

Received: 2013.07.12
Accepted: 2013.11.05
Published: 2014.02.21

Mitoksantron – antybiotyk antrachinonowy o aktywności przeciwnowotworowej stosowany w leczeniu stwardnienia rozsianego*

Mitoxantrone – an anthraquinone antibiotic with antitumor activity applied for the treatment of multiple sclerosis

Marzena Szwed

Katedra Termobiologii, Instytut Biofizyki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Streszczenie

Mitoksantron jest lekiem przeciwnowotworowym dopuszczonym do badań klinicznych wtórnie postępującej fazy stwardnienia rozsianego. Liczne doniesienia naukowe wskazują, że MTX w dużych stężeniach indukuje lizę komórek, a w stężeniach niższych prowadzi do programowanej śmierci komórek prezentujących antygen.

W pracy przedstawiono cytotoksyczne działania mitoksantronu na komórki układu odpornościowego, których aktywność związana jest m.in. z ich degeneracyjnym wpływem na osłonki mielinowe aksonów. Omówiono wyniki klinicznego leczenia mitoksantronem pacjentów, u których zdiagnozowano stwardnienie rozsiane. Przedstawione informacje wskazują, że cytostatyczne właściwości mitoksantronu znajdują również odzwierciedlenie w działaniach niepożądanych jego stosowania. Lek ten cechuje: duża kardiotoxyczność, zmniejszenie frakcji wyrzutowej lewej komory oraz zwiększenie ryzyka zastoinowej niewydolności serca. Obecnie poszukuje się nowych preparatów, które w swojej aktywności niwelowałyby ogólnotoksyczne działanie mitoksantronu, wynikające m.in. z generowania reaktywnych form tlenu powstających podczas metabolizmu leku.

Słowa kluczowe:

mitoksantron • stwardnienie rozsiane • komórki APC • kardiotoxyczność

Summary

Mitoxantrone is an antineoplastic agent approved for clinical use in the secondary progressive phase of multiple sclerosis (MS). Several scientific reports indicate that mitoxantrone acts through the induction of short-term cell lysis at high concentrations and long-term induction of programmed cell death at lower concentrations of antigen-presenting cells. In this paper, we present the potential cytotoxic effects of mitoxantrone on the cells of the immune system, whose activity is associated with their degenerative effects on axonal myelin sheaths. The article also evaluates the results from the hospital treatment of patients diagnosed with MS. The presented data indicate that, apart from the cytostatic properties, mitoxantrone also exhibits side effects of its clinical application. This drug has high cardiotoxicity, and is associated with decreased left ventricular ejection fraction and increased risk of congestive heart failure. Therefore researchers are currently looking for new substances that can reduce the toxic effects of mitoxantrone in healthy tissues, resulting in the generation of reactive oxygen species during its metabolism.

Key words:

mitoxantrone • multiple sclerosis • antigen-presenting cells • cardiotoxicity

* Opublikowanie niniejszej pracy było możliwe dzięki środkom finansowym dostępnym z Young Investigator FEBS Fellowship.

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1091102>

Word count: 3134

Tables: 2

Figures: 5

References: 55

Adres autorki: dr Marzena Szwed, Katedra Termobiologii, Instytut Biofizyki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź; e-mail: szwedma@biol.uni.lodz.pl

Wykaz skrótów: **APC** – komórki prezentujące antygen (antigen presentig cells), **CAT** – katalaza (catalase), **CNS** – ośrodkowy układ nerwowy (central nervous system), **EAE** – alergiczne zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego u myszy (experimental allergic encephalomyelitis), **FDA** – Amerykański Urząd ds. Żywności i Leków (Food and Drug Administration), **GPX** – peroksydaza glutationowa (glutathione peroxidase), **GST** – transferaza glutationowa (glutathione s-transferase), **MHC II** – białka głównego układu zgodności tkankowej klasy II (major histocompatibility complex II), **MP** – metyloprednizolon (Methylprednisolone), **MS** – stwardnienie rozsiane (multiple sclerosis), **PBMC** – jednojądrzaste komórki krwi obwodowej (peripheral blood mononuclear cells), **PPMS** – pierwotnie postępująca postać stwardnienia rozsianego (primary progressive multiple sclerosis), **RRMS** – postać rzutowo-remisyjna stwardnienia rozsianego (relapsing/remitting multiple sclerosis), **SOD** – dysmutaza ponadtlenkowa (superoxide dismutase), **SPMS** – wtórnie postępująca faza stwardnienia rozsianego (secondary – progressive multiple sclerosis).

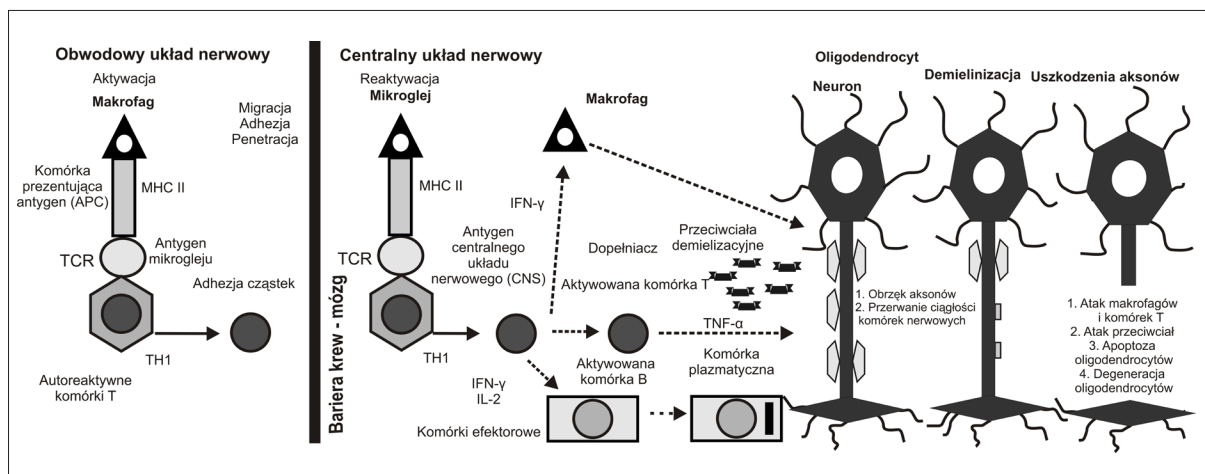
WSTĘP

Stwardnienie rozsiane (MS – multiple sclerosis) jest najczęstszą neurologiczną chorobą osób młodych i istotną przyczyną ich trwałej, neurologicznej niepełnosprawności [19]. Choroba po raz pierwszy została opisana w 1868 r. przez Jeana-Martina Charcota [48]. W Polsce, dane epidemiologiczne mówią o 1300-2100 nowych zachorowań [49].

Rozpoznanie choroby opiera się na kryteriach McDonalda opracowanych w 2011 r. Zgodnie z tymi ustaleniami MS podzielono na cztery modele kliniczne, do których należą: postać rzutowo-remisyjna (RRMS – relapsing/remitting multiple sclerosis), wtórnie postępująca (SPMS – secondary-progressive multiple sclerosis), pierwotnie postępująca (PPMS – primary progressive multiple sclerosis) i rzutowo-progresywna [23]. Z najnowszych danych statystycznych wynika, że u 85% pacjentów początkowo może wystąpić jedna lub więcej postaci choroby, kończących się całkowitym lub częściowym wyleczeniem. Ten kliniczny model sklasyfikowano jako fazę remitująco-nawracającą. Po 10 latach u 50% nieleczonych pacjentów z tej grupy następuje przejście do fazy wtórnie postępującej [23]. Jej cechą charakterystyczną jest stopniowe pogorszenie się niepełnosprawności pacjentów z obecnością lub brakiem stanów remisji. U chorych, u których występuje postać pierwotnie postępująca, zaobserwowano najbardziej różnorodne symptomy MS wynikające m.in. z niemożności przekazywania impulsów nerwowych wzdłuż dróg nerwowych w mózgowiu i rdzeniu kręgowym.

