

Marek Z. Wojtukiewicz^{1, 2}, Ewa Sierko^{1, 2}, Mirosław Rybałtowski^{1, 2}

¹Klinika Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

²Białostockie Centrum Onkologii

Leczenie antyangiogenne chorych na pierwotne nowotwory ośrodkowego układu nerwowego

Antiangiogenic treatment of primary cancers of central nervous system

Adres do korespondencji:

prof. dr hab. med. Marek Z. Wojtukiewicz
Klinika Onkologii, Uniwersytet Medyczny
w Białymstoku

Białostockie Centrum Onkologii
ul. Ogrodowa 12, 15-027 Białystok
Tel.: +48 (85) 664 67 34

e-mail: onkologia@umwb.edu.pl,
ewa.sierko@iq.pl

STRESZCZENIE

Glejaki o wysokim stopniu złośliwości histopatologicznej należą do najczęstszych pierwotnych nowotworów ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Są one bardzo dobrze unaczynione, przez co mogą stanowić doskonały model do oceny wpływu procesu angiogenezy na rozwój guza nowotworowego. Celowe zatem wydają się również próby wykorzystania w terapii chorych na te nowotwory nowych leków, interferujących z procesem angiogenezy.

Słowa kluczowe: angiogeneza, pierwotne nowotwory mózgu, glejaki, VEGF, terapia celowana, inhibitory kinazy tyrozynowej

ABSTRACT

High grade gliomas are among the most common primary brain tumors. They are highly vascularized structures and may serve as a perfect model to study the process of tumor angiogenesis and to investigate new anti-angiogenic therapies. This review focuses on the role of angiogenic factors in glioma development and presents new therapeutic strategies which interfere with angiogenesis.

Key words: angiogenesis, malignant glioma, glioblastoma, VEGF, targeted therapy, tyrosine kinase inhibitors

Onkol. Prak. Klin. 2009; 5, supl. A: A48–A55

Onkologia w Praktyce Klinicznej
2009, tom 5, supl. A, A48–A55
Copyright © 2009 Via Medica
ISSN 1734-3542
www.opk.viamedica.pl

Pierwotne guzy mózgu

Pierwotne guzy mózgu stanowią niejednorodną grupę nowotworów. Co roku w Polsce stwierdza się ponad 2500 nowych przypadków pierwotnych guzów mózgu, z których około połowę stanowią nowotwory wywodzące się z komórek glejowych. Rocznie w Polsce rozpoznaje się około 600 nowych przypadków chorych na najbardziej złośliwe gwiazdziaki, czyli glejaka anaplastycznego i glejaka wielopostaciowego (GBM, *glioblastoma multiforme*). Przeżycie 2-letnie chorych na glejaka anaplastycznego (G III) jest udziałem niespełna 70% pacjentów, zaś szczególnie złe rokowanie dotyczy chorych na GBM (G IV), gdyż 2 lata przeżywa jedynie 10% spośród nich [1, 2]. Mediana czasu przeżycia chorych

na te postaci glejaków wynosi odpowiednio: poniżej 3 lat i poniżej 1 roku.

Glejaki dobrze zróżnicowane wykazują znaczną tendencję do przekształcania się w guzy o wyższym stopniu złośliwości [3]. W materiale genetycznym komórek glejaka dochodzi do kumulacji zaburzeń prowadzących do inaktywacji genów supresorowych, takich jak: p53 (*tumor protein 53*), p16 (*cyclin-dependent kinase inhibitor p16*), RB (*retinoblastoma*), PTEN (*phosphatase and tensin homolog suppressor gene*) oraz aktywacji onkogenów, jak chociażby MDM2 (*mouse double minute*), CDK4/6 (*cyclin-dependent kinase 4/6*). Dochodzi do nasilonej syntezy czynników wzrostu oraz ich receptorów, jak również zmiany w samych receptorach oraz zależnych od nich szlakach przekazywania sygnałów wewnątrzkomórkowych.

