

Interferon  $\alpha$  jest cytokiną powszechnie zaakceptowaną do leczenia niektórych schorzeń infekcyjnych i nowotworowych. Jest podawany przynajmniej kilka razy w tygodniu ze względu na szybką eliminację z organizmu. Aby uzyskać zmniejszenie częstości podawania i zwiększenie skuteczności cząsteczkę interferonu  $\alpha$  poddano pegylacji. Pegylacja jest procesem polegającym na przyłączeniu jednego lub więcej łańcuchów glikolu polietylenowego do cząsteczki białka, co umożliwia stworzenie bariery ochronnej zapobiegającej szybkiej absorpcji, metabolizmowi i wydalaniu interferonu. Skuteczność pegylovaných interferonów –  $\alpha 2a$  i  $\alpha 2b$  była oceniana w leczeniu wirusowego zapalenia wątroby typu C i B, przewlekłej białaczce szpikowej i przerzutowym raku nerki. Wyniki badań klinicznych wskazują, że pegylowany interferon  $\alpha$  ma korzystniejszą farmakokinetykę i podobne objawy uboczne. Ocena skuteczności i objawów niepożądanych pegylovaného interferonu w porównaniu z interferonem  $\alpha$  wymaga jeszcze dalszych badań klinicznych.

Słowa kluczowe: cytokiny, interferon, pegylacja.

Interferon  $\alpha$  is a cytokine currently approved worldwide for a number of anti-infective and antiproliferative indications. It is administered at least several times per week because of its rapid clearance from the body. To reduce the frequency of administration, and potentially to increase efficacy interferon  $\alpha$  molecules are modified by pegylation. Pegylation is a process, in which one or more chains of polyethylene glycol are attached to the interferon  $\alpha$  molecule, providing a selectively protective barrier from rapid absorption, metabolism and elimination. The efficacy of pegylated interferon- $\alpha 2a$  and interferon- $\alpha 2b$  was evaluated for the treatment hepatitis C and B, chronic myelogenous leukemia and metastatic renal cell carcinoma. Data from clinical trials indicated that pegylated interferon  $\alpha$  has distinct pharmacokinetic advantages compared to interferon  $\alpha$  and a tolerable side effect profile. The efficacy and toxicity of pegylated interferon  $\alpha$  will be further assessed in clinical trials and compared with interferon  $\alpha$ .

Key words: cytokines, interferon, pegylation.

# Pegylowane interferony

## Pegylated interferons

Joanna Niesiołbiedzka-Krężel, Monika Paluszewska

Katedra i Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej w Warszawie

### WSTĘP – CZYLI CO TO SĄ CYTOKINY

Interferon należy do cytokin. Cytokiny są cząsteczkami informacyjnymi, wydzielanymi przez komórki w celu spowodowania zmian w innych komórkach. Najczęściej są glikoproteidami. Działają zwykle miejscowo, ale niektóre mogą wywierać wpływy ogólnoustrojowe. Działanie cytokin jest uzależnione od ich połączenia z receptorem. Jest to warunek konieczny, aby mogło dojść do przekazania informacji komórce docelowej. Receptory charakteryzują się swoistością, czyli mają zdolność wiązania tylko jednej, ściśle określonej cytokiny. Zbudowane są ze składowej zewnątrzkomórkowej (do której przyłącza się cytokina), wewnątrzkomórkowej oraz systemu przekazywania informacji wewnątrz komórki do jej jądra. Są też receptory tzw. rozpuszczalne, czyli nie związane z błoną komórkową. Cytokiny wywierają 3 rodzaje działań:

- ▶ wpływają na przeżycie komórek. Ich niedobór lub brak uruchamia apoptozę, czyli genetycznie uwarunkowaną śmierć komórki. Są także cytokiny czynnie pobudzające apoptozę, np. TNF- $\alpha$  (czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$ );
- ▶ pobudzają rozmnażanie młodych komórek określonej linii różnicowania (np. G-CSF: czynnik stymulujący kolonie granulocytarne, GM-CSF: czynnik stymulujący kolonie granulocytarno-makrofagowe) oraz mają działanie antyproliferacyjne (np. TGF- $\beta$ : transformujący czynnik wzrostu  $\beta$ );
- ▶ wpływają na funkcje dojrzałych komórek, pobudzając lub hamując określone reakcje (np. interferony).