Zróznicowany przebieg stwardnienia rozsianego, powoduje, że zaproponowanie skutecznej terapii, która zmniejszałaby jej kliniczne objawy, jest jeszcze niemożliwe. Może

to wynikać z tego, że etiologia stwardnienia rozsianego jest słabo poznana i jak do tej pory nie potwierdzono istnienia bezpośredniego czynnika, który powodowałby rozwój MS. Przypuszcza się, że w patogenie demielinizacji komórek nerwowych ważną rolę odgrywają: podatność genetyczna, zakażenia wirusowe oraz zaburzenia układu immunologicznego, a nawet czynniki środowiskowe i szerokość geograficzna. Potwierdzeniem tej ostatniej hipotezy jest istnienie korelacji między ilością witaminy D wytwarzanej w skórze i zachorowalnością na MS. Stwierdzono, że u ludzi mieszkających w pobliżu strefy równikowej, odsetek ludzi chorych jest znacznie mniejszy, niż wśród ludności zamieszkującej obszary okołobiegunowe [31]. Wykorzystując podobieństwa stwardnienia rozsianego do modelu zwierzęcego tej choroby, tj. alergicznego zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego u myszy (EAE – experimental allergic encephalomyelitis) stwierdzono, że w rozwoju MS główną rolę odgrywa demielinizacja. Zjawisko to jest związane z aktywacją dopełniacza oraz przeciwciał i jako proces zapalny często łączy się z zależnym od glikoproteiny związanej z mieliną – (MAG – myelin oligodendrocyte glycoprotein) zajęciem przez komórki układu odpornościowego oligodendrocytów [7]. Do niedawna uważano, że główną rolę w procesie demielinizacji odgrywają limfocyty T. Przemawiają za tym również duże dysproporcje między limfocytami Th1, zwalczającymi infekcje wirusowe, a Th2 które są odpowiedzialne za reakcję autoagresywną układu odpornościowego. Obecnie w etiopatologii MS coraz lepiej poznajemy istotną rolę komórek typu B i powstających z nich komórek plazmatycznych (prawdopodobnie znaczącą funkcję odgrywają w tym procesie limfocyty T o fenotypie CD4⁺) [12]. Limfocyty B wpływają na wzrost wytwarzania cytokin prozapalnych, uczestniczą w wytwarzaniu przeciwciał oraz



Ryc. 1. Patogeneza stwardnienia rozsianego. Za pośrednictwem receptora T-komórkowego (TCR), prozapalne limfocyty T są aktywowane w obwodowym układzie nerwowym przez antygeny obce lub autoantygeny (Ag) prezentowane przez makrofagi, należące do komórek głównego układu zgodności tkankowej klasy II (MHC-II – major histocompatibility complex). Aktywowane limfocyty T przenikają przez barierę krew-mózg, za pośrednictwem cząsteczek adhezyjnych, proteaz i cytokin. Wewnątrz ośrodkowego układu nerwowego (CNS – central nervous system) następuje reaktywacja limfocytów T. Tam również dochodzi do wtórnej prezentacji antygenów na komórkach mikrogleju, komórkom MHC-II. Wówczas limfocyty T zaczynają wydelać prozapalne cytokiny, takie jak IFN-γ lub IL-2 i poprzez aktywację komórek efektorowych, którymi są makrofagi, limfocyty T i B, wywołują zapalenie CNS. Z udziałem cytotoksycznych mediatorów, takich jak TNF-α czy reaktywne formy tlenu i azotu, makrofagi i limfocyty T atakują osłonkę mielinową oligodendrocytów. Jednocześnie komórki B różnicują się do komórek plazmatycznych wydzielających przeciwciała demielinizacyjne. Mogą one doprowadzić do aktywacji makrofagów lub rozpocząć kaskadę reakcji z udziałem dopełniacza, które powodują powstawanie porów w osłonce mielinowej oligodendrocytów (wg [37], zmienione)

w prezentacji antygeny komórkom T [27].

Autoimmunologiczna patogeneza stwardnienia rozsianego sprawia, że w terapii MS zaczęto stosować leki immunomodulujące mające wpływ głównie na wyrównanie zaburzonej równowagi między wytwarzaniem cytokin pro – i antyzapalnych oraz regulowaniem aktywności odpowiednich limfocytów T i B. W przypadku leków immunosupresyjnych ich zasadniczym zadaniem jest wpływanie na funkcjonowanie komórek immunokompetentnych przez oddziaływanie na ligandy znajdujące się w komórkach lub na ich powierzchni [5,12]. Jednym z cytostatyków, który ma wszystkie wyżej wymienione właściwości jest mitoksantron. Mitoksantron od czasu wprowadzenia do użytku farmakologicznego był stosowany w leczeniu białaczek i nowotworów litych. Jednak ze względu na jego właściwości immunomodulujące [45], przejawiające się głównie hamującym wpływem na rozprzestrzenianie się makrofagów oraz limfocytów B i T [4], mitoksantron został włączony jako składnik terapii stwardnienia rozsianego.

STWARDNIENIE ROZSIANE JAKO AUTOIMMUNOLOGICZNA CHOROBA NEURODEGENERACYJNA

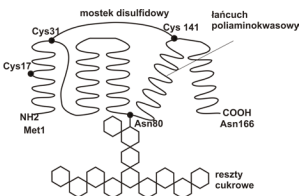
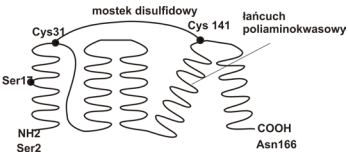
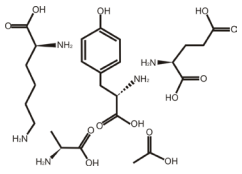
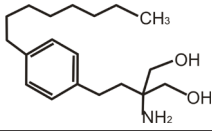
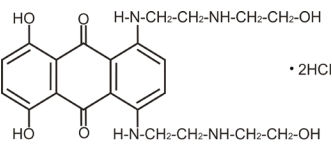
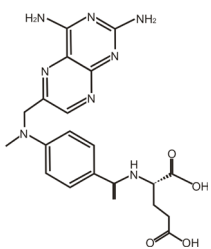
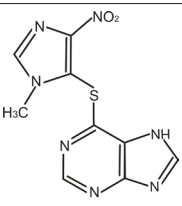
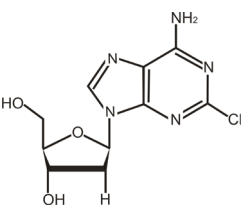
Stwardnienie rozsiane początkowo opisano jako szeroko rozumiane zaburzenie immunologiczne, co potwierdziło hipotezę, że układ odpornościowy odgrywa główną rolę w patogenezie tej choroby [6]. Duże znaczenie w rozwoju stwardnienia rozsianego odgrywają autoagresywne limfocyty T i ich oddziaływanie z ośrodkowym układem nerwowym (CNS – central nervous system). U osób, któ-

re scharakteryzowano jako genetycznie podatne na MS, dochodzi to tzw. „załamania się tolerancji układu immunologicznego”, które polega na tym, że komórki układu odpornościowego, napotykając czynnik zakaźny, rozwijają patologiczną odpowiedź immunologiczną doprowadzającą do krzyżowych reakcji z własnymi białkami organizmu [26]. Prawdopodobnie występuje wtedy „molekularna mimikra”, czyli rozpoznawania epitopów, które są wspólne dla drobnoustrojów i antygenów własnych, takich jak antygeny mieliny (ryc. 1). Przy jednoczesnym uwalnianiu cytokin z prozapalnych limfocytów Th1, można również zaobserwować migrację autoreaktywnych limfocytów T przez barierę krew-mózg oraz ich wnikanie do mózgu i rdzenia kręgowego. Konsekwencją tego jest niszczenie otoczki mielinowej aksonów przez różnego typu komórki odpornościowe, takie jak limfocyty B czy cytotoksyczne makrofagi [29].