go. Zaburzenia te prowadzą do zwiększonej proliferacji komórek glejaka, zahamowania reakcji obronnych organizmu, a także do rozwoju unaczynienia guza. Gwiaździki o niższym stopniu złośliwości (GI i GII) są słabo unaczynione. Z kolei glejak wielopostaciowy jest jednym z najbardziej unaczynionych nowotworów. Nadmierną ekspresję płytkowego czynnika wzrostu (PDGF, *platelet-derived growth factor*) oraz jego receptora stwierdza się we wszystkich guzach pochodzenia glejowego. Podobnie delecję allele p53 na ramieniu krótkim 17 chromosomu, odpowiedzialną za utratę aktywności supresorowej tego genu, wykrywa się w 30–50% przypadków glejaków zarówno o niskiej, jak i wysokiej złośliwości histologicznej [4], co może świadczyć o udziale tego zjawiska we wczesnych etapach rozwoju pierwotnych nowotworów mózgu. W komórkach glejaka o wyższej złośliwości histopatologicznej znacznie częściej występuje nadmierna ekspresja czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF, *vascular endothelial growth factor*), transformującego czynnika wzrostu β (TGF- β , *transforming growth factor β*), katepsyny B oraz receptora dla czynnika wzrostu naskórka (EGFR, *epidermal growth factor receptor*) — zwłaszcza jego zmutowanej formy Δ EGFR, która charakteryzuje się konstytutywną aktywacją receptora niezależną od przyłączenia liganda [5].

Niezwykle ważny dla klinicystów jest fakt, że nowotwory te wykazują rozproszony, naciekający wzrost, przez co radykalna resekcja jest zazwyczaj niemożliwa, zaś leczenie uzupełniające w postaci radioterapii — nieskuteczne.

Unaczynienie prawidłowej tkanki mózgowej i guzów złośliwych

Barierę krew–mózg tworzą trzy rodzaje komórek. Struktura ta zapobiega swobodnej wymianie cząsteczek pomiędzy krwią a tkanką mózgową, ściśle reguluje skład płynu w przestrzeni pozakomórkowej mózgu, także stanowi barierę dostępu leków do ośrodkowego układu nerwowego (OUN) [6, 7]. Są to komórki śródbłonna naczyń (ECs, *endothelial cells*), perycyty i komórki gwiaździste. Ścisłe połączenia (TJs, *tight junctions*) pomiędzy ECs regulują transport substancji z łożyska naczyniowego do przestrzeni pozanaczyniowej. Połączenia te utworzone są przez 3 odrębne klasy białek błonowych: okludyny, kładyny oraz białka adhezyjne, a ponadto białka pomocnicze i lipidy. Przechodzenie substancji przez barierę krew–mózg uzależnione jest od prawidłowo funkcjonujących mechanizmów, takich jak: międzykomórkowy szlak wodny (transport substancji rozpuszczalnych w wodzie), przezkomórkowy szlak lipofilny (transport substancji rozpuszczalnych w tłuszczach); mechanizmów transportujących białka, jak rów-

niez endocytozy absorpcyjnej (transport albumin i innych białek osocza krwi) oraz endocytozy zależnej od specyficznego receptora (transport insuliny i transferyny). Obecność tak szczelnej bariery sprawia, iż przenikanie dużych białkowych cząsteczek z krwiobiegu do tkanki mózgowej jest praktycznie niemożliwe. W związku z tym próby wykorzystania przeciwciał monoklonalnych w leczeniu glejaków zdają się być skazane na porażkę. Jednakże pojawiają się obiecujące doniesienia na temat skuteczności stosowania na przykład bewacyzumabu w leczeniu glejaków. Przy czym należy pamiętać, że bewacyzumab łączy się z ligandem, którego receptor zlokalizowany jest na ECs. Pojawienie się pierwotnego guza nowotworowego w tkance mózgowej doprowadza do upośledzenia funkcji bariery krew–mózg poprzez zmniejszenie ekspresji niektórych białek wchodzących w skład TJs oraz pojawienie się fenestracji pomiędzy ECs [8, 9]. Istotne jest, że unaczynienie guza mózgu jest heterogenne, zaś funkcja bariery krew–mózg jest zróżnicowana w różnych obszarach tego guza. Znacznie mniejsze od białek cząsteczki inhibitorów kinazy tyrozynowej zdecydowanie łatwiej penetrują przez barierę krew–mózg, dając nadzieję na wykorzystanie tej grupy leków w skutecznej terapii glejaków.

