

Received: 2007.02.07
Accepted: 2007.04.15
Published: 2007.05.29

Bewacizumab – postęp w leczeniu nowotworów z przerzutami i nadzieja pacjentów z retinopatią proliferacyjną*

Bevacizumab: Progress in the treatment of metastatic cancer and hope for patients with proliferative retinopathy

Katarzyna Antoniak, Jerzy Z. Nowak

Zakład Farmakologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Streszczenie

Rozwój nowych naczyń krwionośnych na bazie już istniejących (neoangiogeneza) towarzyszy wielu schorzeniom, w tym ciężkim chorobom nowotworowym i schorzeniom okulistycznym prowadzącym do utraty wzroku. Poznanie molekularnych mechanizmów angiogenezy i czynników biorących w niej udział, przede wszystkim czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF), umożliwia opracowywanie leków o bardziej swoistym działaniu i mniejszej cytotoxyczności. W grupie leków antyangiogennych znajdują się substancje otrzymane technikami inżynierii molekularnej – przeciwciała monoklonalne – pozbawione toksycznych działań niepożądanych obserwowanych w trakcie chemioterapii. Jednym z takich leków jest bewacizumab stosowany już u pacjentów z nowotworem jelita grubego i obecny w badaniach klinicznych innych nowotworów z przerzutami. Ze względu na ważną rolę jaką odgrywa VEGF w angiogenezie nowotworowej, a także w neowaskularyzacji plamki żółtej oka, wydaje się uzasadnione zastosowanie bewacizumabu również w leczeniu zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem (AMD). Mimo że już wcześniej stosowano u pacjentów z tym schorzeniem przeciwciała anti-VEGF, to istnieją pewne argumenty, w tym również ekonomiczne, które przemawiają za wprowadzeniem bewacizumabu do lecznictwa okulistycznego.

Słowa kluczowe:

angiogeneza • VEGF • bewacizumab • inhibitory angiogenezy • przeciwciała monoklonalne • nowotwór jelita grubego • zwyrodnienie plamki związane z wiekiem (AMD)

Summary

The formation of new blood vessels from pre-existing vasculature (neoangiogenesis) accompanies many diseases, including cancer and proliferative retinopathy. Knowledge of the molecular mechanisms of angiogenesis and angiogenic factors, especially vascular endothelial growth factor (VEGF), enables the design of drugs more potent and specific in their action and less cytotoxic. Among angiogenesis inhibitors are drugs made by means of genetic engineering, i.e. monoclonal antibodies, devoid of unwanted actions that occur during chemotherapy. One of monoclonal antibodies successfully used in clinical trials in patients with metastatic colorectal cancer is bevacizumab. Because of its inhibitory potential regarding angiogenesis it may be useful in the treatment of age-related macular degeneration (AMD). Although anti-VEGF agents have already

* Praca finansowana przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi w ramach działalności statutowej 503-1023-1.



been used in AMD therapy, there are several arguments, primarily financial, favoring bevacizumab's applicability in ophthalmology.

Key words: angiogenesis • VEGF • bevacizumab • angiogenesis inhibitors • monoclonal antibodies • colorectal cancer • age-related macular degeneration (AMD)

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_61/10478.pdf

Word count: 3952

Tables: 5

Figures: 3

References: 46

Adres autora: prof. dr hab. med. Jerzy Z. Nowak, Zakład Farmakologii, Uniwersytet Medyczny, ul. Żeligowskiego 7/9, 90-752 Łódź; e-mail: jznnowak@pharm.am.lodz.pl

WSTĘP

Opracowywanie nowych, skuteczniejszych leków przeciwnowotworowych wynika z niewystarczającej efektywności dotychczas stosowanych. Leki onkologiczne to substancje działające niewybiórczo, o wąskim współczynniku terapeutycznym. Działanie leków cytostatycznych i antyproliferacyjnych skierowane jest na dwie charakterystyczne cechy choroby nowotworowej, którymi są intensywne podziały komórkowe i ich niekontrolowany wzrost. Już w 1971 r. Folkman uważał, że aby zatrzymać rozwój guza, powinno się uwzględnić inny jego specyficzny element – naczynia krwionośne – dzięki którym nowotwór odżywia się, rośnie i przez które rozprzestrzenia się do innych narządów [44]. Znajomość czynników kontrolujących proces tworzenia nowych naczyń na bazie już istniejących – proces neoangiogenezy, zwanej także neowaskularyzacją lub nowotwórstwem naczyniowym – umożliwił poszukiwanie leków o bardziej specyficznym działaniu i mniejszej toksyczności.

26 lutego 2004 roku został zatwierdzony przez amerykański Departament Kontroli Żywności i Leków (U.S. Food and Drug Administration, Rockville, MD; FDA) do leczenia onkologicznego inhibitor angiogenezy, bewacizumab, produkowany w postaci iniekcji dożylnych pod nazwą Avastin (Genentech). Jest to lek pierwszego wyboru stosowany u chorych z nowotworem jelita grubego z przerzutami w skojarzeniu z chemioterapeutykami.

ANGIOGENEZA W CHOROBIE NOWOTWOROWEJ

W pierwszej fazie rozwoju guz zaopatruje się w substancje odżywcze za pośrednictwem dyfuzji. Po osiągnięciu rozmiarów 1–3 mm, w wyniku tworzącej się we wnętrzu guza hipoksji (ryc. 1), komórki nowotworowe pobudzają różne geny, których ekspresja prowadzi do syntezy czynników stymulujących powstawanie nowych naczyń krwionośnych. Przyrost masy nowotworu i jego przerzuty do innych narządów zależą od rozwoju naczyń [42]. Niezbędna w życiu i w rozwoju człowieka angiogeneza, w przypadku nowotworu jest świadectwem postępującej choroby.

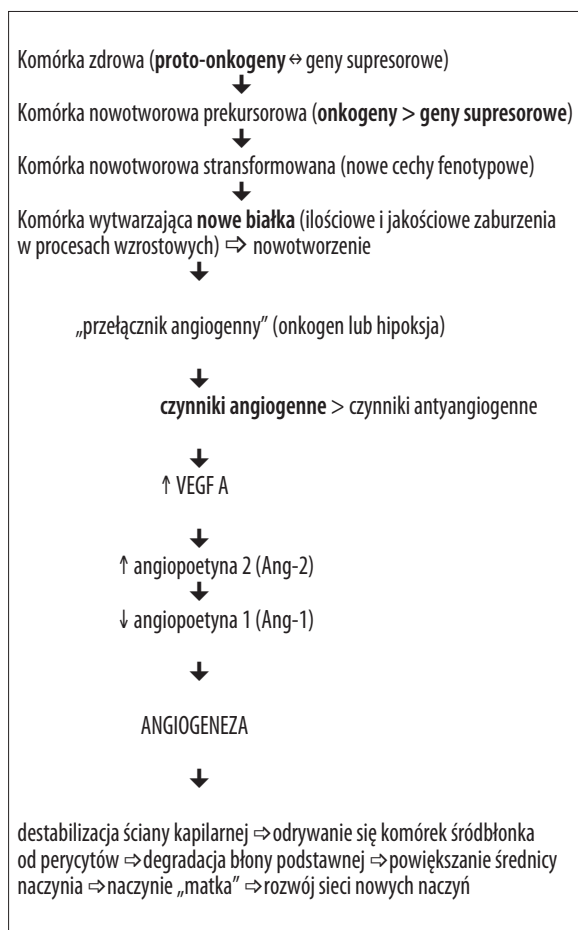
Angiogeneza to złożony proces, zwiastuje go przewaga czynników proangiogennych nad antyangiogennymi. Powstawanie naczyń krwionośnych zachodzi z udziałem

takich czynników jak: angiogenina, angiopoetyna, czynnik wzrostu fibroblastów (FGF), transformujący czynnik wzrostu (TGF), płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF) oraz - jak się wydaje najważniejszy – czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF). Natomiast angiogenezę hamują, m.in.: czynnik pochodzący z nabłonka barwnikowego (PEDF), angiostatyna, endostatyna i trombospodyna [19,25]. Pełniejszą listę czynników pro- i antyangiogennych przedstawia tabela 1 [11,29].