Zasadniczym elementem patologicznych zmian w stwardnieniu rozsianym jest demielinizacja komórek nerwowych. Dane literaturowe przedstawiają cztery różne, charakterystyczne dla stwardnienia rozsianego, modele ich demielinizacji: za pośrednictwem komórek T i makrofagów, przez przeciwciała z aktywacją dopełniacza, dystalną oligodendrogliopatię, znaną również jako apoptozę oligodendrocytów oraz pierwotną degenerację oligodendrocytów [13,14].

Przeprowadzone badania wskazują, że we wczesnym okresie rozwoju stwardnienia rozsianego, równolegle do autoagresywnej fazy zapalnej związanej z demielinizacją oligodendrocytów, może występować nieodwracalna utrata

Tabela 1. Preparaty stosowane w leczeniu stwardnienia rozsianego (wg [35,48])

Substancja czynna/ lek komercyjnie dostępny	Struktura chemiczna	Sposób działania	Wskazania	Zalecana dawka
Interferon-β-1a (Avonex, Rebif)		Antagonistyczne działanie w stosunku do interferonu γ, hamowanie wytwarzania prozapalnych cytokin, supresja cytotoksycznych limfocytów T	Ograniczenie nawrotów choroby w fazie RRMS	Domięśniowo: Avonex – 30 μg raz na tydzień Podskórnie: Rebif SC 44 μg, 3 razy na tydzień
Interferon-β-1a (Betaferon)			Ograniczenie rzutów choroby w fazach RRMS i SPMS	Podskórnie: 250 μg, co drugi dzień
Octan glatirameru (Copaxone)		Syntetyczny polipeptyd, prawdopodobnie blokuje prezentowanie antygenów na ostronie mielinowej limfocytom T	Ograniczenie nawrotów choroby w fazie RRMS	Podskórnie: 20 mg dziennie
Fingolimod (Gilenya)		Inhibitor receptora dla fosforanu sfingozyny	Ograniczenie nawrotów choroby w fazie RRMS	Doustnie: 0,5 mg dziennie
Mitoksantron (Onkotrone)		Pochodna antracenedionu, która hamuje syntezę RNA i DNA przez interkalację do podwójnej helisy DNA. Inhibicja mechanizmów naprawy DNA przez ograniczenie aktywności topoizomerazy II	Ograniczenie nawrotów choroby w fazie RRMS	Dożylnie: 12 mg/m ² przez 3 miesiące, aż do dawki kumulatywnej tj. 140 mg/m ² (100 mg/m ² u pacjentów z ryzykiem wystąpienia powikłań kardiologicznych)
Metotreksat		Inhibitor reduktazy dihydrofolianowej wpływający na wytwarzanie kofaktorów potrzebnych do syntezy DNA i RNA, aktywność immunosupresyjna, przeciwzapalna i immunoregulująca	Faza PPMS i SPMS	Doustnie, 7,5 mg dziennie
Azatiopryna (Imuran)		Zmniejszenie aktywności limfocytów B, zahamowanie komórkowej składowej odpowiedzi prozapalnej	Faza PPMS	Doustnie, 2-3-mg na kg masy ciała na dzień
Kładrybina (Biodribin)		Zahamowanie reakcji prozapalnej, indukcja apoptozy zarówno limfocytów w stanie spoczynku, jak i limfocytów dzielących się	Ograniczenie rzutów choroby w fazach RRMS i SPMS,	0,875 mg na kg masy ciała na cykl obejmujący 5 dni w miesiącu, w zależności od stanu zdrowia pacjenta stosuje się 2-3 cykli na rok

aksonów, związana z postępującą niepełnosprawnością podczas rozwoju choroby [11]. Nie jest jeszcze pewne, czy uszkodzenia aksonów są wynikiem pierwotnego procesu destrukcyjnego, w którym biorą udział komórki, takie jak makrofagi lub cytotoksyczne limfocyty CD8⁺, czy też na skutek naturalnej reakcji komórek nerwowych na demielinizację, postępującą z powodu zwiększonej wrażliwości oligodendrocytów na autoagresywne i prozapalne działania limfocytów T i B [47]. Neurodegeneracyjna utrata aksonów w rozwoju stwardnienia rozsianego wydaje się wątpliwa. Duże uszkodzenia związane z utratą liczby i funkcjonalności neuronów są zazwyczaj konsekwencją wzrostu przepuszczalności błony komórkowej przy jednoczesnym zwiększeniu transportu jonów wapnia do komórki. Następstwem tego procesu są zaburzenia w funkcjonowaniu komórek nerwowych, zmiana w strukturze cytoszkieletu, a w konsekwencji odłączenie się pojedynczych aksonów od sieci połączeń neuronalnych [2].

CELE MOLEKULARNE W LECZENIU STWARDNIENIA ROZSIANEGO

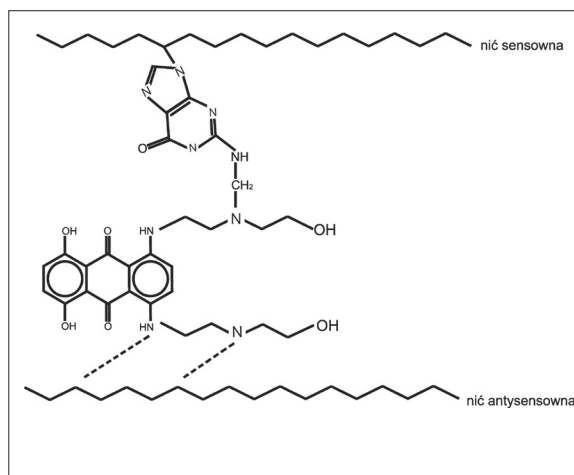
W dotychczas stosowanej terapii stwardnienia rozsianego nadrzędnymi stały się trzy sposoby leczenia: objawowe, leczenie nawrotów choroby głównie przez zastosowanie kortykosteroidów oraz długotrwała terapia z zastosowaniem leków immunomodulujących i immunosupresantów (tabela 1) [40]. MS jest chorobą przewlekłą i dlatego wymagane jest leczenie długoterminowe. Ponadto, dużym ograniczeniem stosowanej terapii immunosupresorowej jest swoisty i indywidualny charakter tej choroby, co powoduje, że konieczne jest dobranie indywidualnego, spersonalizowanego schematu leczenia. [1].

Do połowy lat 90 ub.w. kortykosteroidy wydawały się jedynymi preparatami o udowodnionej skuteczności w terapii ostrych napadów MS. Zalecano dożylnie podawanie metyloprednizolonu (MP – metyloprednizole) w dawce 1000 mg przez 3 do 5 kolejnych dni. Innym przykładem grupy leków stosowanych w celu zahamowania rozwoju MS, były immunosupresanty np. azatiopryna czy cyklofosfamid. Jednak ich podawanie, głównie w fazie remisująco-nawracającej, prowadziło pośrednio do niekorzystnych zmian systemowych, takich jak zwiększone ryzyko występowania zakażeń lub transformacji nowotworowej komórek prawidłowych [52]. Podobne właściwości do leków immunosupresyjnych mają immunomodulatory, należące do tej klasy substancji dwa rodzaje interferonów (IFN-H1A lub IFN-H1B) oraz octan glatirameru [15,17]. Szczególnie dużym osiągnięciem wydawało się zastosowanie natalizumabu, przeciwciała monoklonalnego przeciwko α 4-integrynie. Badania kliniczne prowadzone za pomocą rezonansu magnetycznego (MR) pozwoliły zakwalifikować natalizumab w USA do leczenia remisująco-powracającej postaci MS [43]. Jednak pod koniec lutego 2005 r., natalizumab wycofano z klinik, z powodu pojawienia się u pacjentów objawów niepożądanych, takich jak leucencefalopatia wieloogniskowa. We wtórnie postępującej postaci stwardnienia rozsianego możliwości leczenia są ograniczone. Spośród wspomnianych wcześniej preparatów jedynie zastosowanie interferonu IFN-H1B opóźniało

wystąpienie trwałego postępu niepełnosprawności [32].