W niedojrzałych glejakach wielopostaciowych obserwuje się wybitnie nasiloną proliferację ECs drobnych naczyń krwionośnych z charakterystycznym, wielowarstwowym ułożeniem tych komórek. Mogą one stanowić dogodny cel terapii przeciwnowotworowej ukierunkowanej na hamowanie procesu angiogenezy. Nowo powstałe naczynia krwionośne w glejakach o wysokiej złośliwości histopatologicznej tworzą charakterystyczne formy morfologiczne przypominające kłębuszki nerkowe („glomeruloid” *microvascular proliferation*) [10]. W ostatnich latach rozważa się również udział alternatywnych mechanizmów powstawania nowych naczyń krwionośnych w guzach nowotworowych, jak na przykład rekrutacja komórek prekursorowych śródbłonna naczyń [11].

W tkankach prawidłowych równowaga pomiędzy czynnikami pro- i antyangiogennymi zapewnia adekwatne unaczynienie, czego konsekwencją jest właściwe ich odżywienie i utlenowanie oraz skuteczne usuwanie z nich zbędnych produktów przemiany materii. Zaburzenia tej dynamicznej homeostazy, spowodowane niedotlenieniem lub anomaliami genetycznymi, prowadzą do pobudzenia angiogenezy (tzw. *angiogenic switch*). Skutki biologiczne i kliniczne tego procesu są nie do przecenienia. Otóż badania dotyczące gwiaździków i innych nowotworów mózgu wykazują odwrotną zależność pomiędzy gęstością naczyń w biopsji guza a przeżyciem chorych [12, 13].

Sieć naczyń krwionośnych OUN jest bardzo dobrze rozwinięta, gdyż kapilary rozmieszczone są w odległości około 40–50 μ m od siebie, zaś odległość pojedyn-

czej komórki od naczynia krwionośnego w OUN wynosi około 20 μm [14, 15]. Rozwój guzów mózgu wrażliwych rozprężająco, jak na przykład oponiaki, wymaga tworzenia nowych naczyń krwionośnych. Część proliferujących komórek gleju wykazuje natomiast wzrost typu rozproszonego, „otacza” istniejące naczynia krwionośne, zapewniając sobie niezbędne składniki odżywcze [16]. Powyższe zjawisko może być przyczyną oporności na leczenie antyangiogenne. Po pewnym czasie dochodzi do niedotlenienia komórek glejaka, ale także otaczającej zdrowej tkanki mózgowej. Komórki, które znajdują się w odległości większej niż 100–200 μm od naczynia, nie odnoszą żadnej korzyści z jego sąsiedztwa [17]. Funkcjonalny udział nowych, nieprawidłowych naczyń w niedojrzałych glejakach wielopostaciowych jest niejasny. Jak wcześniej wspomniano, glejaki, a zwłaszcza GBM, należą do najbardziej unaczynionych guzów nowotworowych [18]. Proces angiogenezy wpływa znacząco na przebieg kliniczny glejaków złośliwych. Gęstość unaczynienia glejaków o stopniu złośliwości histopatologicznej GII jest zbliżona do prawidłowej tkanki mózgowej, istotnie wzrasta w glejakach anaplastycznych (GIII), zaś w GBM jest największa spośród wszystkich znanych nowotworów złośliwych [19]. Współistnienie niezwykle bogatej sieci naczyniowej, która przyjmuje postać kłębuszków z obszarami martwicy w guzie może wskazywać, iż angiogeneza w glejakach, mimo że bardzo pobudzona, jest nadal niewystarczająca, nieprawidłowa lub zachodzi zbyt późno [20]. Należy podkreślić, iż naczynia guzów mózgu należą do dwóch różnych populacji. Są to bowiem naczynia gospodarza włączone do tkanki guza oraz włośniczki powstałe w procesie angiogenezy. Interesujące jest, iż w guzach charakteryzujących się rozproszonym typem naciekania, jak chociażby w GBM, naczynia gospodarza stanowią dużą część unaczynienia guza [21].