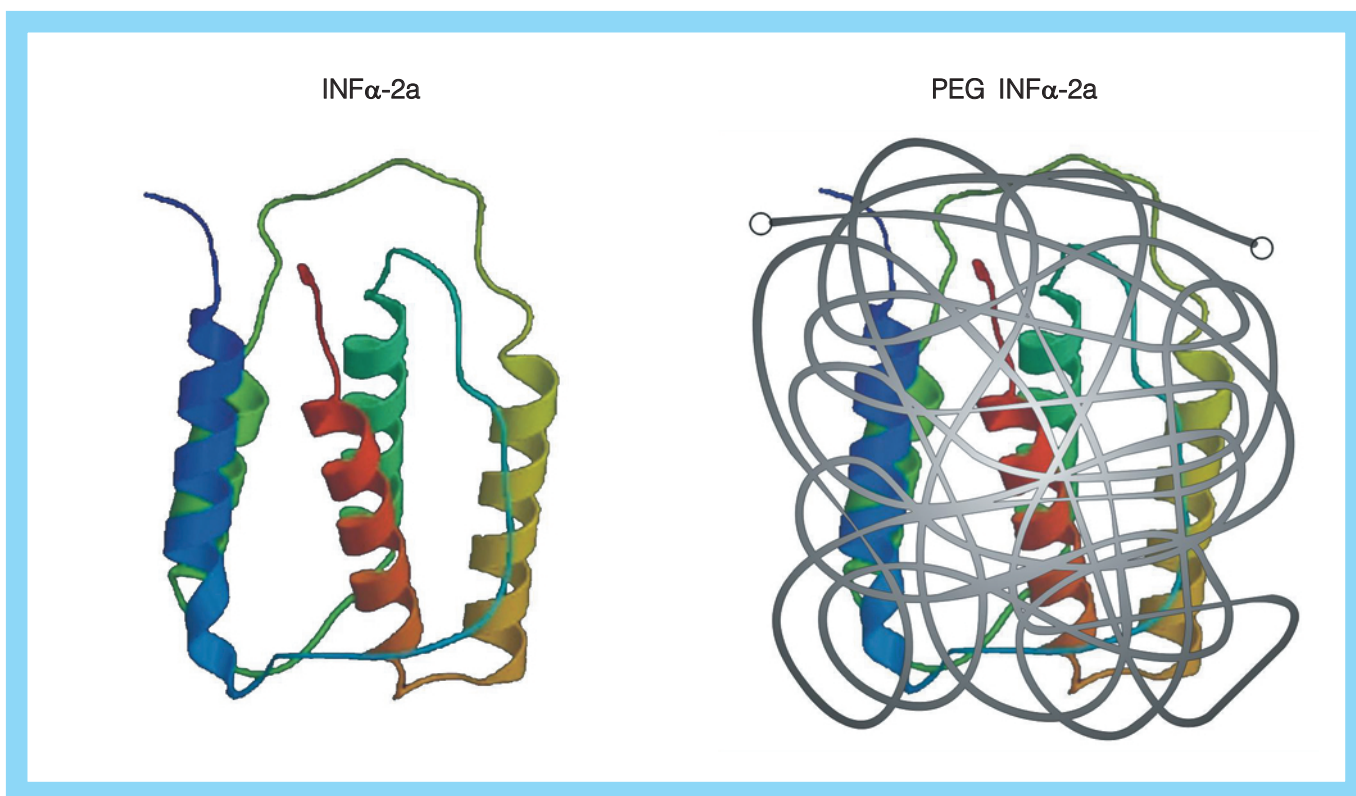
Cytokiny mogą wpływać na komórki bezpośrednio lub pośrednio przez indukcję wydzielania innych cytokin. Niektóre cytokiny zostały wykorzystane jako leki (lub są pod tym kątem badane), co nosi nazwę bioterapii. Stało się to możliwe z chwilą rozwoju inżynierii genetycznej. Tylko wyjątkowo uzyskuje się cytokiny ze źródeł naturalnych, czego przykładem może być otrzymywanie interferonu z nadsącza hodowli limfocytów ludzkich. Głównym sposobem produkcji jest uzyskanie rekombinowanych cytokin. Dzieje się to poprzez wyizolowanie genu odpowiedzialnego za wytwarzanie danej cytokiny u człowieka i wprowadzenie go (za pomocą specjalnego nośnika, tzw. wektora ekspresyjnego) do ho-