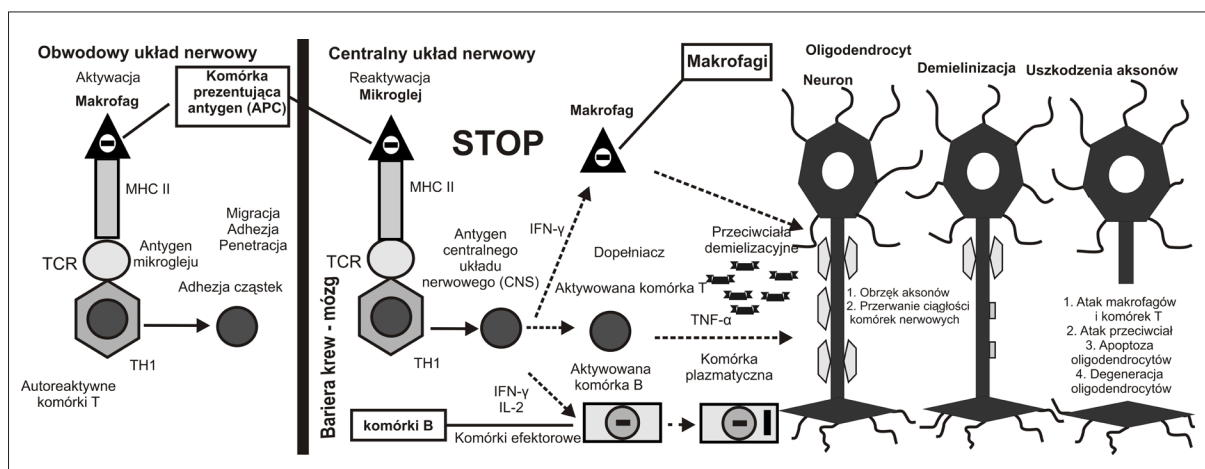
MECHANIZMY DZIAŁANIA MITOKSANTRONU

Mitoksantron (MTX) został odkryty w 1970 r., a jako lek przeciwnowotworowy do klinicznego zastosowania został dopuszczony przez Amerykański Urząd ds. Żywności i Leków (FDA – Food and Drug Administration) w 1980 r. Obecnie stosowany jest w leczeniu nowotworów piersi i stercza oraz różnego typu chorób rozrostowych układu krwiotwórczego. Początkowo mitoksantron był składnikiem inwazyjnej terapii przeciwnowotworowej u dorosłych pacjentów z ostrą białaczką szpikową [16]. Mitoksantron pod względem chemicznym, to 1,4-dihydroksy-5, 8-bis-[[2-[(2-hydroksyetylo)-amino]-etylo]-amino]-antrachinon o masie 517,4 Da. Jako pochodna doksorubicyny, w swoim działaniu cytotoksycznym oddziałuje z topoizomerazą II i wiąże się z cząsteczką DNA w wyniku interkalacji polegającej na wsuwaniu się płaskiej heterocyklicznej cząsteczki leku, pomiędzy pary zasad w podwójnej helisie DNA. Następstwem procesu interkalacji jest indukowanie jedno – bądź dwuniciowych pęknięć DNA [51] (ryc. 2). Poza działaniem cytotoksycznym stwierdzono, że mitoksantron ma silne właściwości antybakteryjne oraz immunosupresorowe. Te ostatnie związane są m.in. z inhibicją proliferacji makrofagów oraz limfocytów T i B. W przypadku limfocytów szpikozależnych, jego aktywność prowadzi głównie do ograniczenia proliferacji limfocytów T pomocniczych [55].



Ryc. 2. Tworzenie monoadduktów mitoksantronu z DNA (wg [51], zmienione)

Biorąc pod uwagę szybki metabolizm i dyfuzję mitoksantronu z komórki, maksymalny czas trwania jego w osoczu wynosi (od chwili jego podania) 25-215 godzin [42]. Końcowe etapy przemiany mitoksantronu odbywają się w nerkach i wątrobie, a około 11% całkowitej ilości podawanego preparatu może być wydalone z moczem. W organizmach pacjentów ze zdiagnozowaną chorobą nowotworową, mitoksantron może się utrzymywać w organizmie nawet do 9 miesięcy. Wiele sprzecznych doniesień pojawiło się na temat zdolności mitoksantronu do przekracza-



Ryc. 3. Przypuszczalne miejsca działania mitoksantronu w MS. Mitoksantron hamuje autoreaktywne limfocyty T, B, makrofagi i inne komórki prezentujące antygen (wg [37], zmienione)

nia bariery krew-mózg [28]. Potwierdzono natomiast, że mitoksantron łączy się w surowicy z niektórymi białkami np. frakcją albuminową czy transferyną [21].

Prowadzone badania farmakokinetyczne wykazały, że maksymalne stężenie mitoksantronu w surowicy oscyluje w granicy 308-839 ng/ml, a jego czas półtrwania mieści się w granicach 38,4-71,5 godz. W pierwszych 10 dniach po podaniu mitoksantronu w dawce 12 mg/m² powierzchni ciała pacjenta, maksymalne stężenie leku w surowicy przekracza 20 ng/ml [38]. W okresie 80 dni w 3-miesięcznym systemie dawkowania, stężenie mitoksantronu w osoczu obniża się do 20 pg/ml.

MITOKSANTRON W STWARDNIENIU ROZSIANYM

Badania przeprowadzone w warunkach *ex vivo* wykazały, że mitoksantron może działać w krótkich odcinkach czasowych jako środek immunosupresyjny, zmniejszając liczbę leukocytów, przy jednoczesnym zahamowaniu rozprzestrzeniania się w organizmie wszystkich typów komórek układu odpornościowego [18]. Ponadto tzw. długotrwała terapia mitoksantronem przy jego stężeniu w surowicy mniejszym niż 20 ng/ml, może skutkować indukcją apoptozy komórek typu APC. Mitoksantron ma istotny wpływ na aktywność cytokin w układzie immunologicznym. Badania prowadzone w warunkach *ex vivo* ujawniły, że u pacjentów po terapii mitoksantronem, na skutek spadku liczby monocytów i limfocytów T, obserwowano znaczne osłabienie aktywności cytokin: IL-10 i IL-2R-H1 nawet po 6 miesiącach od zakończenia hospitalizacji i procesu leczenia [38].

Pierwsze badania dotyczące zastosowania mitoksantronu jako potencjalnego chemioterapeutyku w leczeniu MS przeprowadzono w latach 80 XX wieku, na zwierzęcym modelu autoimmunologicznego zapalenia mózgu. W badaniach histopatologicznych, zaobserwowano, zależny od dawki hamujący wpływ mitoksantronu na demielinizację aksonów. W hamowaniu rozwoju EAE, mitoksantron był 10-20 razy bardziej skuteczny niż cyklofosfamid [53].

W modelowym układzie *in vitro* EAE wykazano natomiast, że mitoksantron hamował aktywność limfocytów B i jednocześnie wzmacniał funkcje supresorowe limfocytów T. Jednak w badaniach prowadzonych w warunkach *in vivo* na myszach stwierdzono, że indukcja limfocytów T supresorowych była niezależna od stosowania MTX. Jednocześnie wiele równolegle prowadzonych badań dowiodło, że mitoksantron indukował apoptozę w limfocytach B oraz w innych komórkach charakteryzujących się ekspresją białek głównego układu zgodności tkankowej klasy II (MHC II – major histocompatibility complex II) prezentujących antygen [38]. Jednak badania porównujące frakcję jednojądrzastych komórek krwi obwodowej (PBMC – peripheral blood mononuclear cells) pozyskanych od zdrowej grupy kontrolnej z tymi, których dawcami byli pacjenci z objawami MS i poddani terapii mitoksantronem, potwierdziły przypuszczenia, że lek ten zmniejsza procent komórek należących do puli PBMC, głównie limfocytów B, które umierały w wyniku nekrozy [34]. W oparciu o te badania, powstała hipoteza tzw. bimodalnego mechanizmu śmierci komórki indukowanej przez mitoksantron (ryc. 3). Stwierdzono, że w niższych dawkach lek ten indukuje apoptozę, podczas gdy przy wyższych stężeniach dochodzi do rozpadu komórki i ogólnoustrojowego rozprzestrzenienia się stanu zapalnego.