Czynniki proangiogenne i ich rola w angiogenezie w guzach mózgu

Pierwszym etapem angiogenezy jest zwiększenie przepuszczalności naczyń krwionośnych. Niedotlenienie, najsilniejszy czynnik proangiogeny, stymuluje zwiększone wytwarzanie angiopoetyny 2 (Ang-2) przez ECs oraz komórki guza. Angiopoetyna 2, łącząc się z receptorem Tie-2 na ECs, powoduje dezintegrację ECs i perycytów, a przez to zwiększa przepuszczalność naczyń [22–24]. Ważną rolę odgrywa również czynnik wzrostu śródbłonna naczyń A (VEGF-A, *vascular endothelial growth factor A*) oraz zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (bFGF, *basic fibroblast growth factor*). Pierwszy z nich, znany wcześniej jako czynnik przepuszczalności naczyń (VPF, *vascular permeability factor*), jest najsilniejszym czynnikiem proangiogenym spośród

grupy czynników wzrostu VEGF i zwiększa przepuszczalność naczyń 50 000 razy bardziej efektywnie niż histamina [25]. Do uruchomienia jego aktywności biologicznej dochodzi poprzez połączenie VEGF z dwoma swoistymi receptorami VEGFR-1 (flt-1) oraz VEGFR-2 (KDR) [26]. Receptory te pośredniczą zarówno w zakresie wzrostu przepuszczalności naczyń, jak i w aktywności mitogennej VEGF. Czynnik ten pobudza również mobilizację macierzystych ECs ze szpiku kostnego, z których to powstaje około 16% ECs w guzie nowotworowym [27]. Do jego funkcji należą również: aktywacja ECs, która prowadzi do „przeprogramowania” ekspresji genów w ECs. Ekspresja VEGF oraz jego receptorów zależy w głównej mierze od niedotlenienia [28] oraz stężenia czynnika indukowanego niedotlenieniem 1 (HIF-1, *hypoxia-inducible factor 1*) [29]. Potwierdzeniem aktywności proangiogennej VEGF w GBM może być fakt stwierdzenia ponad 50-krotnie większej ekspresji mRNA dla tego czynnika w guzie niż w tkance prawidłowej mózgu [30, 31].

Zwiększona przepuszczalność naczyń krwionośnych umożliwia wynaczynienie między innymi czynników układu krzepnięcia [19]. Czynnik VEGF nasila również ekspresję czynnika tkankowego (TF, *tissue factor*) na powierzchni ECs i makrofagów. Może to sprzyjać zakrzepicy naczyń mikrokrążenia, która prowadzi do powstania ogniskowego niedotlenienia. Niedotlenienie powoduje migrację komórek nowotworowych w kierunku wydolnych naczyń krwionośnych. Komórki glejaka, które nie opuściły miejsca niedotlenienia, obumierają, tworząc ognisko martwicy [32]. Tak zwane „fale” migrujących komórek glejaka dają mikroskopowy obraz martwicy otoczonej strukturą pseudopalisadową. Komórki glejaka tworzące tę strukturę wytwarzają zwiększone ilości VEGF i interleukiny 8 (IL-8), przez co stymulują tworzenie nowych naczyń krwionośnych peryferyjnie do ognisk martwicy.