Pośród substancji proangiogennych najlepiej poznany jest VEGF (vascular endothelial growth factor – czynnik wzrostu śródbłonna naczyń), którego nadmierne wytwarzanie obserwuje się również w komórkach nowotworowych. Na syntezę VEGF w komórce wpływa wiele czynników, wśród których za najistotniejszy uważa się HIF-1 (hypoxia inducible factor-1 – czynnik indukowany hipoksją), uaktywniany w stanie niedotlenienia komórek, również komórek nowotworowych. HIF-1 oddziałuje z krótką sekwencją DNA w rejonie promotora VEGF, tzw. HRE (hypoxia response element), nasilając w ten sposób ekspresję VEGF [25,41].

Istnieje wiele czynników należących do rodziny VEGF: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, PlGF (placenta growth factor – łożyskowy czynnik wzrostu) i wirusowy homolog VEGF-E. Ich wspólną cechą jest występowanie w cząsteczce fragmentu zawierającego sekwencję cystein, dzięki którym tworzą się mostki siarczkowe i dimery. Wymienione czynniki są produktami ekspresji różnych genów, różnią się między sobą także strukturą cząsteczki, podobieństwem do VEGF-A, który jest uznawany za prototyp rodziny VEGF, oraz wykazują odmienne działanie biologiczne. W procesie nowotworowym ważne są VEGF-A i VEGF-B, przy czym VEGF-B nie jest związany z angiozależnym rozwojem nowotworu [25]. Pod nazwą VEGF-A kryje się pięć jego izoform, różniących się liczbą aminokwasów (VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF189 i VEGF206) i związaną z tym mobilnością w przestrzeni międzykomórkowej. Izofoma VEGF165 wydaje się pełnić najistotniejszą rolę w angiogenezie.

VEGF-A aktywuje receptory VEGFR-1, VEGFR-2 i VEGFR-3 należące do rodziny receptorów zawierających domenę kinazy tyrozynowej (ryc. 2A). Następnym



Ryc. 1. Etapy rozwoju komórki nowotworowej

pobudzenia receptorów VEGFR-1 i VEGFR-2 występujących na powierzchni komórek śródbłonna naczyń krwionośnych, a także niektórych komórek nowotworowych, jest wzajemna fosforylacja jego podjednostek (autofosforylacja) i aktywacja różnych szlaków sygnałowych w komórce, biorących udział w transdukcji sygnału mitogenowego i w odpowiedzi biologicznej związanej z angiogenezą (ryc. 2B). Aktywacja receptora VEGFR-3 uruchamia podobne mechanizmy, tyle że związane z limfangiogenezą.

Do ufosforylowanych receptorów przyłączają się enzymy i cząsteczki adaptorowe (Shc, Grb2) oraz fosfolipaza C gamma (PLC-γ). Współdziałanie kinaz tyrozynowych receptora z białkami adaptorowymi, a następnie z białkami onkogennymi Ras, pobudza wiele kolejnych kinaz (Raf, MAP i MAPK) fosforylujących następnie składniki kompleksu transkrypcyjnego, kontrolującego ekspresję genów mitogenicznych. PLC-γ hydrolizuje natomiast fosfatydyloinozitol błony komórkowej, z którego powstaje trifosforan inozytolu (IP3) i diacyloglicerol (DAG). Pierwszy o właściwościach hydrofilowych, pozostaje w cytoplazmie komórki i mobilizuje wzrost [Ca²⁺]_i, od którego zależy wiele procesów we wnętrzu komórki. Drugi, o właściwościach lipofilowych, aktywuje kinazę białkową C (PKC), regulującą m.in. przepuszczalność naczyń krwionośnych [25].

VEGF uczestniczy we wszystkich etapach angiogenezy. W fazie inicjowania naczyń krwionośne rozszerzają się

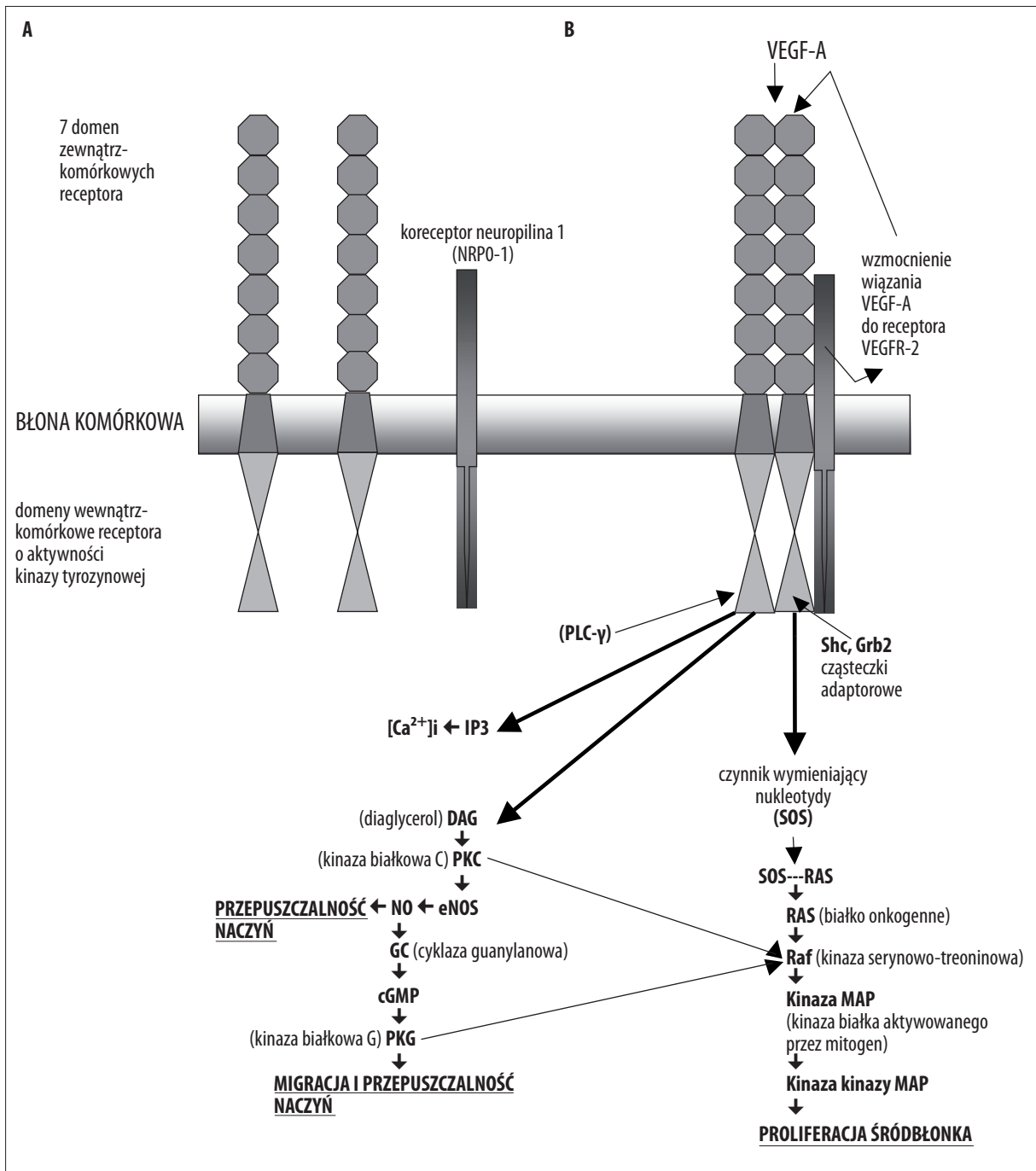
Tabela 1. Wykaz czynników pro- i antyangiogennych (wymienionych w kolejności alfabetycznej z zaznaczeniem czynników odgrywających najważniejszą rolę w każdej z grup)