Mitoksantron jest bezpośrednim induktorem programowanej śmierci komórkowej w limfocytach B i innych komórkach układu immunologicznego prezentujących antygeny. Analizując populacje jednojądrzastych komórek krwi otrzymanych od pacjentów ze zdiagnozowanym stwardnieniem rozsianym po dodaniu mitoksantronu stwierdzono, że powodował on śmierć limfocytów B, głównie w procesie nekrozy [50]. Takie doniesienia pozwoliły wysunąć stwierdzenie, że niskie stężenia mitoksantronu indukują wśród komórek limfoidalnych śmierć apoptotyczną, podczas gdy wyższe jego dawki powodują nekrozę. Jeżeli lek był dłużej stosowany, ale w niższych dawkach, to w komórkach APC obserwowano molekularne markery charakterystyczne dla procesu apopto-

Tabela 2. Rekomendowane dawki mitoksantronu, w zależności od wyników morfologii pacjentów, u których zdiagnozowano MS (wg [37] – zmienione)

Parametr morfologiczny	Rekomendowana dawka mitoksantronu [mg/m ²]
Białe komórki krwi 1,0– 1,99 T/l Płytki krwi 25–49 T/l 3 tygodnie po dożylną fuzji	10
Białe komórki krwi <1,0 T/l Płytki krwi <25 3 tygodnie po dożylną fuzji	8
Białe komórki krwi 3,0–3,99 T/l Płytki krwi 75–99 T/l 1 tydzień przed dożylną fuzją	9
Białe komórki krwi 2,0–2,99 T/l Płytki krwi 50–74 T/l 1 tydzień przed dożylną fuzją	6
Białe komórki krwi <2,0 T/l Płytki krwi <50 1 tydzień przed dożylną fuzją	Przeciwwskazania ze względu na niskie parametry morfologii

zy, tzn. formowanie ciałek apoptotycznych, kondensacja i marginalizacja chromatyny czy kurczenie się cytoplazmy [33,35].

Badania histopatologiczne grupy Ridge’a dowiodły, że mitoksantron w znaczny sposób ograniczał patogenny proces demielinizacji. Lek okazał się około 10 – 20 razy bardziej skuteczny, od stosowanego w leczeniu EAE cyklofosfamid. Ponadto, jeżeli mitoksantron był dodany do hodowli *ex vivo* limfocytów T, to te same komórki po wstrzyknięciu do ustroju traciły swoje właściwości autoimmunologiczne, tzn. nie oddziaływały z osłonką mielinową aksonów [44].

BADANIA KOHORTOWE U PACJENTÓW ZE STWARDNIENIEM ROZSIANYM Poddanych terapii MITOKSANTRONEM

Pierwsze próby kliniczne, dotyczące zastosowania mitoksantronu w fazie rzutowo-emisyjnej stwardnienia rozsianego podjęto we Francji i Wielkiej Brytanii. W próbie liczącej 42 pacjentów, zastosowano 6 – miesięczną terapię mitoksantronem. Preparat podawano jeden raz w miesiącu w dawce 20 mg w połączeniu z 1 g metyloprednizolonu. Stosując metodę obrazowania za pomocą rezonansu magnetycznego stwierdzono, że w badanej populacji pacjentów, którym podawano mitoksantron w połączeniu z metyloprednizolonem, nie stwierdzono u żadnego z nich zastrzonej fazy MS, również dlatego, że ograniczeniem tych badań był brak grupy kontrolnej (placebo) [9].

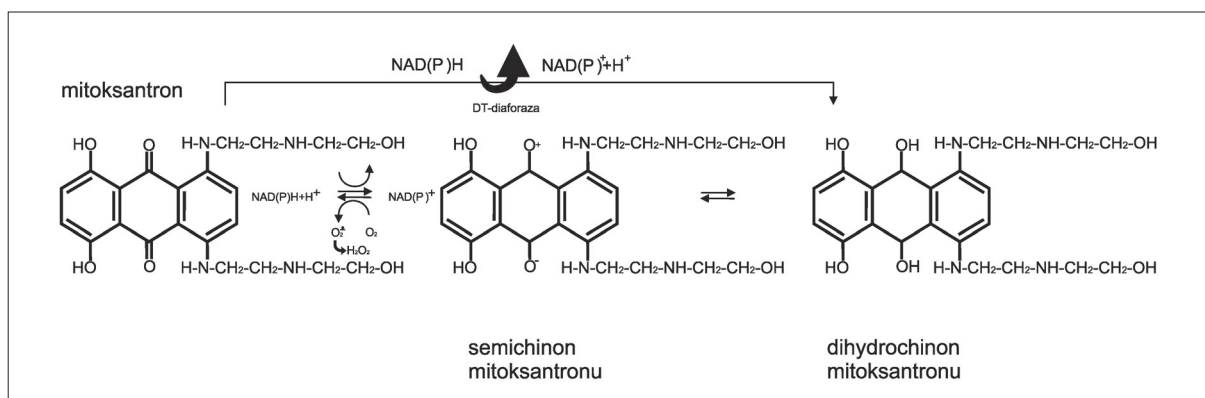
W grupie 49 belgijskich pacjentów, porównano terapię mitoksantronem (13 iniekcji w dawce 12 mg/m² powierzchni ciała) z terapią MP (13 iniekcji w dawce 1 g). Po 32 miesiącach terapii eksperymentalnej zaobserwowano poprawę stanu zdrowia w obydwu grupach badanych, jednak tylko u pacjentów, którym podawano mitoksantron widoczne było istotne zahamowanie uszkodzeń komórek nerwowych [39].

We Włoszech badania nad efektywnością mitoksantronu w fazie RRMS przeprowadzono wśród 51 pacjentów, którzy

otrzymywali mitoksantron w dawce 8 mg/m² powierzchni ciała. Porównując grupę badaną z grupą kontrolną otrzymującą placebo stwierdzono, że po jednorocznej terapii mitoksantronem zaobserwowano poprawę stanu zdrowia u 66% badanych pacjentów, a liczba osób, u których zdiagnozowano obniżenie parametrów zmian demielinizacyjnych odpowiadała 46% badanej populacji [36].

Zgodnie z dotychczas stosowanymi normami przyjęto, że mitoksantron może być stosowany jako lek immunosupresyjny w terapii MS, we wszystkich krajach Unii Europejskiej, w dawce 12 mg/m² przez trzy miesiące. We Francji i Wielkiej Brytanii obowiązującą dawką jest 20 mg mitoksantronu, podawanego jeden raz na miesiąc w przeciągu pół roku. Pacjenci z agresywną postacią MS mogą przyjmować mitoksantron w postaci regularnych iniekcji dożylnych w dawce 10-12 mg/m² przez trzy miesiące. Zastosowanie kliniczne mitoksantronu jest ograniczone przez występowanie tzw. dawki kumulatywnej równej 140 mg/m², która w istotny sposób wpływa na rozwój kardiotoxyczności poantracyklinowej [39].