dowli komórkowej otrzymanej z komórek bakterii, drożdży, owadów lub ssaków. Następnie zaś powoduje się wytwarzanie produktu tego genu w danej hodowli. Rekombinowane cytokiny nie różnią się od naturalnych sekwencją aminokwasów, a jedynie stopniem glikozylacji, co nie wpływa na ich swoistość.

Do oceny cytokin stosowane są klasyczne parametry farmakokinetyczne. Drogą podania jest wstrzyknięcie, zwykle podskórne lub domięśniowe, w celu przedłużenia czasu wchłaniania i komfortu stosowania ich jako leku w warunkach ambulatoryjnych. Biologiczny okres półtrwania dla większości cytokin jest krótki i trwa do kilku godzin, co powoduje konieczność częstych iniekcji (codziennie, 2 razy dziennie lub w najlepszym przypadku co drugi dzień). Tak częste stosowanie leku jest niewygodne (szczególnie biorąc pod uwagę konieczność długotrwałego, nawet kilkunastomiesięcznego, leczenia), dlatego też rozpoczęto prace nad utrzymaniem postaci o przedłużonym działaniu, która mogłaby być podawana co kilka dni. Jedną z pierwszych cytokin, która jest pod tym kątem opracowywana jest interferon [1, 2].

Interferon, a raczej interferony ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) są w warunkach naturalnych wytwarzane w odpowiedzi na zakażenia wirusowe lub stymulację antygenową przez makrofagi, monocyty, limfocyty B i T, komórki NK (naturalne komórki cytotoksyczne), nabłonki i fibroblasty. Obecnie są także wytwarzane w postaci rekombinowanej. Interferony  $\alpha$  znalazły zastosowanie w leczeniu chorób infekcyjnych (przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby) i nowotworowych (raka nerki, czerniaka, przewlekłej białaczki szpikowej i innych nowotworowych chorób krwi). (Interferony  $\beta$  i  $\gamma$  nie znalazły dotąd zastosowania w leczeniu chorób nowotworowych i nie będą omawiane).

Przeciwnowotworowa aktywność interferonu  $\alpha$  ma charakter bezpośredni i pośredni. Hamuje aktywność syntetazy 2'5'-oligoadenylowej i moduluje onkogeny komórkowe wydłużając w efekcie cykl podziałowy. Wywołuje niedobór metabolitów niezbędnych do podziałów komórkowych i hamuje aktywność dekarboksylazy ornitynowej. Wpływ pośredni



Ryc. 1. Graficzne wyobrażenie interferonu  $\alpha$  i pegylowanego interferonu  $\alpha$ .

jest następstwem działania immunomodulującego. Wpływa zarówno na odporność komórkową, jak i humoralną. Stymuluje produkcję przeciwciał przeciwnowotworowych, aktywizuje cytotoksyczne działanie makrofagów, komórek NK i limfocytów. Zwiększa ekspresję antygenów zgodności tkankowej HLA na komórkach nowotworowych, przez co ułatwia ich rozpoznawanie przez komórki układu odpornościowego. Komercyjnie dostępne są preparaty różnych interferonów  $\alpha$  (INF- $\alpha$ ).

INF- $\alpha$  może być podawany dożylnie, domięśniowo lub podskórnie. Dostępność biologiczna wynosi powyżej 80 proc., maksymalne stężenie w surowicy jest osiągnięte po ok. 3,8 godz. (po podaniu domięśniowym). Metabolizowany jest w nerkach i wątrobie, a wydalany z moczem oraz w niewielkich ilościach z żółcią [1, 2, 3].