Czynniki proangiogenne	Czynniki antyangiogenne
Angiogenina	angiostatyna (38-kDa fragment plazminogenu)
Angiopoetyna 1	endostatyna (20-kDa fragment kolagenu XVIII)
EGF (epidermal growth factor; czynnik wzrostu naskórka)	interferon α
FGF (fibroblast growth factor; czynnik wzrostu fibroblastów)	IIP-10 (interferon-inducible protein-10; 10-kDa białko indukowane przez interferon)
IL-8 (interleukin-8; interleukina-8)	IL-12 (interleukin-12; interleukina-12)
MMP (matrix metalloproteinases; metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej)	PAI (plasminogen activator inhibitor; inhibitor aktywatora plazminogenu)
PAF (platelet activating factor; czynnik aktywujący płytki krwi)	PEDF (pigment epithelium-derived factor; czynnik pochodzący z nabłonka barwnikowego)
PDGF (platelet-derived growth factor; płytkopochodny czynnik wzrostu)	TIPM-1, -2, -3, -4 (tissue inhibitors of metalloproteinases; tkankowe inhibitory metaloproteinaz)
TGF-α, -β (transforming growth factor-α, -β; transformujący czynnik wzrostu α, β)	Tnl (troponin I; troponina I)
TNF-α (tumor necrosis factor; czynnik martwicy nowotworu α)	TSP-1, -2 (thrombospondin-1, -2; trombospondyna-1, -2)
VEGF (vascular endothelial growth factor; czynnik wzrostu śródbłonna naczyń)	waskulostatyna

i stają się bardziej przepuszczalne. Następnie, w stanie aktywacji, dochodzi do degradacji ich błony podstawnej. W ostatnim etapie dzielące się, różnicujące i migrujące komórki śródbłonna tworzą nowe odgałęzienia naczyń, przyszyły system ukrwienia nowotworu [25,44]. Sposoby unaczynienia guzów litych przedstawiono w tabeli 2 [30].

Naczynia w nowotworze stanowią około 50% jego masy i powstają w sposób niekontrolowany, są poskręcane, trójdzielnie rozgałęzione, mają porowate wnętrza i większą przepuszczalność [42]. Stąd tradycyjne leki, stosowane w trakcie chemioterapii, docierają do guza w stopniu niewystarczającym. Celowe byłoby tu zastosowanie preparatów hamujących angiogenezę (inhibitorów angiogenezy), zdolnych stabilizować przepuszczalność i rozchwiane procesem proliferacji śródbłonna łożysko naczyniowe oraz ograniczających powstawanie kolejnych jego rozga-





Ryc. 2. Receptor VEGFR-2 w stanie nieaktywnym (A) i po aktywacji przez VEGF-A (B)

łężeń. „Naprawione” w ten sposób naczynia krwionośne umożliwiłyby dotarcie chemioterapeutyku do komórek nowotworowych.

LEKI BLOKUJĄCE ANGIOGENEZĘ

Początkowo stosowano różne substancje, które blokowały angiogenezę, najczęściej w stopniu niewystarczającym, aby powstrzymać rozwój guza. Pod koniec lat 80. ub.w. podano IFN-alfa-2a w naczyniakowatości płucnej [32]. Zauważono również u chorych na szpiczaka mnogiego antyangiogenne właściwości talidomidu [32].

Wśród badanych i obecnie stosowanych preparatów antyangiogennych (inhibitorów angiogenezy), o większej wybiórczości i znacznie większej aktywności farmakologicznej, są substancje o różnych mechanizmach działania, w tym przeciwciała monoklonalne (tab. 3) [4,11,38,44,46]:

- leki hamujące degradację błon podstawnych śródbłonna: **suramin**;
- leki hamujące działanie zasadowego czynnika wzrostu fibroblastów (bFGF): **talidomid** (Thalomid);
- inhibitory VEGF: **bewacizumab** (Avastin), **ranibizumab** (Lucentis);
- rozpuszczalne receptory VEGF: **VEGF-Trap**;

Tabela 2. Rodzaje angiogenezy nowotworowej

Rodzaj angiogenezy	Opis tworzenia naczyń nowotworowych
Pączkowanie z „naczynia matki”	zgodnie z gradientem angiogennym (w kierunku komórek nowotworowych wytwarzających VEGF) komórki śródbłonna tworzą „naczynie matkę”, z której „pączkują” kolejne odgałęzienia naczyń
Tworzenie odnóg z „naczynia matki”	pod wpływem ucisku tkanek sąsiednich lub w wyniku tworzenia przegród wewnątrznaczyniowych powstają nowe naczynia
Koopcja	komórka nowotworowa rośnie wokół i wzdłuż naczyń gospodarza

- inhibitory integryn: **cilengitide**;
- preparaty endogennych czynników antyangiogennych: **endostatin, angiostatin, tumstatin, kininostatin, PEDF**;
- inhibitory metaloproteinaz: **marimastat, batimastat, pentosan polyphosphate, neovastat**;
- inhibitory receptora EGFR (HER1): **cetuximab** (Erbix), **panitumumab**;
- inhibitory receptora EGFR2 (HER2): **trastuzumab** (Herceptin), **erlotinib** (Tarceva);
- inhibitory białka Ras: **BMS-214662**.

Z założenia leki antyangiogenne powinny hamować rozwój każdego unaczynionego guza, ponieważ wzrost śródbłonna naczyń w różnych narządach jest regulowany lub współregulowany przez ten sam czynnik, przez VEGF. Specyfika działania inhibitorów angiogenezy polega również na tym, że fizjologiczne tworzenie nowych naczyń występuje u dorosłego człowieka w określonych sytuacjach (owulacja, przekrwienie ściany macicy w cyklu menstruacyjnym, tworzenie się łożyska, dojrzewanie kości, wzrost włosów, gojenie się ran); jeśli powstaje nowy system naczyniowy, poza wymienionymi sytuacjami, rozwija się on – z udziałem zwiększonego wytwarzania VEGF – w kierunku miejsc niedotlenionych, w tym guzów litych. Komórki śródbłonna są ponadto mało podatne na zmiany genetyczne, w przeciwieństwie do sąsiadujących komórek nowotworowych skłonnych do mutacji, stąd przypuszcza się, że zjawisko oporności wśród leków antyangiogennych nie będzie ograniczało ich możliwości terapeutycznych. Ponadto leki blokujące angiogenezę, w przeciwieństwie do innych leków przeciwnowotworowych, „nie giną” w czasie dyfuzji tkankowej, lecz poprzez „naprawienie” naczyń krwionośnych umożliwiają sobie oraz lekom cytostatycznym i antyproliferacyjnym dotarcie do komórek nowotworowych. Jak wykazały dotychczasowe badania stosowanie inhibitorów angiogenezy w monoterapii spowalnia, ale nie hamuje wzrostu komórek nowotworowych. Zastosowanie leków antyangiogennych w skojarzeniu z chemioterapią natomiast prowadzi w wielu przypadkach do regresji zmian patologicznych [10]. Terapia łączona pozwala ponadto na zmniejszenie dawki chemioterapeutyku używanego w danej jednostce nowotworowej z dawki maksymalnie tolerowanej

przez organizm (MTD – maximum tolerated dose), podawanej w cyklach, do dawki niższej, stanowiącej 1/3–1/10 MTD, stosowanej w sposób ciągły. Ten sposób leczenia nazywany „metronomic low-dose chemotherapy” zwiększa wydajność oraz ogranicza działania niepożądane chemioterapii [10,44].

Ponieważ w angiogenezie nowotworowej główną rolę odgrywa VEGF-A, przede wszystkim badane są leki, które uniemożliwiają interakcję między nim a jego receptorem, oraz takie, które VEGF-A unieczynniają. Zastosowanie najnowszych technik immunologicznych pozwoliło na otrzymanie kilku swoistych przeciwciał wobec VEGF-A. Wśród przeciwciał anty-VEGF-A stosowanych już w leczeniu jest **bewacizumab**.