Przed rozpoczęciem terapii mitoksantronem, pacjenci poddawani są wielu badaniom laboratoryjnym, które mają na celu ocenę ich ogólnego stanu zdrowia. Szczególnie dokładnej analizie zostaje poddana wielkość frakcji wyrzutowej lewej komory [10]. Jeżeli jej wartość spadnie poniżej 50%, to wówczas terapia mitoksantronem zostaje przerwana bądź dawka leku jest stosownie obniżona w zależności od stanu zdrowia i kondycji pacjenta. Podczas długotrwałego podawania mitoksantronu, nie można wykluczyć również ryzyka powikłań układu immunologicznego. Według raportów FDA po długotrwałej terapii tym antybiotykiem istnieje prawdopodobieństwo wystąpienia ostrej białaczki T limfoblastycznej. Dlatego tak konieczne, podczas iniekcji MTX jest monitorowanie u pacjenta poziomu białych krwinek (tabela 2). Unika się łączenia terapii mitoksantronu z inhibitorami acetylocholinoesterazy, które w pośrednim działaniu sprzyjają wzrostowi stężenia leku w surowicy. Podawanie mitok-



Ryc. 4. Cykl redoks mioksantronu (wg [30], zmienione)

santronu ograniczają również zaburzenia funkcjonowania wątroby, podczas gdy wszelkie nefropatie nie hamują jego potencjału aplikacyjnego. Niewskazane jest również podawanie mitoksantronu u kobiet w ciąży. Jeżeli podczas dożylnych iniekcji pojawiają się rumienie, to konieczne jest miejscowe podanie leków steroidowych np. hydrokortyzonu. Dowiedziono, że po zakończeniu terapii mitoksantronem, jego działanie utrzymuje się do 1 roku. Podawanie immunosupresantów, takich jak interferon beta i octan glatirameru zmniejsza działania niepożądane tego leku [36].

KARDIOTOKSYCZNOŚĆ MITOKSANTRONU OGRANICZENIEM JEGO KLINICZNEGO ZASTOSOWANIA

Czynnikiem ograniczającym stosowanie mitoksantronu w terapii przeciwnowotworowej jest jego duża kardiotoxyczność, będąca następstwem przemian metabolicznych jakim ten lek podlega [46]. Mitoksantron i wszystkie leki antracyklinowe są związkami o budowie chinonowej, które łatwo ulegają jednoelektronowej redukcji do postaci semichinonowej. Powstający elektron przenoszony jest na cząsteczkę tlenu z wytworzeniem anionorodnika ponadtlenkowego, a rodnik semichinonowy ulega regeneracji do postaci chinonowej (ryc. 4). Anionorodnik ponadtlenkowy rozpoczyna kaskadę reakcji wolnorodnikowych. Produktami tych reakcji są silnie toksyczny rodnik hydroksylowy ($\cdot\text{OH}$) i nadtlenek wodoru (H_2O_2). W powyższych reakcjach uczestniczy wiele enzymów oksydoredukcyjnych, m.in. reduktaza cytochromu P450, dehydrogenaza NADH, oksydaza ksantynowa [30]. Warto zaznaczyć, że zdolność mitoksantronu do pośredniego generowania reaktywnych form tlenu, dały podstawy ku temu, aby wykorzystać ten antybiotyk w terapii fotodynamicznej jako fotouczulacz [25].

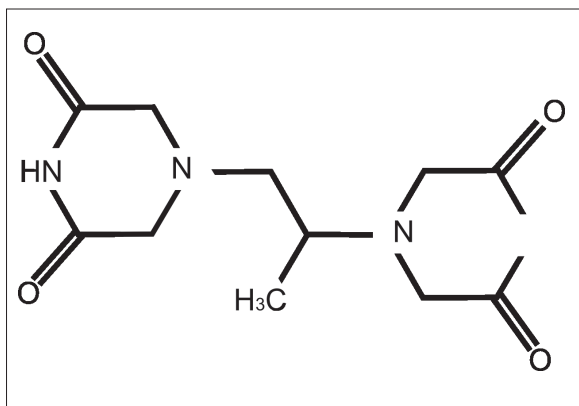
Bezpośrednią przyczyną dużej wrażliwości komórek mięśnia sercowego na terapię mitoksantronem jest to, że wewnętrzna błona mitochondrialna tych komórek zawiera duże ilości kardiolipiny, do której z dużym powinowactwem przyłączają się antracykliny. W wyniku tego połączenia zmienia się funkcja wielu enzymów, pełniących istotną rolę w tworzeniu bariery antyoksydacyjnej, m.in.

oksydazy cytochromu c. Takie zmiany enzymatycznej homeostazy powodują zaburzenia w transporcie elektronów łańcucha oddechowego, w konsekwencji prowadząc do wyczerpania zapasów ATP i fosfokreatyny, a co za tym idzie do zmniejszenia kurczliwości mięśnia sercowego [32]. W kardiotoxyczności mitoksantronu, sprawą dyskusyjną pozostają zmiany w funkcjonowaniu receptorów adrenergicznych mięśnia sercowego oraz zakłócenia transportu jonów wapnia w komórce [14].

Generowanie wolnych rodników i nadtlenu wodoru następuje również enzymatycznie z udziałem dehydrogenaz NADH i dehydrogenaz flawoproteinowych uczestniczących w redukcji pierścienia antrachinonowego, powodując powstanie rodnika hydroksylowego [54]. Do przebiegu tych reakcji niezbędne są jony żelaza, które łączą się z flawoproteinami i cytochromem c.

Kolejnym sposobem generowania wolnych rodników jest nieenzymatyczny szlak z udziałem jonów żelaza. Antybiotyki antracyklinowe, w tym mitoksantron wykazują duże powinowactwo do jonów żelaza. Powstawanie kompleksu żelaza z mitoksantronem indukuje generowanie wolnych rodników. Kompleks ten jest katalizatorem reakcji transportu elektronu z glutationu na cząsteczkę tlenu. Poza tym wykazano udział kompleksu mitoksantron-żelazo w procesie peroksydacji lipidów [8].

Końcowym etapem zarówno enzymatycznych, jak i nieenzymatycznych wolnorodnikowych przemian mitoksantronu jest apoptoza kardiomiocytów [24]. Uwzględniając pośrednie generowanie reaktywnych form tlenu w cyklu redoks mitoksantronu trzeba pamiętać o dość słabej barierze antyoksydacyjnej komórek mięśnia sercowego. Do głównych enzymów antyoksydacyjnych chroniących kardiomiocyty przed działaniem wolnych rodników należą dysmutaza ponadtlenkowa (SOD – superoxide dismutase), transferaza glutationowa (GST – glutathione s-transferase), katalaza (CAT – catalase) oraz peroksydaza glutationowa (GPX – glutathione peroxidase) [3]. Nadekspresja zarówno SOD, katalazy, jak i reduktazy zwiększa ochronę antyoksydacyjną miocytów, natomiast obniżenie ich aktywności sprawia, że mięsień sercowy wykazuje



Ryc. 5. Struktura chemiczna deksrazoksanu (wg [53], zmienione)

wyjątkową wrażliwość na działanie wolnych rodników generowanych przez antrycyliny [20].

Ze względu na wiele niedogodności związanych z zastosowaniem mitoksantronu w chemioterapii nowotworów, zaczęto stosować terapię, które spełniałyby rolę kardioprotektorów. Związkiem pozwalającym na obniżenie kardiotoksyczności, również przy zastosowaniu wyższych dawek kumulatywnych MTX jest deksrazoksan (cykliczny analog kwasu etylenodiaminotetraoctowego) (ryc. 5). Jest to lek kardioochronny, który wykazuje również działanie przeciwnowotworowe, hamując topoizomerazę II. Zdolność deksrazoksanu do tworzenia z topoizomerazą II struktury „zamkniętej klamry” i uniemożliwianie odłączenia się enzymu od przyłączonej nici polinukleotydowej, jest przyczyną indukcji dwuniciowych pęknięć DNA i głównym powodem aktywności cytotoksycznej wobec szybko proliferujących komórek nowotworowych. Inny-

mi skutkami katalitycznej inhibicji wspomnianego enzymu są indukcja procesu apoptozy oraz różnicowania się komórek, które uległy transformacji blastycznej do ich pierwotnych prekursorów [41]. Deksrazoksan charakteryzuje się zdolnością chelatowania jonów żelaza, zarówno wolnych, jak i będących częścią kompleksu mitoksantron-żelazo. Konsekwencją tego jest ograniczenie generowania wolnych rodników, a tym samym redukcja kardiotoksyczności [34].