## PEGYLOWANY INTERFERON

Pegylacja jest procesem przyłączania glikolu polietylenowego do cząsteczki białka. Istotą pegylacji jest stworzenie *bariery ochronnej* wokół modyfikowanej molekuly (ryc. 1.). Efektem staje się zmiana właściwości farmakokinetycznych i farmakodynamicznych, a w rezultacie wydłużenie czasu pożądanego stężenia badanej substancji. Dłuższy jest okres wchłaniania, wolniejsze procesy metaboliczne, dłuższa eliminacja z organizmu. Czas trwania powyższych przemian zależy od struktury cząsteczki glikolu polietylenowego: długości łańcucha, tego czy ma on charakter liniowy czy rozgałęziony, jaki jest rodzaj wiązania i jego miejsce, oraz ile cząsteczek glikolu zostało przyłączonych

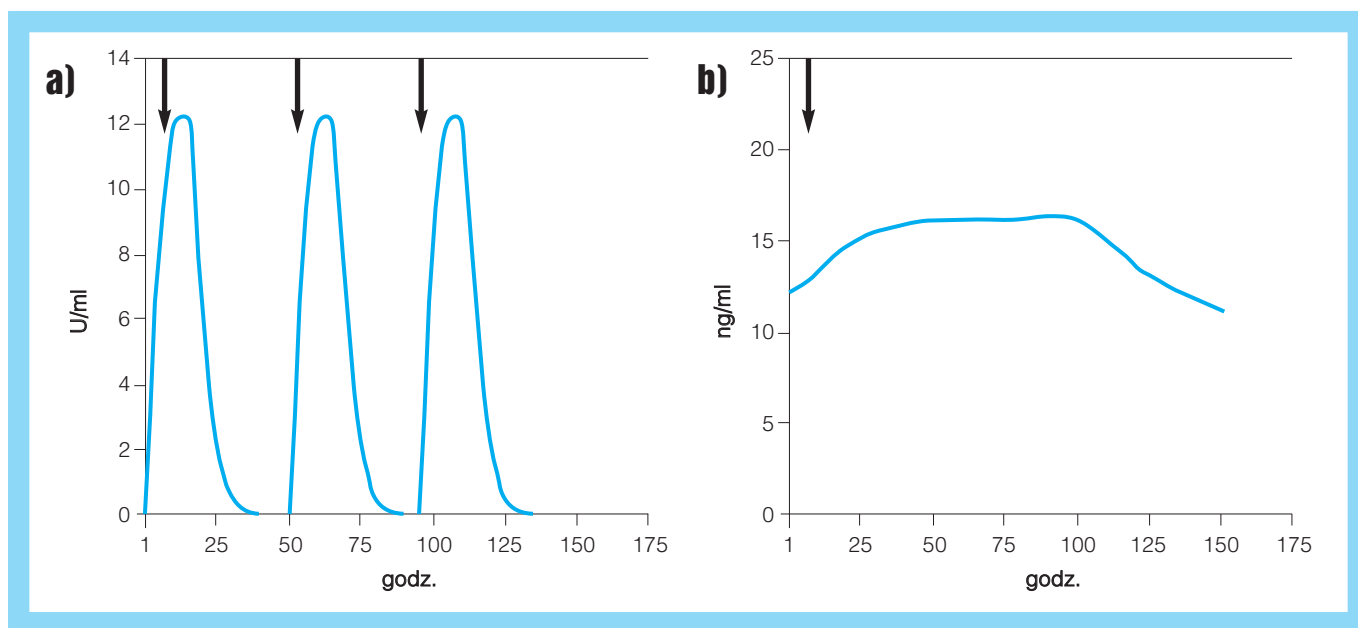
do badanego związku. Proces ten został wykorzystany w celu zmiany właściwości niektórych protein stosowanych w leczeniu w tym także interferonu. Ideą jest uzyskanie leku skuteczniejszego, bezpieczniejszego i jednocześnie łatwiejszego w stosowaniu (bardziej *przyjaznego* pacjentowi) [4].

