. Serra V., Markman B., Scaltriti M., Eichhorn P.J., Valero V., Guzman M. „NVP-BEZ235, a dual PI3K/mTOR inhibitor, prevents PI3K signaling and inhibits the growth of cancer cells with activating PI3K mutations” *Cancer Research*, 2008, 68, 8022-8030
37. Nguyen M., Marcellus R.C., Roulston A., Watson M., Serfass L., Murthy Madiraju S.R. „Small molecule obatoclax (GX15-070) antagonizes MCL-1 and overcomes MCL-1-mediated resistance to apoptosis”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104, 19512-19517
38. Nakanishi C., Toi M. „Nuclear factor-kappaB inhibitors as sensitizers to anticancer drugs”, *Nature Reviews Cancer*, 2005, 5, 297-309
39. Cleary J.M., Shapiro G.I. „Development of phosphoinositide-3 kinase pathway inhibitors for advanced cancer”, *Current Oncology Reports*, 2010, 12, 87-94
40. Sharom F.J. „Interaction of the P-glycoprotein multidrug transporter (MDR1) with high affinity peptide chemosensitizers in isolated membranes, reconstituted systems, and intact cells”, *Biochemical Pharmacology*, 1999, 58, 571-586
41. Tarasova N.I. „Transmembrane inhibitors of P-glycoprotein, an ABC transporter” *Journal of Medicinal Chemistry*, 2005, 48, 3768-3775
42. Pawlak-Roblin C. „Inhibition of multidrug resistance by immunisation with synthetic P-glycoprotein-derived peptides”, *European Journal of Cancer*, 2004, 40, 606-613
43. Scotto K.W. „Transcriptional regulation of ABC drug transporters”, *Oncogene*, 2003, 22, 7496-7511
44. Bartsevich V.V., Juliano R.L. „Regulation of the MDR1 gene by transcriptional repressors selected using peptide combinatorial libraries” *Molecular Pharmacology*, 2000, 58, 1-10
45. Izquierdo M. „Short interfering RNAs as a tool for cancer gene therapy”, *Cancer Gene Therapy*, 2005, 12, 217-227
46. Ee P.L., He X., Ross D.D., Beck W.T. „Modulation of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) gene expression using RNA interference” *Molecular Cancer Therapy* 2004, 3, 1577-1583
47. Pichler A., Zelcer N., Prior J.L., Kuil A.J., Piwnicka-Worms D. „In vivo RNA interference-mediated ablation of MDR1 P-glycoprotein”, *Clinical Cancer Research*, 2005, 11, 4487-4494
48. Kellen J.A. „The reversal of multidrug resistance: an update”, *Journal of Experimental Therapeutics and Oncology*, 2003, 3, 5-13
49. Shionoya M, Jimbo T, Kitagawa M, Soga T, Tohgo A. „DJ-927, a novel oral taxane, overcomes P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in vitro and in vivo”, *Cancer Science*, 2003, 94(5), 459-466
50. Rose W.C., Fairchild C., Lee F.Y. „Preclinical antitumor activity of two novel taxanes”, *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2001, 47(2), 97-105
51. Kurata T., Shimada Y., Tamura T. „Phase I and pharmacokinetic study of a new taxoid, RPR 109881a, given as a 1-hour intravenous infusion in patients with advanced solid tumors”, *Journal of Clinical Oncology*, 2000, 18(17), 3164-3171
52. Perego P. „A novel 7-modified camptothecin analog overcomes breast cancer resistance protein-associated resistance in a mitoxantrone-selected colon carcinoma cell line”, *Cancer Research*, 2001, 61, 6034-6037
53. Polizzi D., Pratesi G., Monestiroli S. „Oral efficacy and bioavailability of a novel taxane”, *Clinical Cancer Research*, 2000, 6(5), 2070-2074
54. Byrne J.L. „Early allogeneic transplantation for refractory or relapsed acute leukaemia following remission induction with FLAG”, *Leukemia*, 1999, 13, 786-791
55. Vail D.M. „Pegylated liposomal doxorubicin: proof of principle using preclinical animal models and pharmacokinetic studies”, *Seminars in Oncology*, 2004, 31, 16-35