PODSUMOWANIE

Mitoksantron stosowany jest u chorych z częstymi nawrotami stwardnienia rozsianego i szybko postępującym pogorszeniem się ich ogólnego stanu zdrowia. Ze względu na działanie cytostatyczne, mitoksantron prowadzi do inhibicji proliferacji makrofagów oraz limfocytów T i B. U pacjentów leczonych mitoksantronem obserwowano również objawy toksyczne w postaci zakażeń dróg moczowych, zaburzeń miesiączkowania, leukopenii i hepatotoksyczności. Ponadto mitoksantron charakteryzuje się specyficznym działaniem kardiotoksycznym. Wszystkie te niepożądane objawy muszą być uwzględniane przy podejmowaniu decyzji o jego włączeniu do leczenia chorych na stwardnienie rozsiane. Mało selektywne działanie mitoksantronu, czego konsekwencją są powyżej przedstawione działania niepożądane, mogą być zniesione przez zastosowanie przenośników leków tak, aby lek oddziaływał bezpośrednio z limfocytami T lub B, a komórki prawidłowe pozostawały nienaruszone. W takim przypadku, duże możliwości daje zastosowanie koniugatów mitoksantronu, skierowanych przeciwko receptorom powierzchniowym, charakterystycznym dla komórek APC, które to receptory nie występują na komórkach prawidłowych.

PIŚMIENICTWO

- [1] Bayas A.: Improving adherence to injectable disease-modifying drugs in multiple sclerosis. *Expert Opin. Drug Deliv.*, 2013; 10: 285-287
- [2] Bjartmar C., Trapp B.D.: Axonal and neuronal degeneration in multiple sclerosis: mechanisms and functional consequences. *Curr. Opin. Neurol.*, 2001; 14: 271-278
- [3] Bukowska B.: Glutathione: biosynteza, czynniki indukujące oraz stężenia w wybranych jednostkach chorobowych. *Med. Pracy*, 2004; 55: 501-509
- [4] Capkun-Niggli G., Lahoz R., Verdun E., Dickinson S., Lowy A., Nordstrom B., Dahlke F.: PRM43 – medical and pharmacy claims-based algorithms for identifying relapses in patients with multiple sclerosis. *Value Health*, 2013; 16: A582
- [5] Chan A., Lo-Coco F.: Mitoxantrone-related acute leukemia in MS: an open or closed book? *Neurology*, 2013; 80: 1529-1533
- [6] Chan A., Weilbach F.X., Toyka K.V., Gold R.: Mitoxantrone induces cell death in peripheral blood leukocytes of multiple sclerosis patients. *Clin. Exp. Immunol.*, 2005; 139: 152-158
- [7] Chanvillard C., Millward J.M., Lozano M., Hamann I., Paul F., Zipp F., Dörr J., Infante-Duarte C.: Mitoxantrone induces natural killer cell maturation in patients with secondary progressive multiple sclerosis. *PLoS One*, 2012; 7: e39625
- [8] Chen R.F., Chou C.L., Wang M.R., Chen C.F., Liao J.F., Ho L.K., Tao C.W., Huang H.S.: Small-molecule anthracene-induced cytotoxicity and induction of apoptosis through generation of reactive oxygen species. *Biol. Pharm. Bull.*, 2004; 27: 838-845
- [9] Edan G., Le Page E.: Induction therapy for patients with multiple sclerosis: why? when? how? *CNS Drugs*, 2013; 27: 403-409
- [10] Esposito F., Radaelli M., Martinelli V., Sormani M.P., Martinelli Boneschi F., Moiola L., Rocca M.A., Rodegher M., Comi G.: Comparative study of mitoxantrone efficacy profile in patients with relapsing-remitting and secondary progressive multiple sclerosis. *Mult. Scler.*, 2010; 16: 1490-1499
- [11] Filippi M., Bozzali M., Rovaris M., Gonen O., Kesavadas C., Ghezzi A., Martinelli V., Grossman R.I., Scotti G., Comi G., Falini A.: Evidence for widespread axonal damage at the earliest clinical stage of multiple sclerosis. *Brain*, 2003; 126: 433-437
- [12] Fox E.J.: Mechanism of action of mitoxantrone. *Neurology*, 2004; 63 (Suppl. 6): S15-S18
- [13] Gbadamosi J., Buhmann C., Tessmer W., Moench A., Haag F., Heesen C.: Effects of mitoxantrone on multiple sclerosis patients' lymphocyte subpopulations and production of immunoglobulin, TNF-alpha and IL-10. *Eur. Neurol.*, 2003; 49: 137-141