Pegylacja nie wpływa na sposób wiązania zmienionego interferonu z jego receptorem, dzięki czemu nowy lek może być stosowany dla tych samych celów, co jego postać pierwotna. Obecnie poddane są badaniom klinicznym 2 postaci pegylowanego interferonu  $\alpha$ : interferon  $\alpha$ -2a i interferon  $\alpha$ -2b. Interferon  $\alpha$ -2b (Peg INF $\alpha$ -2b) został poddany procesowi pegylacji przy zastosowaniu łańcucha glikolu polietylenowego o budowie liniowej i niewielkiej masie cząsteczkowej (12 kDa). Pegylowany interferon  $\alpha$ -2a (Peg INF $\alpha$ -2a) powstaje dzięki przyłączeniu, wiązaniem kowalencyjnym, do INF $\alpha$ -2a, który stanowi jądro nowego związku, rozgałęzionej cząsteczki glikolu polietylenowego o dużej masie (40 kDa). Różnice w procesie przekształcania interferonu sprawiają, że profile farmakokinetyczne obu związków są różne. Pegylowany interferon  $\alpha$ -2b (Pegintron) osiąga maksymalne stężenie w surowicy po 8–12 godz. od chwili podania, utrzymuje się ono przez 48–72 godz., a czas półtrwania jest określony na 54 godz. Peg INF $\alpha$ -2a (Pegasys) dzięki swojej budowie jest wchłaniany wolno i jednostajnie. Pojawia się w surowicy już po upływie 3–8 godz. od iniekcji, ale ze względu na przedłużoną absorpcję maksymalne stężenie osiąga po 80 godz. Klirens nerkowy tej postaci interferonu jest 10 razy dłuższy od standardowego. Prze-

dłużone wchłanianie i zwolniona eliminacja sprawiają, że stężenie terapeutyczne trwa przez 168 godz. Pegylowane interferony stosowane są raz w tygodniu [5, 6].

Zanim osiągnięto taki stopień wiedzy o postaci pegylowanej prowadzone były badania przedkliniczne (przy zastosowaniu hodowli komórkowych i zwierząt laboratoryjnych) oraz wstępne badania kliniczne. Należało ocenić nie tylko właściwości farmakologiczne nowego leku, ale przede wszystkim jego skuteczność przeciwnowotworową i przeciwwirusową oraz profil bezpieczeństwa. Badania te są bardzo zaawansowane, ale nie zostały jeszcze zakończone, dlatego wnioski nie mają charakteru ostatecznego.

W badaniach przedklinicznych stwierdzono, że pegylowany interferon łączy się z receptorem dla INF $\alpha$ -2a i wywiera *in vitro* tę samą lub nawet większą aktywność biologiczną (prace te były prowadzone przy użyciu syntetazy 2'5'-oligoadenylowej). Badania z wykorzystaniem hodowli komórkowych przeprowadzono *zakażając* taką hodowlę wirusem zapalenia wątroby i podając INF $\alpha$ -2a lub postać pegylowaną. Wyniki badania efektu przeciwwirusowego w obu hodowlach były podobne. Analogiczną próbę przeprowadzono z użyciem hodowli komórek nowotworowych – tu też skuteczność formy modyfikowanej była porównywalna lub nawet większa. Odbłyto się także badanie na myszach, którym wszczepiono komórki ludzkiego raka nerki i przy użyciu pegylowanego interferonu osiągnięto zahamowanie wzrostu guza, a następnie jego regresję [5, 6].



Ryc. 2. Krzywe utrzymywania się interferonu w surowicy krwi. Wykres lewy (a): niezmodyfikowany interferon. Wykres prawy (b): pegylowany interferon. Strzałki oznaczają czas podania leku

Badania kliniczne weszły już w 3 fazę. Początkowo były prowadzone próby porównawcze u zdrowych ochotników, a następnie wśród chorych z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby oraz pacjentów z czerniakiem, rakiem nerki i przewlekłą białaczką szpikową. We wszystkich tych grupach interferon pegylowany był oceniany jako co najmniej tak samo skuteczny lub nawet lepszy od postaci tradycyjnej.

