

Wesołowski, Paweł, Budzeń, Kamil, Bąk, Sebastian, Sygacz, Oliwer, Stachura, Tomasz. *Cardiotoxicity of doxorubicin – causes, prevention, prospects.* *Journal of Education, Health and Sport.* 2022;12(11):272-277. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2022.12.11.035>
<https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/40169>
<https://zenodo.org/record/7298995>

The journal has had 40 points in Ministry of Education and Science of Poland parametric evaluation. Annex to the announcement of the Minister of Education and Science of December 21, 2021. No. 32343. Has a Journal's Unique Identifier: 201159. Scientific disciplines assigned: Physical Culture Sciences (Field of Medical sciences and health sciences); Health Sciences (Field of Medical Sciences and Health Sciences). Punkty Ministerialne z 2019 - aktualny rok 40 punktów. Załącznik do komunikatu Ministra Edukacji i Nauki z dnia 21 grudnia 2021 r. Lp. 32343. Posiada Unikatowy Identyfikator Czasopisma: 201159. Przynależność dyscypliny naukowej: Nauki o kulturze fizycznej (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu); Nauki o zdrowiu (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu).

© The Authors 2022;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Nicolaus Copernicus University in Torun, Poland
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author (s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non commercial license Share alike.
(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.
Received: 23.09.2022. Revised: 20.10.2022. Accepted: 06.11.2022.

Cardiotoxicity of doxorubicin – causes, prevention, prospects Kardiotoksyczność doksorubicyny – przyczyny, zapobieganie, perspektywy

Paweł Wesołowski

Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. Kardynała Stefana Wyszyńskiego SPZOZ w Lublinie,
Aleja Kraśnicka 100, 20-718 Lublin
ORCID 0000-0002-0165-4060
<https://orcid.org/0000-0002-0165-4060>
E-mail: wesolowskipawel1996@gmail.com

Kamil Budzeń

I Wojskowy Szpital Kliniczny z Polikliniką SPZOZ w Lublinie,
Aleje Raławickie 23, 20-049 Lublin
ORCID 0000-0001-9577-9907
<https://orcid.org/0000-0001-9577-9907>
E-mail: kamil.budzen94@gmail.com

Sebastian Bąk

I Wojskowy Szpital Kliniczny z Polikliniką SPZOZ w Lublinie,
Aleje Raławickie 23, 20-049 Lublin
ORCID 0000-0002-1771-0434
<https://orcid.org/0000-0002-1771-0434>
E-mail: sebastian.bak29@gmail.com

Oliwer Sygacz

Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny Nr 4 w Lublinie,
Doktora Kazimierza Jaczewskiego 8, 20-954 Lublin
ORCID 0000-0003-3245-945X
<https://orcid.org/0000-0003-3245-945X>
E-mail: oliwer.sygacz@gmail.com

Tomasz Stachura

Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. Kardynała Stefana Wyszyńskiego SPZOZ w Lublinie,
Aleja Kraśnicka 100, 20-718 Lublin
ORCID 0000-0002-6419-8090
<https://orcid.org/0000-0002-6419-8090>
E-mail: lek.stachura@gmail.com

Corresponding author: Paweł Wesołowski

ORCID 0000-0002-0165-4060
E mail: wesolowskipawel1996@gmail.com

Abstract

Introduction: Doxorubicin is one of the most reliable anthracycline chemotherapeutics. Its high efficacy in treating a large range of cancers, however, comes hand in hand with complications. A hallmark of anthracycline drugs, and also their most common side effect, is heart failure caused by the development of dilated cardiomyopathy.

Purpose of the study: The purpose of our work is to present the current state of knowledge about the causes of doxorubicin cardiotoxicity and to present known ways to minimize the negative impact on the patient's health.

Materials and Methods: We performed a non-systematic review of the Polish and English-language literature available in the database, using the keywords: „doxorubicin”; „anthracyclines”; „cardiotoxicity”; „cardiomyopathy”; „chemotherapy”.

Results: Doxorubicin is counted among the first-generation anthracycline cytostatics widely used in cancer chemotherapy. The enormous potential of anthracyclines is a motivator for further attempts to improve these molecules and eliminate side effects. The methods developed so far have led to a reduction in the frequency of cardiovascular incidents, but the risks associated with the use of these drugs are still relatively high and the cost of liposomal forms is high.

Summary: The current state of knowledge identifies promising options for improving the well-being of patients undergoing treatment with chemotherapeutic agents. Hopes for effective analogs free of cardiotoxic effects are reasonable, and the use of companion substances is an additional possibility.