Drugim fundamentalnym etapem procesu angiogenezy jest proteoliza błon podstawnych naczyń i macierzy międzykomórkowej (ECM, *extracellular matrix*). Szczególnie istotną rolę w tych procesach w glejakach mózgu odgrywają: aktywator plazminogenu typu urokinazy (uPA, *urokinase plasminogen activator*) [33], metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej (MMPs, *matrix metalloproteinases*) [34] oraz katepsyna B [35]. Niedotlenienie, poprzez Ang-2, zwiększa ekspresję MMP-2 i MMP-9 [36]. Okazuje się również, iż produkty proteolizy białek ECM, takie jak angiostatyna, będąca produktem proteolizy plazminogenu, są silnymi regulatorami angiogenezy [37].

Proliferacja i migracja ECs są kolejnymi kluczowymi etapami angiogenezy. Pod wpływem cytokin proangiogeny ECs przechodzą ze stanu spoczynku, w którym długość cyklu komórkowego mierzona jest w latach, w fazę szybkiego namnażania. Na tym etapie ECs

charakteryzują się fenotypem wysoce inwazyjnym i przypominają pod tym względem komórki nowotworowe. Czynniki proangiogenne reprezentują różne grupy substancji, w tym czynniki wzrostu: VEGF, bFGF, czynnik wzrostu hepatocytów/czynnik rozproszenia (HGF/SF, *hepatocyte growth factor/scatter factor*), PDGF, insulino-podobny czynnik wzrostu 1 (IGF-1, *insulin-like growth factor 1*); cytokiny prozapalne (IL-3, IL-8), białka ECM (kwas hialuronowy, laminina, fibronektyna, tenascyna, kolagen IV) oraz neuropeptydy (angiogenina, adrenomedulina, estrogeny). Nowo powstałe ECs migrują w kierunku niedotlenionych komórek nowotworowych, wydzielających duże ilości czynników proangiogennych. Najsilniejszym czynnikiem stymulującym oba te procesy w OUN jest wspomniany wcześniej VEGF [38, 39]. Niedotlenienie prowadzi do stabilizacji podjednostki α HIF-1, a przez to pobudzona zostaje transkrypcja czynników proangiogennych (m.in. VEGF) oraz ich receptorów (m.in. VEGFR) [40]. Nadmierna ekspresja czynnika wzrostu naskórka (EGF, *epidermal growth factor*), PDGF oraz ich receptorów, jak również mutacje genów supresorowych, jak: p16^{INK4a}, p14^{ARF}, PTEN, RB i p53 oraz zjawisko utraty heterozygotyczności chromosomów (1p, 10p, 10q, 19q i 22q) mogą być odpowiedzialne za rozwój glejaków poprzez długotrwałą aktywację HIF-1 [41]. Na przykład, komórki pierwotnego glejaka wielopostaciowego wykazują znacznie większą ekspresję receptora dla EGF (EGFR), częstszą delecję p16 i mutację PTEN niż guzy o mniejszej złośliwości. Do aktywacji HIF-1 dochodzi na drodze pobudzenia szlaków przekazywania wewnątrzkomórkowego związanych z kinazą aktywowaną mitogenem (MAPK, *mitogen-activated protein kinase*) i kinazą 3-fosfatydylinozytolu (PI3K, *phosphatidylinositol 3-kinase*) [42]. Do końca nie poznano procesu migracji ECs. Istotną rolę w tym procesie przypisuje się cząsteczkom adhezyjnym, na przykład integrynom i białku CD44, licznie reprezentowanym na komórkach glejaków i ECs oraz perycytów [43–45]. Do integryn najbardziej zaangażowanych w proces migracji ECs zalicza się: $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$ oraz $\alpha_5\beta_1$ [46].

Innym czynnikiem o podobnym do VEGF profilu aktywności biologicznej jest IL-8. Wzrost stężenia IL-8 jest również indukowany niedotlenieniem, ale nie zależy od aktywności HIF-1 [47]. Niedotlenienie prowadzi także do zmniejszenia aktywności czynników antyangiogennych, na przykład trombospondyny 1 [48].