Najwięcej obserwacji poczyniono wśród pacjentów z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby, zarówno typu B, jak i typu C. Prowadzone były badania przy użyciu postaci modyfikowanej lub klasycznej, u osób z rozwiniętą już marskością wątroby lub bez niej, w monoterapii oraz w terapii złożonej w połączeniu z ribawiryną. Wyniki tych badań są zachęcające, skuteczność leczenia oraz jego tolerancja wydaje się być lepsza przy zastosowaniu interferonu pegylowanego w stosunku do postaci niemodyfikowanej [7].

W przypadku raka nerki w stadium zaawansowanym miejscowo lub z obecnością przerzutów odległych rokowanie jest złe, a przeżycie krótkie. W obliczu tego osiągnięcie częściowej remisji u 18,5 proc. pacjentów (przez 1 do 1,5 roku), przeżycia 6-miesięcznego u 93 proc. chorych, a rocznego u 81 proc. przy zastosowaniu pegylowanego interferonu jest więc sukcesem [8].

Przewlekła białaczka szpikowa jest kolejnym schorzeniem, w którym interferon przyczynił się do poprawy rokowania. Jest on lekiem z wyboru dla osób, u których ze względu na wiek lub brak dawcy (rodzinnego czy niespokrewnionego, zgodnego pod względem antygenowym) nie można wykonać przeszczepienia szpiku. Mechanizm działania interferonu nie został w pełni poznany. Uważa się, że

pod jego wpływem dochodzi do zmian w mikrośrodkowisku szpiku i w efekcie do lepszego przylegania komórek białaczkowych do zrzębu, co umożliwia skuteczniejszą kontrolę fizjologicznych mechanizmów proliferacji i dojrzewania. Na temat bezpośredniego i pośredniego działania przeciwnowotworowego interferonu pisano powyżej. Remisję hematologiczną uzyskuje się w 70–80 proc., całkowitą lub częściową remisję cytogenetyczną (czyli eliminację chromosomu Philadelphia) udaje się osiągnąć u 20–30 proc. pacjentów, znacznie rzadziej, niestety, stwierdza się remisję molekularną (czyli brak komórek z genem hybrydowym *bcr/abl*), która jest stwierdzana jedynie u 5 proc. badanych. Interferon jest stosowany początkowo w dawce od 3 do 10 mln j./dobę, a następnie w dawce podtrzymującej tak, aby utrzymać liczbę krwinek białych na poziomie  $2-4 \times 10^9/l$ . Czas trwania leczenia nie jest ściśle ustalony i wynosi zazwyczaj 12–18 mies. (choć są też propozycje, aby trwało ono do 3 lat).

Jak wspomniano, okres półtrwania interferonu jest krótki i musi on być podawany codziennie, dlatego obiecującym lekiem stał się interferon o przedłużonym działaniu, czyli postać pegylowana. Interferon klasyczny podawany jest codziennie i wykres jego stężeń w surowicy krwi przypomina swym wyglądem sinusoidę (ryc. 2a). Działa więc na komórki nowotworowe tylko w pewnych okresach. Interferon pegylowany, dzięki długiemu czasowi działania, ma możliwość osiągnięcia fazy *plateau* (ryc. 2b). Stężenie leku jest wtedy bardziej stabilne i działa on przez całą dobę, co może spowodować zwiększenie jego efektywności [5].

Badania prowadzone u chorych z przewlekłą białaczką szpikową nie zostały zakończone, nie ma więc na ten temat zbyt wielu danych. Ze wstępnych doniesień wynika

już, że preparat ten jest mniej toksyczny, wygodniejszy w podawaniu i równie skuteczny lub lepszy w stosunku do postaci niemodyfikowanej. Podawano lek w grupie 43 chorych w fazie akceleracji (łącznie z arabinozydem cytozyny lub w monoterapii) i uzyskano całkowitą remisję hematologiczną u 84 proc. pacjentów, dużą odpowiedź cytogenetyczną u 19 proc. osób i całkowite przeżycie podczas 12-miesięcznej obserwacji u 95 proc. (nieco lepsze wyniki były w grupie terapii wielolekowej) [9].