Keywords: doxorubicin; anthracyclines; cardiotoxicity; cardiomyopathy; chemotherapy.

Abstrakt

Wprowadzenie: Doksorubicyna należy do jednych z najbardziej niezawodnych chemioterapeutyków antracyklinowych. Jej wysoka skuteczność w leczeniu dużego zakresu nowotworów idzie jednak w parze z powikłaniami. Cechą charakterystyczną leków antracyklinowych, a jednocześnie ich najczęściej występującym skutkiem ubocznym, jest niewydolność serca wywołana przez rozwój kardiomiopatii rozstrzeniowej.

Cel pracy : Celem naszej pracy jest przedstawienie aktualnego stanu wiedzy na temat przyczyn kardiotoksyczności doksorubicyny oraz przedstawienie sposobów na zminimalizowanie negatywnego wpływu na stan zdrowia pacjenta.

Materiały i metody: Dokonałiśmy niesystematycznego przeglądu literatury polsko- i angielskiej dostępnej w bazie danych, używając słów kluczy: „doxorubicin”; „anthracyclines”; „cardiotoxicity”; „cardiomyopathy”; „chemotherapy”.

Wyniki: Doksorubicyna jest zaliczana do cytostatyków antracyklinowych I generacji, szeroko stosowanych w chemioterapii nowotworów. Ogromny potencjał antracyklin jest motywatorem do dalszych prób udoskonalenia tych cząsteczek i eliminacji skutków ubocznych. Dotychczas opracowane metody doprowadziły do zmniejszenia częstotliwości incydentów sercowo naczyniowych, ale ryzyko kojarzone z zastosowaniem tych leków nadal jest stosunkowo duże, a koszt liposomalnych form wysoki.

Podsumowanie: Obecny stan wiedzy pozwala na wskazanie obiecujących możliwości poprawienia dobrostanu pacjenta poddawanemu leczeniu chemioterapeutykami. Nadzieje związane ze skutecznymi analogami wolnymi od kardiotoksycznych skutków są uzasadnione, a dodatkową możliwość stanowi wykorzystanie substancji towarzyszących.

Słowa kluczowe: doksorubicyna; antracykliny; kardiotoksyczność; kardiomiopatia; chemioterapia.

Wykaz skrótów: DOX - doksorubicyna; Top2 - topoisomeraza II.

I. Wprowadzenie

Historia antybiotyków antracyklinowych zaczyna się od odkrycia daunorubicyny, substancji naturalnego pochodzenia, uzyskanej po raz pierwszy w latach 50-tych z kilku dzikich szczepów bakterii z rodzaju *Streptomyces*. Dalsze badania pozwoliły w latach 60-tych na wyizolowanie bliźniaczej cząsteczki - doksorubicyny (DOX) - ze zmodyfikowanego szczepu *Streptomyces peucetius* [1]. Różniła się ona od pierwowzoru brakiem jednej grupy metylowej, jednak wykazywała znacznie silniejsze działanie przeciwnowotworowe, doprowadzając do rozkwitu badań nad możliwościami wykorzystania klinicznego przeciwko rosnącemu problemowi zmian neoplastycznych. Czynnikiem ograniczającym zastosowanie DOX okazała się jednak wysoce zależna od dawki kardiotoxyczność. Niemniej jednak wciąż jest to jeden z najczęściej stosowanych chemioterapeutyków, a trwające wciąż regularne badania stawiają sobie za cel doskonalenie zarówno samej cząsteczki, jak i metod dostarczania do organizmu [2,3].

Doksorubicyna jest zaliczana do cytostatyków antracyklinowych I generacji, szeroko stosowanych w chemioterapii nowotworów. Wykorzystuje się ją najczęściej w terapii chłoniaka Hodgkina, mięsaka Kaposiego, ostrych postaci białaczki oraz różnych nowotworów piersi, pęcherza, żołądka, wątroby, nerek i tarczycy [2]. Pomimo szerokiego spektrum zastosowań klinicznych dokładny mechanizm działania doksorubicyny pozostaje tematem wielu dyskusji [4]. Powszechnie akceptowany model bazuje na zdolności cząsteczek DOX do interkalacji pomiędzy pary zasad w DNA i tworzenia stabilnego kompleksu z topoizomerazą II. W konsekwencji prowadzi to do rozpadu aparatu transkrypcyjnego i zatrzymania replikacji [4]. Inne wskazania mówią także o wyrzucaniu z DNA histonu łącznikowego H1 lub histonów rdzeniowych [5], a także o inhibicji syntezy RNA i możliwym wiązaniu do tych cząsteczek [6].