56. Krishna R., St-Louis M., Mayer L.D. „Increased intracellular drug accumulation and complete chemosensitization achieved in multidrug-resistant solid tumors by co-administering valspodar (PSC 833) with sterically stabilized liposomal doxorubicin”, *International Journal of Cancer*, 2000, 85, 131-141
57. Fracasso P.M. „Phase I study of pegylated liposomal doxorubicin and the multidrug-resistance modulator, valspodar”, *British Journal of Cancer*, 2005, 93, 46-53
58. Blagosklonny M.V. „How cancer could be cured by 2015”, *Cell Cycle*, 2005, 4, 269-278
59. Lissianskaya A., Gershanovich M., Ognerubov N., Golubeva O., Pratt J. „Paclitaxel injectable emulsion: Phase 2a study of weekly administration in patients with platinum-resistant ovarian cancer”, *Proc American Society of Clinical Oncology*, 2004, 22:5047
60. Annereau J.P. „Analysis of ATP-binding cassette transporter expression in drug-selected cell lines by a microarray dedicated to multidrug resistance”, *Molecular Pharmacology*, 2004, 66, 1397-1405
61. Warr J.R., Quinn D., Elend M., Fenton J.A. „Gain and loss of hypersensitivity to resistance modifiers in multidrug resistant Chinese hamster ovary cells” *Cancer Letters*, 1995, 98, 115-120
62. Trompier D. „Verapamil and its derivative trigger apoptosis through glutathione extrusion by multidrug resistance protein MRP1”, *Cancer Research*, 2004, 64, 4950-4956
63. Bell S.E., Quinn D.M., Kellett G.L. Warr, J.R. „2-Deoxy-D-glucose preferentially kills multidrug-resistant human KB carcinoma cell lines by apoptosis”, *British Journal of Cancer*, 1998, 78, 1464-1470
64. Johnstone R.W., Ruefli A.A., Smyth M.J. „Multiple physiological functions for multidrug transporter P-glycoprotein?”, *Trends in Biochemical Sciences*, 2000, 25, 1-6

65. Turzanski J., Grundy M., Shang S., Russell N., Pallis, M. „P-glycoprotein is implicated in the inhibition of ceramide-induced apoptosis in TF-1 acute myeloid leukemia cells by modulation of the glucosylceramide synthase pathway”, *Experimental Hematology*, 2005, 33, 62-72
66. Kontermann R.E. „Immunoliposomes for cancer therapy”, *Current Opinion in Molecular Therapeutics*, 2006, 8, 39-45
67. Stolnik S., Dunn S.E., Garnett M.C. „Surface modification of poly(lactide-co-glycolide) nanospheres by biodegradable poly(lactide)-poly(ethylene glycol) copolymers”, *Pharmaceutical Research*, 1994, 11, 1800-1808
68. Peracchia M.T., Fattal E., Desmaele D. „Stealth PEGylated polycyanoacrylate nanoparticles for intravenous administration and splenic targeting”, *Journal of Controlled Release*, 1999, 60, 121-128
69. Calvo P., Gouritin B., Chacun H. „Long-circulating PEGylated polycyanoacrylate nanoparticles as new drug carrier for brain delivery”, *Pharmaceutical Research*, 2001, 18, 1157-1166
70. Koo O.M., Rubinstein I., Onyuksel H. „Camptothecin in sterically stabilized phospholipid nanomicelles: a novel solvent pH change solubilization method”, *Journal for Nanoscience and Nanotechnology*, 2006, 6, 2996- 3000
71. Lu J., Liang M., Zink J.I., Tamanoi F. „Mesoporous silica nanoparticles as a delivery system for hydrophobic anticancer drugs”, *Small*, 2007, 3, 1341-1346
72. Liang X., Chen C., Zhao Y., Wang P.C. „Circumventing Tumor Resistance to Chemotherapy by Nanotechnology”, *Methods in Molecular Biology*, 2010, 596, 467-488
73. Wartlick H., Spankuch-Schmitt B., Strebhardt K., Kreuter J., Langer K. „Tumour cell delivery of antisense oligonucleotides by human serum albumin nanoparticles”, *Journal of Control Release*, 2004, 96, 483-495