We wszystkich grupach pacjentów, którzy otrzymywali pegylowany interferon oceniano jego działania niepożądane oraz porównywano je z działaniami ubocznymi, które występują po zastosowaniu interferonu niemodyfikowanego. Nie zanotowano nowych objawów, a stopień nasilenia już znanych był podobny lub mniejszy do obserwowanych podczas terapii interferonem klasycznym. Były to głównie: objawy grypopodobne (tj. gorączka, dreszcze, uczucie zimna, bóle mięśniowe), bóle i zawroty głowy, brak apetytu, chudnięcie, nudności, wymioty, biegunka, zmiany skórne w miejscu wstrzyknięcia, depresja. Stopień ich nasilenia był niewielki lub umiarkowany. Jeśli chodzi o nieprawidłowości w badaniach laboratoryjnych to obserwowano głównie podwyższone stężenie enzymów wątrobowych, zaburzenia stężenia elektrolitów, zmniejszenie liczby leukocytów, granulocytów i krwinek płytkowych. Zmiany występowały przede wszystkim w początkowym okresie leczenia, a potem często zmniejszały się lub nawet ustępowały pomimo kontynuowania terapii. Można to wytłumaczyć powstaniem przeciwciał przeciw pegylowanemu interferonowi, które stają się powodem obniżenia stężenia leku w surowicy (sytuacja taka była obserwowana w przypadku interferonu klasycznego, dlatego i tu nie była ona zaskoczeniem) [6, 8, 9].

## PODSUMOWANIE

Badania dotyczące pegylowanego interferonu trwają i na ostateczne wyniki musimy jeszcze poczekać. Na podstawie dotychczas uzyskanych informacji można wnioskować, że postać zmodyfikowana ma szansę zastąpić klasyczną formę leku. Jest ona bowiem prawdopodobnie bardziej skuteczna, lepiej tolerowana i mniej toksyczna. Możliwość podawania raz w tyg. jest nie tylko wygodniejsza dla pacjenta (co poprawia komfort leczenia i stopień przestrzegania zaleceń), ale także zapewnia bardziej stabilne stężenie substancji czynnej w surowicy, dzięki czemu działa ona na komórki nowotworowe przez całą dobę, co pozwala mieć nadzieję na bardziej efektywną ich eliminację.

## PIŚMIENNICTWO

1. Jędrzejczak WW, Podolak-Dawidziak M. *Cytokiny zastosowanie kliniczne*. Volumed, Wrocław 1997.
2. Robak T. *Biologia i farmakologia cytokin*. PWN, Warszawa – Łódź 1995.
3. Robak T. *Cytokiny w leczeniu chorób krwi*. Acta Haematol Pol 1995; 26, supp 1, 72-8.
4. Delgado C, Francis GE, Fisher D. *The uses and properties of PEG-linked proteins*. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst 1992; 9 (3-4): 249-304.
5. Nieforth K, Nadeau R, Patel IH, Mould D. *Use of an indirect pharmacodynamic stimulation model of MX protein induction to compare in vivo activity of interferon  $\alpha$ -2a and a polyethylene glycol-modified derivative in healthy subjects*. Clin Pharmacol Ther 1996; 59: 636-46.
6. Paul G, et al. *Pegylated interferon -  $\alpha$ -2b: pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety, and preliminary efficacy data*. Clin Pharmacol Ther 2000; 68: 556-67.
7. Algranati NE, Sy S, Modi M. *A branched methoxy 40Kda polyethylene glycol (PEG) moiety optimizes the pharmacokinetics (PK) of PEG-interferon  $\alpha$ -2a (PEG-INF) and may explain its enhanced efficacy in chronic hepatitis C*. Hepatology 1999; 30: 190.
8. Motzer RJ, et al. *Phase I trial of 40-kd branched pegylated interferon  $\alpha$ -2a for patients with advanced renal cell carcinoma*. J Clin Oncol 2001; 19; 5: 1312-19.
9. Talpaz M, Cortes J, O'Brein S, et al. *Phase I study of polyethylene glycol (PEG) interferon  $\alpha$ -2b (Intron A) in CML patients*. Blood 1998; 92 (supp1) 251.