II. Cel pracy

Praca ma na celu porównanie zebranych teorii dotyczących głównego mechanizmu warunkującego kardiotoxyczną aktywność DOX. Zrozumienie procesu rozwoju kardiomiopatii u pacjentów leczonych DOX umożliwia zaprojektowanie nowych cząsteczek do terapii łączonej, które pozwoliłyby uniknąć uszkodzeń mięśnia sercowego przy jednoczesnym zachowaniu skuteczności wobec zmian neoplastycznych.

III. Materiał i metody

Dokonałiśmy niesystematycznego przeglądu literatury polsko- i anglojęzycznej dostępnej w bazie danych, używając słów kluczy: „doksorubicyna”; „antracykliny”; „kardiotoxyczność”; „kardiomiopatia”; „chemioterapia”.

IV. Opis stanu wiedzy

IV.a Kardiotoxyczność jako główny skutek uboczny antracyklin

Cechą charakterystyczną leków antracyklinowych, a jednocześnie ich najczęściej występującym skutkiem ubocznym, jest niewydolność serca wywołana przez rozwój kardiomiopatii rozstrzeniowej. Wyklucza to z możliwości terapii osoby z osłabionym sercem, wszelkiego rodzaju schorzeniami naczyniowymi i znacząco zwiększa ryzyko u osób starszych. Od czasu odkrycia daunomycyny i doksorubicyny wdrożono do stosowania kilka zmodyfikowanych analogów (epirubicyna, idarubicyna) o zmniejszonej kardiotoxyczności, jednak pomimo udoskonaień nie udało się wyeliminować tej szczególnej cechy [7].

Rozwój przewlekłej kardiomiopatii wywołanej przez DOX jest silnie zależny od podanej dawki leku. Badanie z 2003 roku przeprowadzone na 630 pacjentach leczonych DOX wykazało, że u 149 spośród nich wystąpiły incydenty sercowo-naczyniowe [8]. Dawka kumulatywna rzędu 700 mg/m² spowodowała wystąpienie niewydolności serca u aż 48% pacjentów. Częstotliwość występowania w przypadku dawki 550 mg/m² wynosiła 26%, a przy dawce 400 mg/m² zmalała do zaledwie 5%. Ogromna różnica pomiędzy przedstawionymi wartościami wyjaśnia, dlaczego za bezpieczną uznaje się dawkę nieprzekraczającą 500 mg/m² [2].

Aktywność antynowotworowa DOX, podobnie jak wielu innych leków drobnocząsteczkowych, opiera się na uniemożliwieniu replikacji i zatrzymaniu cyklu komórkowego. Komórki nowotworowe proliferują niezwykle szybko, co czyni je bardziej wrażliwymi na działanie leku niż większość zdrowych tkanek. Niektóre komórki ludzkiego ciała również mają naturalnie zwiększone tempo proliferacji, tak jak komórki szpiku kostnego czy mieszków włosowych. Zaburzenie funkcjonowania tych komórek prowadzi do najczęściej występujących negatywnych skutków chemioterapii, na przykład immunosupresji czy wypadania włosów. Kardiomiocyty nie należą jednak do tego grona; ich charakterystyka jest wprost przeciwna. Są to komórki w pełni zróżnicowane, które bez zewnętrznej modyfikacji i stymulacji nie są zdolne do podziału [9]. Staje się więc jasnym, że kardiotoxyczność DOX jest warunkowana na drodze innych procesów.

Poszukiwania alternatywnych ścieżek rozwoju kardiomiopatii u pacjentów doprowadziły do zwrócenia uwagi na aktywność redox antracyklin. Częsteczka DOX posiada w swojej strukturze ugrupowanie chinonowe, zdolne do przekształcenia w formę semichinonu po przyjęciu pojedynczego elektronu. Cykl redoks zamyka się, gdy pula chinonu zostaje odbudowana, jednak w efekcie dochodzi do redukcji tlenu do anionu ponadtlenkowego ($O_2^{\bullet -}$) i nadtlenu wodoru (H_2O_2). Postulowano, że produkcja wolnych rodników tlenowych przez DOX może przyczyniać się do jej toksyczności lub nawet stanowić jej główny mechanizm. Wiarygodnym wytłumaczeniem wrażliwości tkanek sercowych na ten rodzaj uszkodzeń są stosunkowo niskie poziomy katalazy w kardiomiocytach oraz zachodząca w nich inaktywacja seleno-zależnej peroksydazy glutationowej [2,10].