BEWACIZUMAB – PRZECIWCIAŁO MONOKLONALNE W TERAPII CELOWANEJ

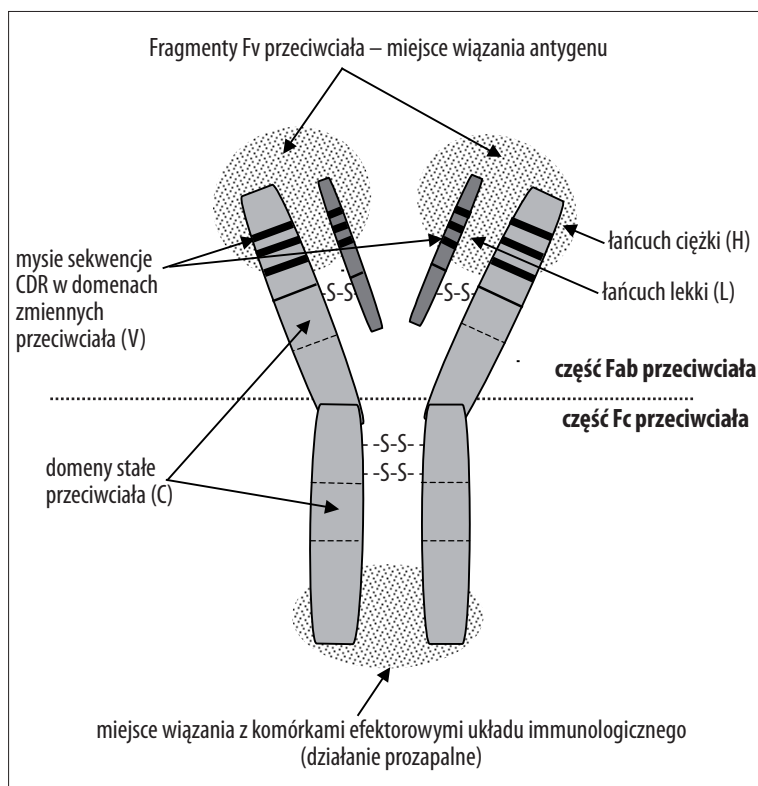
Wytwarzanie przeciwciał w organizmie następuje w wyniku zakażenia drobnoustrojowego lub pojawienia się obcych białek. Z cząstek antygenów odczytywane są wówczas różne jego cechy. Przy projektowaniu leków wykorzystuje się również mechanizmy immunologiczne, które są bardziej swoiste i wiążą się ze ściśle wybranymi miejscami antygenu. W 1993 r. potwierdzono aktywność farmakologiczną przeciwciała monoklonalnego (mAb – monoclonal antibody) swoistego dla VEGF, które *in vivo* hamowało rozwój guza złośliwego. Cztery lata później otrzymano jego zhumanizowaną postać (rh-mAb-VEGF – recombinant humanised monoclonal antibody) [32]. Wśród rekombinowanych leków przeciwnowotworowych oprócz przeciwciał monoklonalnych znajdują się hormony, cytokiny, enzymy, szczepionki i rozpuszczalne receptory (tzw. „receptory pułapki”).

Większość przeciwciał monoklonalnych to białka pochodzenia zwierzęcego, o silnych właściwościach immunogennych, które ponadto są szybko wydalane z organizmu i dają słabą odpowiedź farmakologiczną. Poddawanie przeciwciał monoklonalnych humanizowaniu zmniejsza ich immunogenność i wydłuża czas półtrwania ($T_{1/2}$) w surowicy. Humanizowanie przeciwciała polega na wprowadzeniu do jego „zmiennych regionów”, mysich fragmentów aminokwasowych, nazywanych regionami decydującymi o komplementarności przeciwciała (CDR – complementarity-determining region) (ryc. 3). Przeprowadzona zmiana wpływa na swoistość przeciwciała oraz umożliwia jego wielokrotne zastosowanie u człowieka [2,5,6,12].

Bewacizumab, produkowany przez utrzymywane w hodowli komórki jajnika chomika chińskiego (CHO – chinese hamster ovary), składa się z ludzkiej immunoglobuliny Ig1 w 93% i z mysiego fragmentu stanowiącego 7%. Swoista domena przeciwciała rozpoznaje wszystkie izofory VEGF-A [14,15].

Aktywność antyangiogenna bewacizumabu rozpoczyna się od utworzenia z VEGF-A kompleksu uniemożliwiającego pobudzenie przez tę cząsteczkę sygnałową receptora (ryc. 2). W wyniku zablokowania zależnej od receptora VEGF sygnalizacji nie dochodzi do tworzenia nowych naczyń, które dostarczałyby rozrastającym się komórkom nowotworowym tlenu i składników odżywczych. Konsekwencją terapeutyczną jest zwolnienie lub zahamowanie rozwoju





Ryc. 3. Schemat budowy przeciwciała humanizowanego (bewacizumabu)

Tabela 3. Przeciwciała monoklonalne - zarejestrowane preparaty przedstawione w kolejności ich pojawiania się w lecznictwie i oczekujące na rejestrację

Substancja czynna	Preparat	Firma
Rituksimab	RITUXAN	IDEC Pharmaceuticals Corporation, Genentech
Daklizumab	ZENAPAX	Hoffman-La Roche
Trastuzumab	HERCEPTIN	Genentech
Ozogamycyna gemtuzumabu	MYLOTARG	Wyeth Ayerst
Alemtuzumab	CAMPATH	Millennium And ILEX Partners
Tituksetan ibritumomabu	ZEVALIN	Idec Pharmaceuticals Corporation
Tositumomab	BEXXAR	Corixa Corporation
Cetuksimab	ERBITUX	Imclone
Bewacizumab	AVASTIN	Genentech
Ranibizumab	LUCENTIS	Genentech
Preparaty oczekujące na zarejestrowanie		
VEGF-Trap R1R2		(I/II faza badań)
IMC-1C11		(I/II faza badań)
HuMV833		(II faza badań)

guza, a przede wszystkim ograniczanie jego rozprzestrzeniania się w organizmie w postaci przerzutów. Ponadto regulacja naczyń przez inhibitor angiogenezy poprawia skuteczność łącznie stosowanego chemioterapeutyku. Wzrost

wskaźnika przeżywalności pacjentów z nowotworem jelita grubego w chemioterapii łączonej z bewacizumabem w porównaniu z grupą pacjentów, którym podawano chemioterapię bez bewacizumabu, wynosi 5 miesięcy. W te-

rapii skojarzonej najczęściej stosuje się bewacizumab z 5-fluorouracylem i irinotekaniem [32].

Rak jelita grubego (CRC – colorectal cancer) jest jednym z częściej występujących nowotworów złośliwych na świecie i w Polsce. Rocznie w naszym kraju rozpoznaje się około 11 tysięcy nowych zachorowań, a liczba zgonów wynosi około 8 tysięcy [40]. Prawie 50% przypadków raka jelita grubego wykazuje ekspresję VEGF-A, który jest markerem prognostycznym w tej chorobie. Poziom ekspresji VEGF-A wiąże się z prawdopodobieństwem nawrotu choroby i szybkością tworzenia przerzutów. Połączenie chemioterapeutyków, takich jak oksaliplatyna, irinotekan czy 5-fluorouracyl, oraz inhibitora angiogenezy zwiększa przeżycie pacjentów chorych na raka jelita grubego [24,43]. Inne warianty terapii łączącej inhibitor angiogenezy z chemioterapeutykami stosowanej u pacjentów z rakiem jelita grubego są w trakcie badań klinicznych.

BEWACIZUMAB W BADANIACH KLINICZNYCH

W grupie 813 pacjentów (badanie AVF2107g) 402 osobom podano irinotekan, 5-fluorouracyl i leukoworynę, terapię określaną skrótowo IFL, oraz bewacizumab w dawce 5 mg/kg m.c., pozostałym 411 pacjentom IFL oraz placebo. Zaobserwowano różnicę w przeżyciu całkowitym na korzyść chorych leczonych bewacizumabem, wynoszącą 20,3 miesiąca w porównaniu z 15,6 miesiąca po terapii IFL i placebo. Odsetek przeżyć rocznych stanowił odpowiednio 74,3 i 63,4%, a czas progresji choroby 10,6 i 6,2 miesiąca [14].

W randomizowanej podwójnie ślepej próbie fazy II porównywano placebo z bewacizumabem w dawkach 3 i 10 mg/kg m.c., podawanych co dwa tygodnie w iniekcjach dożylnych. Wykazano, że bewacizumab znacząco przedłużał czas progresji choroby u pacjentów z rakiem odbytu. Prawdopodobieństwo zahamowania rozwoju choroby w ciągu 4 miesięcy wynosiło odpowiednio 20, 39 i 64% oraz 5, 14 i 30% w ciągu 8 miesięcy terapii [45].

W badaniu ECOG 3200 oceniano aktywność bewacizumabu z zestawem chemioterapeutyków FOLFOX4, zawierającym 5-fluorouracyl, leukoworynę i oksaliplatynę, stosowanym w terapii drugiego wyboru u chorych na raka jelita grubego. Spośród 880 pacjentów pierwsza grupa badanych otrzymała FOLFOX4 i bewacizumab (10 mg/kg m.c.), a druga FOLFOX4. Czas przeżycia pacjentów w obu grupach wynosił odpowiednio 12,9 i 10,8 miesięcy, czas progresji choroby utrzymywał się przez 7,2 i 4,8 miesiąca, natomiast odsetek odpowiedzi był większy podczas terapii z bewacizumabem (21,8%) niż po podaniu FOLFOX4 bez inhibitora angiogenezy (9,2%).