## ADRES DO KORESPONDENCJI

lek. med. **Joanna Niesłobędzka-Krężel**  
Klinika Hematologii, Onkologii  
i Chorób Wewnętrznych  
Akademii Medycznej  
ul. Banacha 1a  
02-097 Warszawa

## WSKAZÓWKI DLA AUTORÓW

*Współczesna Onkologia* publikuje prace oryginalne z dziedziny onkologii doświadczalnej i klinicznej (w tym opisy przypadków), artykuły przeglądowe, streszczenia ze zjazdów i konferencji oraz listy do redakcji. Oryginalny manuskrypt, dwie kopie oraz 3,5 in. dyskietka zawierająca tekst pracy powinny być przesłane pod adresem redakcji lub pod adresem:

**prof. Andrzej Mackiewicz**  
**Zakład Immunologii Nowotworów**  
**Wielkopolskie Centrum Onkologii**  
**ul. Garbary 15, 61-866 Poznań**  
**tel. (0-61) 854 06 65; fax (0-61) 852 85 02**  
**e-mail: amac@amu.edu.pl**

Artykuły powinny być napisane w języku polskim i być zorganizowane w następujący sposób: 1) tytuł (w języku polskim i angielskim); 2) imiona, nazwiska i tytuły naukowe autorów; 3) instytucja, w której praca została wykonana; 4) streszczenia w języku polskim (150 słów) i angielskim (350 słów); 5) słowa kluczowe (polskie i angielskie); 6) wstęp; 7) materiał i metody; 8) wyniki; 9) omówienie wniosków; 10) podziękowania; 11) piśmiennictwo; 12) pełny adres głównego autora (również numer telefonu, faksu i e-mail).

Objętość tekstu wraz z rycinami nie powinna przekraczać 6 stron maszynopisu. Listy do redakcji nawiązujące lub nie do zamieszczonego artykułu nie powinny przekraczać 1 strony maszynopisu. Mogą zawierać 1 rycinę lub tabelę.

Bibliografia w tekście powinna być numerowana według kolejności cytowania. Numery przypisane odpowiednim pozycjom podajemy w nawiasach kwadratowych. Pozycje piśmiennictwa powinny zawierać nazwiska i inicjały autorów (w wypadku gdy liczba autorów przekracza 8, przedstawiamy 3 pierwsze nazwiska oraz „i wsp.”), skrót nazwy pisma (wg Index Medicus), rok wydania, wolumen oraz strony (pierwszą i ostatnią). Rozdziały w książkach lub monografiach powinny być cytowane w następujący sposób: nazwisko i inicjały autorów, tytuł rozdziału, tytuł książki, nazwisko i inicjał redaktora książki, wolumen, nazwa wydawcy, miejsce wydania, rok, strony.

## Przykłady:

artykuł: Paskiewitz S, Riehle MA. *Dev Comp Immunol* 1994; 18: 369-75.

książki: Zatoński WA. *Nowotwory złośliwe w Polsce*. Wiedza i Życie, Warszawa 1993.

Rozdziały w książkach: Schranz D, Morkowski S, Abelev G. *Affinity isotachoforesis on porous membranes*. W: *Affinity electrophoresis: principles and application*, J. Bręborowicz, A. Mackiewicz (red.) CRC Press, Boca Raton, Ann Arbor, London 1992; 61-70.

Ryciny mogą być przygotowane w formie czarno-białej lub w kolorze. W wypadku przygotowania w formie elektronicznej ryciny powinny być zapisane w jednym z wymienionych formatów: cdr, tiff, jpg, ai lub eps. Natomiast fotografie przesyłane do nas w formie elektronicznej powinny posiadać rozdzielczość 300 dpi oraz rozszerzenia tiff lub jpg. Tabele powinny być dostarczone w formie maszynopisu i zawierać tytuł w języku polskim i angielskim (również na dyskietce). Opisy do rycin i tabel (w języku polskim i angielskim) powinny być załączone na oddzielnych stronach.

Redakcja