Naturalnym następnym krokiem było zatem wykorzystanie antyoksydantów, zmiataaczy wolnych rodników, chelatorów żelaza i innych cząsteczek ograniczających szkodliwy wpływ reaktywnych form tlenu. Rezultaty nie były jednoznaczne, ale niektóre z badań wykazywały sukcesy - dowiedziono, że deksrazoksan, pochodna EDTA, zapobiega rozwojowi chronicznej kardiomiopatii na modelach zwierzęcych. Nie zauważono jednak podobnego efektu podczas stosowania antyoksydantów, takich jak na przykład tokoferole [2].

Rozważając rolę wolnych rodników należy jednak zwrócić uwagę na porównanie warunków laboratoryjnych z rzeczywistymi, występującymi w trakcie leczenia. O ile emitowane przez DOX reaktywne formy tlenu są zdolne do wywołania uszkodzeń DNA czy peroksydacji lipidów, to stężenia niezbędne do uzyskania takich efektów znacząco przewyższają dawki stosowane klinicznie. Oczywiście przedstawione wcześniej reakcje redoks zachodzą także w organizmie pacjenta, a lokalne stężenie leku przy podaniu w bolusie może osiągać wartości znacznie wyższe niż przy powolnym dozowaniu, niemniej jednak skala tych procesów nie pozwala na uznanie aktywności oksydacyjnej DOX za główne źródło jej cytotoxyczności [4,11]. Należy natomiast mieć na uwadze przedstawiony mechanizm jako jedną z wielu składowych aktywności biologicznej tego związku. Inhibicja topoizomerazy beta jako główny podejrzany kardiotoxyczności, Topoizomeraza II odpowiada za rozplatanie podwójnej helisy DNA, co czyni ją kluczowym enzymem w procesach replikacji oraz naprawy uszkodzeń. Występuje w organizmie człowieka w postaci dwóch izoform: α i β . Wariant Top2- α wykazuje ekspresję w fazach G2 i M cyklu komórkowego, jest więc obecny tylko w komórkach aktywnie namnażających się. Szczególnie wysokie poziomy tej izoformy występują w agresywnie proliferujących komórkach nowotworowych. Forma Top2- β jest obecna we wszystkich zdrowych komórkach, także tych znajdujących się w fazie spoczynku. Jej ekspresja pozostaje na stałym poziomie w czasie życia komórki [7,12].

DOX oraz inne antybiotyki antracyklinowe posiadają zdolność do wiązania się z obiema izoformami. Powstawanie trwałych kompleksów DOX-Top2- α -DNA uniemożliwia kontynuowanie replikacji i zatrzymuje komórki w fazie G1/G2 cyklu, prowadząc w konsekwencji do apoptozy. Top2- β z kolei jest jednym wariantem obecnym w kardiomiocytach, a ich apoptoza pod wpływem DOX jest skutkiem uruchomienia ścieżek sygnałowych związanych z białkiem p53 oraz zaburzenia funkcjonowania mitochondriów [7,13]. Oznacza to, że zarówno skuteczność przeciwnowotworowa DOX jak i wywoływana przez nią kardiomiopatia mogą mieć swoje źródło wyłącznie w oddziaływaniu z Top2.

Na poparcie tej tezy wskazano, że genetycznie modyfikowane myszy z delecją genu Top2- β w tkankach serca są odporne na kardiotoxyczne skutki podania DOX [14]. Autorzy wysunęli przypuszczenie, że zmodyfikowane analogi wykazujące specyficzne powinowactwo tylko do izoformy α mogą być wolne od kardiotoxycznych skutków przy zachowaniu skuteczności wobec zmian neoplastycznych. Brakuje jednak wystarczającej ilości badań *in vivo* oraz testów klinicznych, by można było orzec trafność tego stwierdzenia.