W badaniu TREE2 oceniano toksyczność i skuteczność różnych połączeń chemioterapeutyków z bewacizumabem w dawce 5 mg/kg m.c., u chorych na raka jelita grubego:

1. FOLFOX 6 (5-fluorouracyl, oksaliplatyna, leukoworyna);
2. bFOL (bolus zawierający 5-fluorouracyl, oksaliplatynę, leukoworynę);
3. CapeOx (kapecitabina i oksaliplatyna).

Obecność bewacizumabu w każdym z tych trzech wariantów terapeutycznych wpłynęła pozytywnie na odsetek od-

powiedzi (49,3; 34,3; 43,1%). Podczas badania nie zauważono również innych, wcześniej nie obserwowanych objawów toksycznych związanych ze stosowaniem bewacizumabu [24,37].

TOKSYCZNOŚĆ BEWACIZUMABU

W czasie terapii bewacizumabem obserwuje się mniej działań niepożądanych i o innym charakterze niż po chemioterapeutykach, które działają zarówno na komórki zdrowe, jak i na nowotworowe, a ich działania niepożądane określa się jako bardzo toksyczne, zwłaszcza dla układu krwiotwórczego. Mechanizm działania toksycznego bewacizumabu jest związany z sekwestracją czynnika VEGF-A i zmniejszeniem jego stężeń w tkankach, w których odgrywa fizjologiczną rolę. Zablockowanie VEGF zmniejsza ilość endogennego tlenku azotu (NO), powodując zwężenie naczyń krwionośnych i nadciśnienie. Zredukowanie gęstości naczyń przez inhibitor angiogenezy nasila ten efekt. Hipertonii towarzyszą proteinuria, incydenty niedokrwienne i krwawienia. Niedobór VEGF – fizjologicznego czynnika biorącego udział w utrzymaniu homeostazy błon śluzowych i ich regeneracji po uszkodzeniach – jest przyczyną miejscowego niedokrwienia błony śluzowej przewodu pokarmowego, jego owrzodzeń i perforacji, a także krwawień podskórnych i krwotoków z nosa. Neutropenia i trombocytopenia również wynikają ze zmniejszonej ilości VEGF w czasie terapii bewacizumabem [8]. Niektóre działania niepożądane, takie jak nadciśnienie, białkomocz, spadek liczby neutrocytów, leukocytów są zarówno lekozależne, jak i dawkozależne. Wymieniane w literaturze przypadki działań niepożądanych po bewacizumabie zostały zebrane w tabeli 4 [37].

W terapii skojarzonej bewacizumabu z 5-fluorouracylem i leukoworyną u 86 pacjentów (spośród 350 badanych) nie nastąpiło zaostrzenie wspomnianych objawów niepożądanych wynikających z blokowania VEGF. Odnotowano krwawienia żołądkowo-jelitowe stopnia 3 lub 4 (u 3 pacjentów), zakrzepicę żył (1), niedotlenienie mózgu 4 stopnia (1), przedsionkową fibrylację stopnia 4 (1) oraz krwawienie w OUN (1). Po największej dotychczas podanej pacjentom w badaniach klinicznych dawce bewacizumabu, 20 mg/kg m.c., u niektórych pacjentów pojawiły się dodatkowo bóle migrenowe [37].

Przeciwwskazaniem do stosowania bewacizumabu jest przede wszystkim nadwrażliwość na substancję czynną, która zawiera obcogatunkowy fragment białkowy. Bewacizumab hamując angiogenezę ma niekorzystny wpływ na rozwój płodu. Stąd kolejnym przeciwwskazaniem do jego stosowania jest ciąża. Podanie leku w tym czasie usprawiedliwia jedynie potencjalna korzyść terapii wobec ryzyka takiej kuracji. W badaniach na królikach wykazano teratogenność bewacizumabu. Lek może również zaburzać płodność. W badaniach na zwierzętach obserwowano dawkozależne obniżenie masy jajników i macicy, proliferację endometrium, hamowanie rozwoju pęcherzyka Graafa i brak ciała żółtego. Na podstawie analogii z immunoglobuliną IgG1, która przenika z krwi do mleka, zaleca się przerwanie kuracji bewacizumabem w czasie laktacji. Przedział czasowy między bezpiecznym zejściem w ciążę i bezpiecznym rozpoczęciem karmienia przez pacjentki poddane kuracji tym lekiem, od przyjęcia ostatniej jego dawki, określono na 6 miesięcy.



Tabela 4. Działania niepożądane bewacizumabu

Rodzaje i opis działań niepożądanych	
Perforacje żołądkowo-jelitowe	<ul style="list-style-type: none"> – czasami połączone z owrzodzeniami, bólami brzucha, zaparciami i wymiotami – terapia powinna być przerwana u pacjentów z perforacjami żołądkowo-jelitowymi – częściej występuje u chorych z procesem zapalnym w obrębie jamy brzusznej – w niektórych przypadkach prowadzi do śmierci
Powikłania gojenia się ran	<ul style="list-style-type: none"> – terapia powinna być przerwana u pacjentów wymagających interwencji chirurgicznej – 4-tygodniowa przerwa po operacji i 8-tygodniowa przed operacją – nie powinno się rozpoczynać terapii do czasu wygojenia się ran po zabiegu – w niektórych przypadkach prowadzi do śmierci
Krwotoki	<ul style="list-style-type: none"> – związane z guzem – krwawienia z błon śluzowych – krwotoki z nosa – należy przerwać leczenie – poważne, śmiertelne w 31%
Zatory zakrzepowe tętnic	<ul style="list-style-type: none"> – udar mózgu, przejściowe niedokrwienie, zawał serca, dusznica – występuje częściej u pacjentów z zakrzepicą w wywiadzie lub u osób powyżej 65 r.ż. – występuje częściej w połączeniu z chemioterapią – czasami śmiertelne
Nadciśnienie	<ul style="list-style-type: none"> – przełomy nadciśnieniowe – przerwanie podawania leku aż do czasu uzyskania poprawy ciśnienia tętniczego za pomocą leków hipotensyjnych
Białkomocz	<ul style="list-style-type: none"> – utrzymuje się kilka miesięcy po kuracji lekiem – zaleca się kontrolę moczu z użyciem pasków testowych – u chorych z zespołem nerczycowym (białkomocz stopnia 4) lek należy odstawić
Niewydolność mięśnia sercowego	<ul style="list-style-type: none"> – rośnie w terapii łączonej – u chorych leczonych wcześniej antracyklinami
Inne działania niepożądane	nadciśnienie, osłabienie, białkomocz, biegunka, nudności, zmęczenie, astenia, ból brzucha, ból głowy, wymioty, anoreksja, zapalenie błony śluzowej żołądka, infekcje górnych dróg oddechowych, bezdech, łuszczące zapalenie skóry

DAWKOWANIE BEWACIZUMABU

W przypadku bewacizumabu obserwuje się terapeutyczny paradoks związany z brakiem zależności między dawką leku a działaniem farmakologicznym. Dawka 5 mg/kg m.c. jest skuteczniejsza od 10 mg/kg m.c. Mniejsza dawka leku prawdopodobnie odpowiada za efektywność jednocześnie stosowanej chemioterapii i może przesądzać o normalizacji naczyń nowotworowych, a nie ich degradacji, być może bardziej oczekiwanej w monoterapii inhibitorem angiogenezy.

Nie prowadzono szczegółowych i systematycznych badań dotyczących interakcji między bewacizumabem a chemioterapeutykami. Wiadomo jednak, że przy stosowaniu skojarzonym bewacizumabu z irinotekaniem pojawiają się biegunki, leukopenia lub neutropenia, prawdopodobnie z powodu wzrastającego (w obecności bewacizumabu) stężenia jego metabolitu. W takich sytuacjach modyfikuje się dawkę irinotekanu [14].