- [14] Goffette S., van Pesch V., Vanoverschelde J.L., Morandini E., Sindic C.J.: Severe delayed heart failure in three multiple sclerosis patients previously treated with mitoxantrone. *J. Neurol.*, 2005; 252: 1217-1222
- [15] Goodin D.S.: Therapeutic developments in multiple sclerosis. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2000; 9: 655-670
- [16] Gyan E., Damotte D., Courby S., Sénécal D., Quittet P., Schmidt-Tanguy A., Banos A., Le Gouill S., Lamy T., Fontan J., Maisonneuve H., Alexis M., Dreyfus F., Tournilhac O., Laribi K., Solal-Céligny P., Arakelyan N., Cartron G., Gressin R.; GOELAMS Group.: High response rate and acceptable toxicity of a combination of rituximab, vinorelbine, ifosfamide, mitoxantrone and prednisone for the treatment of diffuse large B-cell lymphoma in first relapse: results of the R-NIMP GOELAMS study. *Br. J. Haematol.*, 2013; 162: 240-249
- [17] Hartung H.P., Bar-Or A., Zoukos Y.: What do we know about the mechanism of action of disease-modifying treatments in MS? *J. Neurol.*, 2004; 251 (Suppl. 5): v12-v29
- [18] Hemmer B., Archelos J.J., Hartung H.P.: New concepts in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2002; 3: 291-301
- [19] Heussinger N., Kontopantelis E., Rempel O., Paulides M., Trollmann R.: Predicting multiple sclerosis following isolated optic neuritis in children. *Eur. J. Neurol.*, 2013; 20: 1292-1296
- [20] Hsiao C.J., Li T.K., Chan Y.L., Hsin L.W., Liao C.H., Lee C.H., Lyu P.C., Guh J.H.: WRC-213, an L-methionine-conjugated mitoxantrone derivative, displays anticancer activity with reduced cardiotoxicity and drug resistance: identification of topoisomerase II inhibition and apoptotic machinery in prostate cancers. *Biochem. Pharmacol.*, 2008; 75: 847-856
- [21] Jain K.K.: Evaluation of mitoxantrone for the treatment of multiple sclerosis. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2000; 9: 1139-1149
- [22] Kappos L., Weinshenker B., Pozzilli C., Thompson A.J., Dahlke F., Beckmann K., Polman C., McFarland H., European (EU-SPMS) Interferon beta-1b in Secondary Progressive Multiple Sclerosis Trial Steering Committee and Independent Advisory Board; North American (NA-SPMS) Interferon beta-1b in Secondary Progressive Multiple Sclerosis Trial Steering Committee and Independent Advisory Board.: Interferon beta-1b in secondary progressive MS: a combined analysis of the two trials. *Neurology*, 2004; 63: 1779-1787
- [23] Kieseier B.C., Hemmer B., Hartung H.P.: Multiple sclerosis – novel insights and new therapeutic strategies. *Curr. Opin. Neurol.*, 2005; 18: 211-220
- [24] Kluza J., Marchetti P., Gallego M.A., Lancel S., Fournier C., Loyens A., Beauvillain J.C., Bailly C.: Mitochondrial proliferation during apoptosis induced by anticancer agents: effects of doxorubicin and mitoxantrone on cancer and cardiac cells. *Oncogene*, 2004; 23: 7018-7030
- [25] Koceva-Chyla A., Wicławska B., Jóźwiak Z., Bryszewska M.: Combined effect of low-power laser irradiation and anthraquinone anticancer drug aclarubicin on survival of immortalized cells: Comparison with mitoxantrone. *Cell Biol. Int.*, 2006; 30: 645-652
- [26] Lalive P.H.: Autoantibodies in inflammatory demyelinating diseases of the central nervous system. *Swiss Med. Wkly*, 2008; 138: 692-707
- [27] Langer-Gould A., Brara S.M., Beaber B.E., Zhang J.L.: Incidence of multiple sclerosis in multiple racial and ethnic groups. *Neurology*, 2013; 80: 1734-1739
- [28] Lee Y.J., Kusuha H., Jonker J.W., Schinkel A.H., Sugiyama Y.: Investigation of efflux transport of dehydroepiandrosterone sulfate and mitoxantrone at the mouse blood-brain barrier: a minor role of breast cancer resistance protein. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2005; 312: 44-52
- [29] Lis J., Jarzab A., Witkowska D.: Rola mimikry molekularnej w etiologii schorzeń o charakterze autoimmunizacyjnym. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 475-491
- [30] Minotti G., Menna P., Salvatorelli E., Cairo G., Gianni L.: Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol. Rev.*, 2004; 56: 185-229
- [31] Mohammad M.G., Hassanpour M., Tsai V.W., Li H., Ruitenberg M.J., Booth D.W., Serrats J., Hart P.H., Symonds G.P., Sawchenko P.E., Breit S.N., Brown D.A.: Dendritic cells and multiple sclerosis: disease, tolerance and therapy. *Int. J. Mol. Sci.*, 2012; 14: 547-562
- [32] Mordente A., Meucci E., Silvestrini A., Martorana G.E., Giardina B.: New developments in anthracycline-induced cardiotoxicity. *Curr. Med. Chem.*, 2009; 16: 1656-1672
- [33] Naddafi F., Reza Haidari M., Azizi G., Sedaghat R., Mirshafiey A.: Novel therapeutic approach by nicotine in experimental model of multiple sclerosis. *Innov. Clin. Neurosci.*, 2013; 10: 20-25
- [34] Nägele H., Castel M.A., Deutsch O., Wagner F.M., Reichenspurner H.: Heart transplantation in a patient with multiple sclerosis and mitoxantrone-induced cardiomyopathy. *J. Heart Lung Transplant.*, 2004; 23: 641-643
- [35] Neuhaus O., Archelos J.J., Hartung H.P.: Immunomodulation in multiple sclerosis: from immunosuppression to neuroprotection. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2003; 24: 131-138
- [36] Neuhaus O., Kieseier B.C., Hartung H.P.: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the interferon-betas, glatiramer acetate, and mitoxantrone in multiple sclerosis. *J. Neurol. Sci.*, 2007; 259: 27-37
- [37] Neuhaus O., Kieseier B.C., Hartung H.P.: Therapeutic role of mitoxantrone in multiple sclerosis. *Pharmacol. Ther.*, 2006; 109: 198-209
- [38] Neuhaus O., Wiendl H., Kieseier B.C., Archelos J.J., Hemmer B., Stüve O., Hartung H.P.: Multiple sclerosis: mitoxantrone promotes differential effects on immunocompetent cells *in vitro*. *J. Neuroimmunol.*, 2005; 168: 128-137
- [39] Nicholas R., Rashid W.: Multiple sclerosis. *Clin. Evid.*, 2012; 2012, pii: 1202
- [40] Nogales-Gaete J., Aracena R., Díaz V., Zitko P., Eloiza C., Cepeda-Zumaeta S., Agurto P., González C.: Neuropsychological assessment of patients with relapsing remitting multiple sclerosis prior to the use of immunomodulatory drugs. *Rev. Med. Chil.*, 2012; 140: 1437-1444
- [41] Psotová J., Chlopčíková S., Miketová P., Simánek V.: Cytoprotective of *Prunella vulgaris* on doxorubicin-treated rat cardiomyocytes. *Fitoterapia*, 2005; 76: 556-561
- [42] Repetto L., Vannozzi M.O., Balleari E., Venturino A., Granetto C., Bason C., Simoni C., Prencipe E., Queirolo P., Esposito M., Ghio R., Rosso R.: Mitoxantrone in elderly patients with advanced breast cancer: pharmacokinetics, marrow and peripheral hematopoietic progenitor cells. *Anticancer Res.*, 1999; 19: 879-884
- [43] Rice G.P., Hartung H.P., Calabresi P.A.: Anti- $\alpha 4$ integrin therapy for multiple sclerosis: mechanisms and rationale. *Neurology*, 2005; 64: 1336-1342
- [44] Ridge S.C., Sloboda A.E., McReynolds R.A., Levine S., Oronsky A.L., Kerwar S.S.: Suppression of experimental allergic encephalomyelitis by mitoxantrone. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1985; 35: 35-42
- [45] Stankiewicz J.M., Kolb H., Karni A., Weiner H.L.: Role of immunosuppressive therapy for the treatment of multiple sclerosis. *Neurotherapeutics*, 2013; 10: 77-88
- [46] Tarasiuk J., Mazerski J., Tkaczyk-Gobis K., Borowski E.: Molecular basis of the low activity of antitumor anthracenediones, mitoxantrone and ametantrone, in oxygen radical generation catalyzed by NADH dehydrogenase. *Enzymatic and molecular modelling studies. Eur. J. Med. Chem.*, 2005; 40: 321-328
- [47] Trapp B.D., Ransohoff R., Rudick R.: Axonal pathology in multiple sclerosis: relationship to neurologic disability. *Curr. Opin. Neurol.*, 1999; 12: 295-302

- [48] Tsang B.K., Macdonell R.: Multiple sclerosis – diagnosis, management and prognosis. *Aust. Fam. Physician*, 2011; 40: 948-955
- [49] Uchman D., Kochanowski J., Baronowska B.: Stwardnienie rozsiane – terażniejszość i przyszłość – sukcesy i porażki. *Postępy N. Med.*, 2012; Suppl. 3: 22-26
- [50] Vacchelli E., Senovilla L., Eggermont A., Fridman W.H., Galon J., Zitvogel L., Kroemer G., Galluzzi L.: Trial watch: Chemotherapy with immunogenic cell death inducers. *Oncoimmunology*, 2013; 2: e23510
- [51] Wan X., Zhang W., Li L., Xie Y., Li W., Huang N.: A new target for an old drug: identifying mitoxantrone as a nanomolar inhibitor of PIM1 kinase via kinome-wide selectivity modeling. *J. Med. Chem.*, 2013; 56: 2619-2629
- [52] Waubant E.: Overview of treatment options in multiple sclerosis. *J. Clin. Psychiatry*, 2012; 73: e22
- [53] Wiendl H., Toyka K.V., Rieckmann P., Gold R., Hartung H.P., Hohlfeld R., Multiple Sclerosis Therapy Consensus Group (MSTCG): Basic and escalating immunomodulatory treatments in multiple sclerosis: current therapeutic recommendations. *J. Neurol.*, 2008; 255: 1449-1463
- [54] Wojtukiewicz M.Z., Omyła J., Kozłowski L., Szynaka B.: Kardiotoxyczność antracyklin. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2000; 54: 467-485
- [55] Zaffaroni M., Ghezzi A., Comi G.: Intensive immunosuppression in multiple sclerosis. *Neurol. Sci.*, 2006; 27 (Suppl. 1): S13-S17

Autorka deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.