Mocnym argumentem popierającym przedstawione teorie jest wyjaśnienie niejednoznacznej efektywności

wspomnianego wcześniej deksrazoksanu. Skuteczność tej substancji w ograniczaniu rozwoju kardiomiopatii u pacjentów leczonych DOX jest niezaprzeczalna [2]. Wielu naukowców przychyliających się do wolnorodnikowej teorii działania DOX przypisywało ochronne działanie deksrazoksanu chelatowaniu jonów żelaza i traktowało je jako pewnego rodzaju potwierdzenie swoich domniemywań. Nie było jednak jasne, dlaczego inne chelatory lub substancje wylapujące wolne rodniki nie wykazywały podobnych efektów. Dopiero wraz ze skupieniem uwagi na Top2 zauważono, że deksrazoksan jest łatwo wchłaniany przez miokardium i wiąże się z Top2- β w kardiomiocytach. Powoduje to zmiany strukturalne w cząsteczce uniemożliwiające związanie się Top2- β z DOX [13]. Powinowactwo do Top2- β jest cechą specyficzną dla deksrazoksanu i nie posiadają jej inne substancje chelatujące jony żelaza, co może tłumaczyć ich nieskuteczność w zapobieganiu kardiomiopatii wywołanej przez antracykliny.

IV.b Uszkodzenia chromatyny

Niektóre zespoły badawcze zwracają uwagę na jeszcze jedną cechę szczególną antracyklin, mianowicie powodowane przez nie wyrzucanie histonów z chromatyny. Wszystkie z dopuszczonych do użytku klinicznego antracyklin (doksorubicyna, daunorubicyna, epirubicyna oraz idarubicyna) powodowały w badaniach destabilizację chromatyny poprzez wyrzucenie do cytoplazmy histonu H2A [15,16]. Według doświadczeń aktywność ta ma równie kluczowe znaczenie dla cytotoksyczności doksorubicyny co wiązanie topoizomerazy.

Kontrargumentem dla roli Top2 jest stwierdzenie, że samo powinowactwo do tego enzymu nie jest wystarczające do zapewnienia powodowanych przez DOX efektów. Etopozyd, lek spoza grupy antybiotyków antracyklinowych, posiada zdolność do wiązania Top2 i uszkodzania DNA, jednak jego indeks terapeutyczny jest znacznie niższy niż DOX i jej analogów. Z drugiej strony antracyklinowa pochodna DOX - akklarubicyna nie jest zdolna do wywoływania pęknięć DNA, jednak wykazuje podobną efektywność jako lek przeciwnowotworowy. Prowadzi jednak, jak pozostałe antracykliny, do wyrzucenia histonów z chromatyny. Zarówno etopozyd, jak i akklarubicyna nie powodują natomiast rozwoju kardiomiopatii [16].

Z przedstawionych faktów można wyciągnąć trzy ważne wnioski: po pierwsze, mechanizm wyrzucania histonów przez antracykliny jest niezwiązany z powinowactwem do Top2 oraz indukcją uszkodzeń DNA. Po drugie, przyczynia się on do działania przeciwnowotworowego tych związków, na co wskazuje przykład akklarubicyny. Po trzecie, dopiero współwystępowanie obu mechanizmów kojarzone jest z rozwojem kardiomiopatii - skutek ten nie pojawia się w przypadku leków bazujących na tylko jednym z nich.

Autorzy tych badań zwracają uwagę, że różnicy w skutkach ubocznych tych związków nie można tłumaczyć produkcją wolnych rodników, gdyż akklarubicyna ma znacznie wyższy potencjał redoks niż DOX przy jednoczesnym braku kardiotoxyczności oraz zbliżonej, ale jednak niższej skuteczności antynowotworowej [16].

V. Podsumowanie

Ogromny potencjał antracyklin w zwalczaniu zmian nowotworowych jest motywatorem do dalszych prób udoskonalenia tych cząsteczek i eliminacji skutków ubocznych. Dotychczas opracowane metody, na przykład zamknięcie DOX w liposomach lub powolne dozowanie leku doprowadziły do zmniejszenia częstotliwości incydentów sercowo-naczyniowych [3], ale ryzyko kojarzone z zastosowaniem tych leków nadal jest stosunkowo duże, a koszt liposomalnych form wysoki. Modyfikacje chemiczne prowadzą do powstania kolejnych analogów, ale bez zrozumienia podstaw działania przypomina to poszukiwania na oślep.

Pomimo upływu 60 lat od odkrycia nadal trudno by mówić o konsensusie co do sposobu funkcjonowania doksorubicyny. Wraz z rozwojem wiedzy i zrozumieniem coraz bardziej subtelnych zagadnień powstają nowe teorie, wszystkie wnoszące nowe spojrzenie i poparte argumentami. Z dużą dozą prawdopodobieństwa każdy z opisanych w tym artykule mechanizmów składa się pewnym stopniu na aktywność biologiczną doksorubicyny, a próba odseparowania od ich siebie i przypisania konkretnym skutkom może wcale się nie powieść. Nie oznacza to jednak, że jest to próba niewarta zachodu.