Dostępny w lecznictwie preparat bewacizumabu, Avastin, występuje w postaci fiolek 4 ml i 16 ml, zawierających od-

powiednio 100 mg lub 400 mg substancji czynnej (roztwór o stężeniu 25 mg/ml). W leczeniu chorych na raka jelita grubego inhibitor angiogenezy jest aplikowany w skojarzeniu z chemioterapeutykami (z dożylnie podawanymi 5-fluorouracylem i leukoworyną lub 5-fluorouracylem, leukoworyną i irinotekaniem) w dawce 5 mg/kg m.c. co 14 dni w postaci infuzji dożylniej. Wlew pierwszej dawki powinien nastąpić po podaniu cytostatyków i trwać nie krócej niż 90 min; kolejne dawki leku można wprowadzać w krótszych wlewach (60- i 30-minutowych).

STOSOWANIE BEWACIZUMABU W INNYCH RODZAJACH NOWOTWORÓW

Pojawienie się bewacizumabu w leczeniu innych nowotworów jest w fazie eksperymentalnej i wymaga kolejnych testów klinicznych. Podejmowane są próby w kierunku podawania leku zarówno w monoterapii, jak i w terapii łączonej u chorych z nowotworami nerek, głowy i szyi, płuc, piersi, trzustki, prostaty, jajników i w przypadku ziarnicy limfatycznej złośliwej [32].

W drugiej fazie badań chorym z nowotworem nerek podaje się bewacizumab w dawkach 3 mg/kg m.c. i 10 mg/

kg m.c. W nowotworze gruczołu piersiowego prowadzi się monoterapię bewacizumabem w dawkach 3, 10 i 20 mg/kg m.c., lub terapię z kapecitabiną (bewacizumab w dawce 15 mg/kg m.c.). Pacjentom z nowotworem płuc bewacizumab aplikowany jest w dawce 15 mg/kg m.c. z karboplatiną i paklitaksellem. U chorych z nowotworem trzustki bewacizumab w dawce 10 mg/kg m.c. łączony jest z gemcitabiną. Bewacizumab występuje również w połączeniu z innymi inhibitorami angiogenezy, np. inhibitorem kinazy tyrozynowej (erlotinibem), w przypadku guzów litych i nowotworów nerek z przerzutami [37].

Dotychczas w badaniach przedklinicznych bewacizumab w monoterapii hamował rozwój i rozsiewanie raka gruczołu piersiowego i nerek [44].

ZASTOSOWANIE BEWACIZUMABU W OKULISTYCE

Proces angiogenezy towarzyszy nie tylko chorobom nowotworowym, lecz również innym stanom patologicznym, wśród których są choroby naczyń (naczyniaki, włókniaki, blaszki miażdżycowe), stawów (reumatoidalne zapalenie stawów), skóry (łuszczyca) i oka (retinopatia proliferacyjna) [25,44].

Zwyrodnienie plamki związane z wiekiem (AMD – age-related macular degeneration), dawniej nazywane starym zwyrodnieniem plamki, występujące u osób powyżej 60 roku życia, jest przyczyną nieodwracalnych zmian polegających na upośledzeniu widzenia centralnego, prowadzącego do ubytków w polu widzenia a nawet do utraty wzroku. Wysiękowa postać tej choroby jest związana z neowaskularyzacją choriokapilarów (CNV – choroidal neovascularization) błony naczyniowej na obszarze plamki żółtej [27].

U osób dorosłych i zdrowych okolica plamki żółtej jest awaskularna, chociaż charakteryzuje się wysokim metabolizmem i największą w organizmie (przeliczoną na jednostkę masy) wymianą tlenową. Ponadto nabłonek barwnikowy siatkówki (RPE – retinal pigment epithelium) bierze udział w cyklu wzrokowym oraz w fagocytowaniu i metabolizowaniu szczytowych fragmentów fotoreceptorów. Dostarczanie ważnych składników do fotoreceptorów i komórek RPE obecnych w rejonie plamki żółtej odbywa się za pomocą choriokapilarów błony naczyniowej oddzielonej od siatkówki wielowarstwową kolagenowo-elastynową strukturą zwaną błoną Brucha [27].

Wraz z wiekiem postępuje upośledzenie usuwania zużytych w procesie widzenia fragmentów szczytowych segmentów zewnętrznych fotoreceptorów, które są nieustannie złuszczone i przechwytywane przez komórki nabłonka barwnikowego (RPE). Zjawisko to przyczynia się do gromadzenia we wnętrzu komórek RPE – w tzw. fagolizosomach – produktów spowolnionej fagocytozy, tzw. złogów lipofuscyny. Innym patologicznym elementem AMD są druzy – złogi nierozpuszczalnego materiału odkładane między warstwą RPE a błoną Brucha, które w miarę powiększania się powodują rozwarstwienie nabłonka i sąsiadujących warstw, w tym od choriokapilarów, w wyniku czego na plamce pojawiają się miejsca niedotlenione. Gromadzeniu się druzów towarzyszy lokalny proces zapalny, który istotnie się przyczynia do progresji AMD [27,29].

Obszary plamki żółtej w warunkach hipoksji, a zwłaszcza toczącego się przewlekłego procesu zapalnego, uruchamiają mechanizmy kompensacyjno-obronne. Napływające komórki układu odpornościowego (makrofagi, monocyty, neutrofile) podejmują wytwarzanie wielu czynników wzrostu, wśród nich VEGF. Z udziałem czynników proangiogennych, od strony naczyniówki tworzą się nowe naczynia krwionośne (neowaskularyzacja choroidalna), które przechodzą przez uszkodzoną błonę Brucha i rosną do przestrzeni podsiatkówkowej, a czasami także do siatkówki. Na nowych, zazwyczaj kruchych i poskręcanych naczyniach, skłonnych ponadto do przeciekania i krwawienia, tworzą się blizny włóknisto-tarczowate, prowadzące do uszkodzenia komórek RPE oraz do stopniowej i nieodwracalnej utraty wzroku. Również w przypadku neowaskularyzacji choriokapilarów (CNV) rozpoczęcie procesu angiogenezy jest konsekwencją zaburzonej równowagi między układem proangiogennym i antyangiogennym, na korzyść tego pierwszego. Z udziałem wielu czynników reprezentujących obie grupy, występują podwyższone ilości VEGF-A i obniżone stężenie PEDF. W rejonie choriokapilarów powstaje VEGF-A, który pobudza receptory VEGFR-1 i VEGFR-2 komórek śródbłonna, inicjując proces nowotworstwa naczyniowego [27,28].

W leczeniu AMD stosuje się inhibitory angiogenezy. Pierwszym lekiem z tej grupy był pegaptanib sodu (Macugen), zbudowany z 28 zasad nukleinowych aptamer o właściwościach anty-VEGF165, podawany dożylnie w dawce 0,3 mg/oko co 6 tygodni [7,23,26,36]. Pegaptanib zwalnia tempo utraty wzroku, ale poprawę widzenia zaobserwowano tylko u 6% pacjentów. Po dożylnym stosowaniu innego inhibitora VEGF-A, ranibizumabu (0,5 mg/oko), zarejestrowanego przez FDA w czerwcu 2006 roku pod nazwą Lucentis, w 3 fazie badań klinicznych zauważono nie tylko dobry efekt antyangiogenny, ale także poprawę widzenia u 95% pacjentów [13,16,23].

W badaniach oceniających skuteczność i toksyczność inhibitorów VEGF-A u pacjentów z AMD pojawił się również bewacizumab, który jak do tej pory nie ma okulistycznej rekomendacji FDA, jednakże – jako lek obecny na rynku – może być i obecnie jest stosowany na zasadzie „off-label” [1,9,18,21,35]. Stała dysocjacji tego związku jest większa od stałej dysocjacji ranibizumabu i wynosi 0,5–1,0 nM (dla ranibizumabu 0,140 nM) (tab. 5). Ta właściwość fizyczna wynika z liczby miejsc wiążących VEGF-A obu substancji - dwóch w przypadku bewacizumabu i jednego dla ranibizumabu, stanowiącego część Fab (antigen binding fragment – fragment wiążący antygen) bewacizumabu [33]. U pacjentów z AMD, którym podawano bewacizumab w dawce 5 mg/kg m.c. dożylnie jeden raz w miesiącu zaobserwowano w 6-miesięcznych badaniach niewielkie wahania ciśnienia krwi. Istnieje jednak prawdopodobieństwo pojawienia się innych potencjalnych działań niepożądanych, zwłaszcza zatorów, które obserwowane były już u pacjentów z nowotworem jelita grubego. W schorzeniu okulistycznym istnieje możliwość zmniejszenia dawki leku i jednocześnie jego potencjalnych działań niepożądanych przez wprowadzenie go bezpośrednio do oka [9].