W końcowym etapie angiogenezy dochodzi do stabilizacji nowo powstałych naczyń krwionośnych pod wpływem endogennych inhibitorów proteolizy, takich jak endostatyny, angiostatyny, arestyny i tumstatyny [49]. Ponadto, ECs wydzielają PDGF, pod wpływem którego dochodzi do rekrutacji perycytów (będących czynnikami ochronnymi dla ECs), pokrywających błony podstawne naczyń krwionośnych [50].

Leczenie antyangiogenne chorych na nowotwory złośliwe mózgu

Wykazanie zależności pomiędzy stopniem rozwoju unaczynienia guza a jego agresywnością skłoniło naukowców do podjęcia prób terapii celowanej, czyli ukierunkowanej na białka biorące udział w procesie angiogenezy. Istnieje kilka punktów uchwytu, które można wykorzystać, próbując zahamować proces angiogenezy w guzach mózgu. Obecnie w ramach licznych badań klinicznych obejmujących chorych na nowotwory złośliwe mózgu ocenia się wiele nowych preparatów o mechanizmie działania ukierunkowanym na zahamowanie procesu angiogenezy [51–83]:

I. Hamowanie szlaków zależnych od HIF-1:

— inhibitory mTOR:

- a) temsirolimus (CCI-779) [55, 56];
- b) everolimus (RAD001) [57];
- c) sirolimus (rapamycin) [58];

— inhibitory Raf:

- d) sorafenib (BAY 43-9006) [59].

II. Hamowanie ekspresji kluczowych genów biorących udział w angiogenezie za pomocą oligonukleotydów antysensownych oraz rybozymów [60].

III. Wykorzystanie substancji hamujących czynniki wzrostu (np. VEGF):

— przeciwciała neutralizujące:

- a) bewacyzumab [61];

— rozpuszczalne formy receptorów wychwytyjące krążące we krwi czynniki wzrostu (*soluble trap receptor*):

- a) VEGF Trap [62].

IV. Wykorzystanie substancji blokujących receptory uczestniczące w procesie angiogenezy:

— hamowanie ekspresji receptorów, na przykład VEGFR i bFGF:

- a) talidomid i lenalidomid [63–65];

— przeciwciała blokujące receptor:

- a) suramin — blokuje łączenie ligandów do EGFR, PDGFR, FGFR [66],
- b) CT-322 — blokuje łączenie ligandów do VEGFR2 [67, 68];

— inhibitory kinaz tyrozynowych:

- a) gefitynib i erlotynib — inhibitor kinazy EGFR [69, 70],
- b) lapatynib — inhibitor kinazy EGFR i HER2/neu [71],
- c) vatalanib, cediranib (AZD2171) oraz pazopanib — inhibitory kinaz tyrozynowych VEGFR 1–3, ale także PDGFR- β oraz c-Kit [72–75],
- d) semaxanib (SU5416) — inhibitor kinazy tyrozynowej VEGFR-2, c-Kit oraz FLT3 (*FMS-like tyrosine kinase 3*) [76],
- e) sunitynib — inhibitor kinazy tyrozynowej VEGFR-2, PDGFR- β , c-Kit, FLT3 (*FMS-like tyrosine kinase 3*) [77],

- f) vandetanib — inhibitor kinazy tyrozynowej VEGFR-2, EGFR, RET (*Ret pro-oncogen*) [78],
 g) PTK787/222584 — inhibitor VEGFR, PDGF i FGF,
 h) imatynib — inhibitor kinazy tyrozynowej BcrAbl, PDGF, SCF (czynnik komórek macierzystych), wybiórczo hamuje protoonkogen c-Kit i ekspresję białka Kit [79].
- V. Wykorzystanie substancji hamujących proteazy, w tym substancji endogennych:
- marimastat — inhibitor metaloproteinaz [80],
 - cilengitide — łączy się z integrzynami $\alpha_v\beta_3$ i $\alpha_v\beta_5$, hamując ich aktywność [81],
 - ATN-161 — łączy się z integrzyną $\alpha\beta_1$, hamując jej aktywność [82].
- VI. Naturalne czynniki antyangiogenne:
- interferon α i β oraz PEG-INF 2b — hamują ekspresję bFGF [83],
 - ABT-510 — analog antyangiogennej trombospondyny 1,
 - TNP470 — indukcja p53 i hamowanie CDK2 (*cyklin-dependent kinase 2*).