Obecny stan wiedzy pozwala na wskazanie kilku obiecujących możliwości poprawienia dobrostanu pacjenta poddanemu leczeniu chemioterapeutykami. Nadzieje związane ze skutecznymi analogami wolnymi od kardiotoxycznych skutków są uzasadnione, a dodatkową możliwością stanowi wykorzystanie substancji

towarzyszących takich jak deksrazoksan. Brakującym ogniwem jest natomiast powiązanie podstaw strukturalnych przyczyniających się do różnic w aktywności biologicznej, i właśnie na tym polu powinny się skupić dalsze badania.

References

1. Arcamone F, Cassinelli G, Fantini G, et al. Adriamycin, 14-hydroxydaunomycin, a new antitumor antibiotic from *S. Peucetius* var. *caesius*. *Biotechnol Bioeng*. 1969;11(6):1101-1110. doi:10.1002/bit.260110607
2. Minotti G. Anthracyclines: Molecular Advances and Pharmacologic Developments in Antitumor Activity and Cardiotoxicity. *Pharmacol Rev*. 2004;56(2):185-229. doi:10.1124/pr.56.2.6
3. Rivankar S. An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy. *J Cancer Res Ther*. 2014;10(4):853-858. doi:10.4103/0973-1482.139267
4. Gewirtz D. A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumour effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunomycin. *Biochem Pharmacol*. 1999;57(98):727-741.
5. Pang B, Qiao X, Janssen L, et al. Drug-induced histone eviction from open chromatin contributes to the chemotherapeutic effects of doxorubicin. *Nat Commun*. 2013;4:1908. doi:10.1038/ncomms2921
6. Long BH, Willis CE, Prestayko AW, Crooke ST. Effect of anthracycline analogues on the appearance of newly synthesized total RNA and messenger RNA in the cytoplasm of erythroleukemia cells. *Mol Pharmacol*. 1982;22(1).
7. McGowan J V., Chung R, Maulik A, Piotrowska I, Walker JM, Yellon DM. Anthracycline Chemotherapy and Cardiotoxicity. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2017;31(1):63-75. doi:10.1007/s10557-016-6711-0
8. Swain SM, Whaley FS, Ewer MS. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: a retrospective analysis of three trials. *Cancer*. 2003;97(11):2869-2879. doi:10.1002/CNCR.11407
9. Mollova M, Bersell K, Walsh S, et al. Cardiomyocyte proliferation contributes to heart growth in young humans. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013;110(4):1446-1451. doi:10.1073/PNAS.1214608110/SUPPL_FILE/SM06.MOV
10. Cervantes A, Pinedo HM, Lankelma J, Schuurhuis GJ. The role of oxygen-derived free radicals in the cytotoxicity of doxorubicin in multidrug resistant and sensitive human ovarian cancer cells. *Cancer Lett*. 1988;41(2):169-177. doi:10.1016/0304-3835(88)90113-9
11. Keizer HG, Pinedo HM, Schuurhuis GJ, Joenje H. Doxorubicin (adriamycin): A critical review of free radical-dependent mechanisms of cytotoxicity. *Pharmacol Ther*. 1990;47(2):219-231. doi:10.1016/0163-7258(90)90088-J
12. Turley H, Comley M, Houlbrook S, et al. The distribution and expression of the two isoforms of DNA topoisomerase II in normal and neoplastic human tissues. *Br J Cancer*. 1997;75(9):1340. doi:10.1038/BJC.1997.227
13. Henriksen PA. Anthracycline cardiotoxicity: An update on mechanisms, monitoring and prevention. *Heart*. 2018;104(12):971-977. doi:10.1136/heartjnl-2017-312103
14. Vejpongsa P, Yeh ETH. Topoisomerase 2 β : a promising molecular target for primary prevention of anthracycline-induced cardiotoxicity. *Clin Pharmacol Ther*. 2014;95(1):45-52. doi:10.1038/CLPT.2013.201
15. Pang B, Qiao X, Janssen L, et al. Drug-induced histone eviction from open chromatin contributes to the chemotherapeutic effects of doxorubicin. *Nat Commun*. 2013;4(May):1908-1913. doi:10.1038/ncomms2921
16. Qiao X, Van Der Zanden SY, Wander DPA, et al. Uncoupling DNA damage from chromatin damage to detoxify doxorubicin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020;117(26):15182-15192. doi:10.1073/pnas.1922072117