Przy podaniu dożylnym inhibitorów angiogenezy uwzględnia się wpływ masy cząsteczkowej związku na jego



Tabela 5. Porównanie wielkości fizyko-chemicznych ranibizumabu i bewacizumabu

	Ranibizumab	Bewacizumab
Rodzaj substancji	fragment rekombinowanego humanizowanego przeciwciała monoklonalnego (Fab)	rekombinowane humanizowane przeciwciała monoklonalne (rhAb-VEGF)
Stała dysocjacji	0,140 nM	0,5–1,0 nM
Ilość miejsc wiążących się z VEGF	1	2
Masa cząsteczkowa	48 kDa	149 kDa

biodostępność; dla bewacizumabu wynosi ona 149 kDa. Próby na modelach proliferujących z ranibizumabem o krótszym łańcuchu aminokwasowym (masa cząsteczkowa 48 kDa) nie potwierdziły zależności między masą cząsteczkową związku a jego zdolnością przenikania z miejsca podania do siatkówki. Nie wiadomo również, czy pokonanie bariery krwi-płyn śródgałkowy w neowaskularyzacji ma wpływ na efekt leczniczy bewacizumabu. Ponadto, w przypadku spełnienia warunku pokonania bariery krwi-płyn śródgałkowy pozostaje oznaczenie ilości efektywnej leku, a także rozstrzygnięcie, czy w chorym oku bariera jest taka sama jak w zdrowym oku modeli zwierzęcych. Badania siatkówki zdrowych królików wykazały, że bewacizumab jest zdolny do przejścia w kierunku rejonów neowaskularnych [9].

Poprawa ostrości widzenia po podaniu doszkliskowym bewacizumabu i ranibizumabu jest porównywalna. W ciągu tygodnia od zaaplikowania pacjentom bewacizumabu (1–1,25 mg/oko), nastąpiło zmniejszenie ilości płynu w płamce i gęstości siatkówki, stwierdzonej za pomocą optycznej koherentnej tomografii (OCT – optical coherence tomography), a po miesiącu odnotowano (przy zastosowaniu angiografii fluoresceinowej) brak przecieków z neowaskularnych obszarów siatkówki. Po dwóch i po trzech miesiącach obserwowano dalszą poprawę ostrości widzenia oraz wykazano dobrą tolerancję na lek. Przeprowadzone badania wskazują na potencjalne możliwości zastosowania bewacizumabu (Avastin) w okulistyce u pacjentów tracących wzrok na skutek neowaskularyzacji w przebiegu AMD. 1,25 mg bewacizumabu podawanego doszkliskowo odpowiada 50 µl oryginalnego, dostępnego na rynku preparatu Avastin [1,9,16,21,33,35].

Znacząca poprawa stanu widzenia występuje już po jednorazowym podaniu bewacizumabu. Zahamowanie angiogenezy w tym przypadku jest wynikiem nie tylko wiązania leku z VEGF-A i uniemożliwieniem jego interakcji ze swoistym receptorem. W neowaskularyzacji plamki żółtej wydzielanie VEGF-A trwa nieustannie, gdyż są aktywowane i przemieszczane (do obszarów tworzenia nowych naczyń) prekursorowe komórki śródbłonna pochodzenia szpikowego. Opóźnienie ich pojawienia się w okolicy siatkówki tłumaczy przedłużone działanie bewacizumabu [1,25].

Wobec coraz liczniejszych danych zachęcających do stosowania bewacizumabu w retinopatii proliferacyjnej, a zwłaszcza w postaci wysiękowej AMD, nie wiadomo nadal, jaki

wpływ na efekt leczniczy może mieć duży ciężar cząsteczkowy leku, długi czas półtrwania ($T_{1/2}$) we krwi (20 dni; 11–50 dni), obecność części Fc cząsteczki (crystallisable fragment – fragment przeciwciała ulegający po jego rozszczepieniu krystalizacji) odpowiedzialnej za działanie prozapalne (w badaniu stwierdzono, że nie jest ono większe niż po podaniu ranibizumabu), a przede wszystkim nie są znane skutki dłuższej niż 6-miesięcznej kuracji tym lekiem [5,12,39]. Prowadzone są intensywne badania skuteczności klinicznej bewacizumabu (Avastin) u pacjentów z AMD i innymi postaciami wewnątrzocnej neowaskularyzacji [3,20,34,39].

PODSUMOWANIE

Bewacizumab jest obiecującym lekiem przeciwnowotworowym zarówno w monoterapii, jak i w terapii łączonej, zwłaszcza tej ostatniej. Biodostępność, mała toksyczność, a także cena leku umożliwiają jego stosowanie również w warunkach ambulatoryjnych. Nadzieje związane z tym lekiem skierowane są przede wszystkim na leczenie chorych z nowotworami chemioopornymi. Kojarzenie inhibitora angiogenezy ze standardową chemioterapią daje możliwość zmniejszenia dawki tej ostatniej i tym samym ograniczenia poważnych działań niepożądanych.

Inhibitory angiogenezy to nie tylko nowa grupa leków przeciwnowotworowych, to również nowe spojrzenie, zwłaszcza na leczenie guzów litych, które rozwijają się i rozprzestrzeniają drogą nowo powstających naczyń krwionośnych. Zastosowanie terapii celowanej, prowadzącej do zatrzymania rozwoju naczyń nowotworowych, przedłuża życie pacjentów w porównaniu z podawanymi wcześniej lekami przeciwnowotworowymi.

Wszystko wskazuje na to, że bewacizumab (Avastin) będzie również stosowany w innych angiozależnych patologiach, na przykład w okulistyce, zwłaszcza, że koszt jednej jego iniekcji doocznej szacowany jest na około 6–10 US\$, podczas gdy pojedyncza dawka aktualnie wprowadzanego do leczenia AMD ranibizumabu (Lucentis) kosztuje 1800–2000 US\$, a pegaptanibu (Macugen) 900 US\$ [17,22,31]. Kolejne badania, uzupełniające dotychczasową wiedzę o bewacizumabie, powinny dać odpowiedź na pytania dotyczące czasu trwania kuracji tym lekiem, zakresu jego dawkowania, a także bezpieczeństwa oraz efektywności jego działania u dzieci i u pacjentów powyżej 65 roku życia.