W ostatnim czasie zakończono dwa badania II fazy z wykorzystaniem inhibitora mTOR u chorych z nawrotowym GBM (łącznie 108 chorych). Temsirolimus podawano cotygodniowo w dawce 170–250 mg. Nie stwierdzono wydłużenia czasu do progresji (PFS, *progression-free survival*) czy też czasu całkowitego przeżycia (OS, *overall survival*). Lek był dość dobrze tolerowany, przy czym na jego metabolizm wpływały istotnie przyjmowane jednocześnie leki przeciwdrgawkowe [55, 56]. Temsirolimus w monoterapii ma więc ograniczoną skuteczność w leczeniu chorych na GBM. W badaniach przedklinicznych wykazano potencjalną skuteczność tego leku w skojarzeniu z inhibitorami kinaz tyrozynowych EGFR, toteż planuje się kolejne badania w celu oceny skuteczności terapii kojarzącej temsirolimus, everolimus lub sirolimus z gefitynibem, erlotynibem lub AEE 788. We wstępnych badaniach oceniających skuteczność gefitynibu w skojarzeniu z preparatem sirolimus [58] lub everolimus [57] nie wykazano znamiennej różnicy w zakresie PFS i OS w stosunku do danych historycznych.

Podjęto próbę oceny skuteczności sorafenibu, który jest inhibitorem kinazy tyrozynowej BRAF (*v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1*), VEGFR-2, -3 oraz PDGFR- β , c-Kit, RAS (GTP-aza związana z białkiem G), p38 α (kinaza z grupy MAPK). Skuteczność tego leku, w skojarzeniu z erlotynibem oraz temsirolimusem lub tipifarnibem, nadal weryfikuje się w badaniach klinicznych I i II fazy prowadzonych u chorych, u których doszło do nawrotu GBM [84].

W badaniach na modelach zwierzęcych GBM wykazano skuteczność oligonukleotydów antysensownych w zakresie hamowania ekspresji endogennych czynników wzrostu, między innymi VEGF [85] lub TGF- β 2 [86]. Terapie z ich wykorzystaniem doczekały się ba-

dań klinicznych I i II fazy [60]. Jednakże zdolność komórek glejaka do przełamania blokady ekspresji VEGF może ograniczać skuteczność tej metody leczenia.

Najszerzej testowanym dotychczas u ludzi preparatem antyangiogennym jest bewacyzumab, którego cząsteczka jest przeciwciałem monoklonalnym ukierunkowanym na VEGF. Należy więc odpowiedzieć na pytanie: jak preparat ukierunkowany na niszczenie naczyń krwionośnych może wzmacniać aktywność leków, które docierają do guza z krwią? [54] Odpowiedź może ułatwić przedstawiona poniżej teoria. Otóż pomimo upośledzonej funkcji bariery krew–mózg (zmniejszona ekspresja niektórych białek wchodzących w skład TJs oraz fenestracja pomiędzy ECs w tych obszarach) w guzach mózgu penetracja klasycznych chemioterapeutyków do tkanki mózgowej jest nieefektywna. Pośrednio może to wynikać z wysokiego ciśnienia panującego wewnątrz guza, które utrudnia transport leków z przestrzeni wewnątrz-naczyniowej do tkanki mózgowej, ale również z nieefektywnego unaczynienia, o którym wspomniano powyżej. Do pożądaných skutków terapii antyangiogennej należałoby zatem zaliczyć: normalizację bądź regresję patologicznego unaczynienia oraz zmniejszenie obrzęku tkanek w obrębie guza [87]. Normalizacja krążenia w guzie może prowadzić do zwiększonej penetracji cytostatyków, co w konsekwencji mogłoby skutkować dobrym efektem synergistycznym leczenia antyangiogennego skojarzonego z klasyczną chemioterapią [88].