PIŚMIENICTWO

- [1] Avery R.L., Pieramici D.J., Rabena M.D., Castellarin A.A., Nasir M.A., Giust M.J.: Intravitreal bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, 2006; 113: 363–372
- [2] Baca M., Presta L.G., O'Connor S.J., Wells J.A.: Antibody humanization using monovalent phage display. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 10678–10684
- [3] Bakri S.J., Donaldson M.J., Link T.P.: Rapid regression of disc neovascularization in a patient with proliferative diabetic retinopathy following adjunctive intravitreal bevacizumab. *Eye*, 2006; 12: 1474–1475
- [4] Booy E.P., Johar D., Maddika S., Pirzada H., Sahib M.M., Gehrke I., Loewen S., Louis S.F., Kadkhoda K., Mowat M., Los M.: Monoclonal and bispecific antibodies as novel therapeutics. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 2006; 54: 1–17
- [5] Brekke O.H., Sandlie I.: Therapeutic antibodies for human diseases at the dawn of the twenty-first century. *Nat. Rev. Drug Discovery*, 2003; 2: 52–62
- [6] Carter P.J.: Potent antibody therapeutics by design. *Nat. Rev. Immunol.*, 2006; 6: 343–357
- [7] Duggre S.A.: Pegaptanib: the first antiangiogenic agent approved for neovascular macular degeneration. *Expert Opin. Pharmacother.*, 2005; 6: 1421–1423
- [8] Eskens F.A., Verweij J.: The clinical toxicity profile of vascular endothelial growth factor (VEGF) and vascular endothelial growth receptor (VEGFR) targeting angiogenesis inhibitors; A review. *Eur. J. Cancer*, 2006; 42: 3127–3139
- [9] Feiner L., Barr E.E., Shui Y.B., Holekamp N.M., Brantley M.A. Jr: Safety of intravitreal injection of bevacizumab in rabbit eyes. *Retina*, 2006; 26: 882–888
- [10] Gille J., Spieth K., Kaufmann R.: Metronomic low-dose chemotherapy as antiangiogenic therapeutic strategy for cancer. *JDDG*, 2005; 3: 26–32
- [11] Harper J., Moses M.A.: Molecular regulation of tumor angiogenesis: mechanisms and therapeutic implications. W: *Cancer: Cell Structures, Carcinogens and Genomic Instability*, red.: L.P. Bignold. Birkhäuser Verlag, Switzerland 2006: 223–268
- [12] Harris M.: Monoclonal antibodies as therapeutic agents for cancer. *Lancet Oncol.*, 2004; 5: 292–302
- [13] Heier J.S., Antoszyk A.N., Pavan P.R., Leff S.R., Rosenfeld P.J., Ciulla T.A., Dreyer R.F., Gentile R.C., Sy J.P., Hantsbarger G., Shams N.: Ranibizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration: a phase I/II multicenter, controlled, multidose study. *Ophthalmology*, 2006; 113: 633–642
- [14] Hurwitz H., Fehrenbacher L., Novotny W., Cartwright T., Hainsworth J., Heim W., Berlin J., Baron A., Griffing S., Holmgren E., Ferrara N., Fyfe G., Rogers B., Ross R., Kabbinavar F.: Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leukovorin for metastatic colorectal cancer. *New Engl. J. Med.*, 2004; 350: 2335–2342
- [15] Kerr D.J.: Targeting angiogenesis in cancer: clinical development of bevacizumab. *Nat. Clin. Pract. Oncol.*, 2004; 1: 39–43
- [16] Krzystolik M.G., Afshari M.A., Adamis A.P., Gaudreault J., Gragoudas E.S., Michaud N.A., Li W., Connolly E., O'Neill C.A., Miller J.W.: Prevention of experimental choroidal neovascularization with intravitreal anti-vascular endothelial growth factor antibody fragment. *Arch. Ophthalmol.*, 2002; 120: 338–346
- [17] la Cour M.: Intravitreal VEGF-inhibitors: is Avastin® a generic substitute for Lucentis®? *Acta Ophthalmol. Scand.*, 2007; 85: 2–4
- [18] Ladewig M.S., Ziemssen F., Jaissle G., Helb H.-M., Scholl H.P.N., Eter N., Bartz-Schmidt K.U., Holz F.G.: Intravitreales Bevacizumab bei der neovaskulären altersabhängigen Makuladegeneration. *Ophthalmologie*, 2006; 103: 463–470
- [19] Marciniak K., Butwicka A., Nowak J.Z.: PEDF – endogeny czynnik o silnym działaniu neuroprotektynym, neurotroficznym i antyangiogennym. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2006; 60: 387–396
- [20] Maturi R.K., Bleau L.A., Wilson D.L.: Electrophysiologic findings after intravitreal bevacizumab (Avastin) treatment. *Retina*, 2006; 26: 270–274
- [21] Michels S., Rosenfeld P.J., Puliafito C.A., Marcus E.N., Venkatraman A.S.: Systemic bevacizumab (Avastin) therapy for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, 2005; 112: 1035–1047
- [22] Michels S., Schmidt-Erfurth U., Rosenfeld P.: Promising new treatments for neovascular age-related macular degeneration. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2006; 15: 779–793
- [23] Moshfeghi A., Puliafito C.A.: Pegaptanib sodium for the treatment of neovascular age-related macular degeneration. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2005; 14: 671–682
- [24] Mulcahy M.F., Benson A.B. III: Bevacizumab in the treatment of colorectal cancer. *Expert Opin. Biol. Ther.*, 2005; 5: 997–1005
- [25] Namiecińska M., Marciniak K., Nowak J.Z.: VEGF jako czynnik angiogeny, neurotroficzny i neuroprotektynny. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 573–583
- [26] Ng E.W., Shima D.T., Calias P., Cunningham E.T., Guyer D.R., Adamis A.P.: Pegaptanib, a targeted anti-VEGF aptamer for ocular vascular disease. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2006; 5: 123–132
- [27] Nowak J.Z.: Age-related macular degeneration (AMD): pathogenesis and therapy. *Pharmacol. Reports*, 2006; 58: 353–363
- [28] Nowak J.Z.: Wartość diagnostyczna poziomów VEGF i PEDF dla oceny procesu neowaskularyzacyjnego w chorobach oczu. *Okulistyka*, 2004; 2: 49–54
- [29] Nowak J.Z., Wiktorowska-Owczarek A.: Neowaskularyzacja w tkankach oka: mechanizmy i rola czynników pro- i antyangiogennych. *Klinika oczna*, 2004; 106: 90–96
- [30] Rak J.: Onkogeny jako modyfikatory procesów naczyniowych w nowotworach. *Nowotwory J. Oncol.*, 2006; 1: 57–79
- [31] Reichel E.: Intravitreal bevacizumab for choroidal neovascularization and cystoid macular edema: A cost-effective treatment? *Ophthalmic Surg. Lasers Imaging*, 2005; 36: 270–271
- [32] Rhee J., Hoff P.M.: Angiogenesis inhibitors in the treatment of cancer. *Expert Opin. Pharmacother.*, 2005; 6: 1701–1711
- [33] Rich R.M., Rosenfeld P.J., Puliafito C.A., Dubovy S.R., Davis J.L., Flynn H.W.Jr., Gonzales S., Feuer W.J., Lin R.C., Lalwani G.A., Nguyen J.K., Kumar G.: Short-term safety and efficacy of intravitreal bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Retina*, 2006; 26: 495–511
- [34] Rosenfeld P.J., Fung A.E., Puliafito C.A.: Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab (Avastin) for macular edema from central retinal vein occlusion. *Ophthalmic Surg. Lasers Imaging*, 2005; 36: 336–339
- [35] Rosenfeld P.J., Moshfeghi A.A., Puliafito C.A.: Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmic Surg. Lasers Imaging*, 2005; 36: 331–335
- [36] Rosenfeld P.J., Schwartz S.D., Blumenkranz M.S., Miller J.W., Haller J.A., Reimann J.D., Greene W.L., Shams N.: Maximum tolerated dose of a humanized anti-vascular endothelial growth factor antibody fragment for treating neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, 2005; 112: 1048–1053
- [37] Sanborn R.E., Sandler A.B.: The safety of bevacizumab. *Expert Opin. Drug Saf.*, 2006; 5: 289–301
- [38] Schrama D., Reisfeld R.A., Becker J.C.: Antibody targeted drugs as cancer therapeutics. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2006; 5: 147–159
- [39] Spitzer M.S., Wallenfels-Thilo B., Sierra A., Yoeruek E., Peters S., Henke-Fahle S., Bartz-Schmidt K.U., Szurman P.: Antiproliferative and cytotoxic properties of bevacizumab (Avastin) on different ocular cells. *Br. J. Ophthalmol.*, 2006; 10: 1316–1321
- [40] Stec R.: Badania przesiewowe w raku jelita grubego. *Współczesna Onkologia*, 2006; 3: 96–102
- [41] Tozer G.M.: Measuring tumour vascular response to anti-vascular and antiangiogenic drugs. *Br. J. Radiol.*, 2003; 76: S23–S35
- [42] Tozer G.M., Kanthou C., Baguley B.C.: Disrupting tumour blood vessels. *Nat. Rev. Cancer*, 2005; 5: 423–435
- [43] Utracka-Hutka B.: Leczenie celowane chorych na raka jelita grubego – aktualny stan wiedzy. *Współczesna Onkologia*, 2006; 3: 121–127
- [44] Verheul H.M., Pinedo H.M.: Inhibition of angiogenesis in cancer patients. *Expert Opin. Emerg. Drugs*, 2005; 10: 403–412
- [45] Yang C.Y., Haworth L., Sherry R.M., Hwu P., Schwartzentruber D.J., Topalian S.L., Steinberg S.M., Chen H.X., Rosenberg S.A.: A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *New Engl. J. Med.*, 2003; 5: 427–434
- [46] Ziółkowska D., Szeligowski M.: Leki onkologiczne w rejestrach centralnych. *Farmacja Polska*, 2006; 6: 280–283