Zachęcające wyniki leczenia bewacyzumabem w skojarzeniu z irynotekaniem u chorych z nawrotowymi glejakami GIII i GIV przedstawili Vredenburgh i wsp. [89]. W badaniu tym grupa 32 pacjentów otrzymywała bewacyzumab w dawce 10 mg/kg oraz irynotekan co 2 tygodnie. Druga grupa 36 pacjentów otrzymywała bewacyzumab w dawce 15 mg/kg co 3 tygodnie oraz irynotekan co tydzień przez pierwsze 4 tygodnie, a następnie stosowano 2 tygodnie przerwy. Dawki irynotekanu wynosiły 340 mg/m² u chorych przyjmujących leki przeciwdrgawkowe lub 125 mg/m² u pacjentów, którzy nie stosowali takich leków. Wykazano zwiększenie odsetka odpowiedzi częściowych i całkowitych w porównaniu z wartościami uzyskanymi w monoterapii temozolamidem u chorych na glejaki o złośliwości histologicznej GIII i GIV, odpowiednio: z 35% do 65% i z 5% do 53%. Mediana OS wzrosła z 54 do 60 tygodni u chorych z guzami w trzecim stopniu złośliwości histologicznej oraz z 30 do 40 tygodni u chorych na GBM.

VEGF *Trap* jest lekiem składającym się z części zewnątrzkomórkowych domen ludzkiego VEGFR1 i VEGFR2 oraz stałej części ludzkiego IgG1. Jego mechanizm działania polega na wychwytywaniu VEGF, a przez to zapobieganiu połączenia VEGF z jego receptorem na ECs w guzie nowotworowym [90, 91]. Na modelach zwierzęcych GBM wykazano skuteczność VEGF *Trap* w potencjalizacji efektów radioterapii [92]. Obecnie planuje się

badania kliniczne II fazy, których celem jest ocena skuteczności tego leku w skojarzeniu z temozolamidem u chorych z nowo rozpoznanym GBM.

Ostatnio intensywnie bada się skuteczność talidomidu u chorych na glejaki o wysokiej złośliwości histopatologicznej. W badaniach II fazy, oceniających skuteczność talidomidu w monoterapii chorych na nawrotowe glejaki, wykazano jedynie niewielką skuteczność tego leku [64, 93]. Jednak wyraźną korzyść terapeutyczną uzyskano w badaniu oceniającym efektywność skojarzenia talidomidu z karboplatiną [94], karmustyną [95] oraz temozolamidem [96]. Nadal trwa wiele badań, których celem jest ocena skuteczności skojarzenia talidomidu, a także jego analoga — lenalidomidu — z różnymi lekami (irynotekan, prokarbazyna, celekoksyb) oraz radioterapią u chorych na pierwotne nowotwory OUN.

Skuteczność suraminy, leku blokującego łączenie ligandów do EGFR, PDGFR, FGFR, oceniano w skojarzeniu z radioterapią u chorych z pierwotnym GBM [66]. W badaniu tym nie wykazano jednak korzyści terapeutycznej u chorych otrzymujących oceniany lek.

Obecnie w próbach klinicznych I i II fazy powszechnie bada się skuteczność leków z grupy inhibitorów kinaz tyrozynowych. Wyniki zakończonych już badań są jednak niezadowolające [69]. Dotychczas leki te są/były testowane w skojarzeniach z temozolamidem [70], inhibitorami mTOR [58] oraz radio- i chemioterapią [97].

Poprawa utlenowania komórek nowotworowych, wynikająca ze zmniejszenia strefy obrzęku po zastosowaniu przeciwciał anti-VEGF, może również skutkować większą promieniowrażliwością guzów [98] oraz zapobiegać nagłym zwyczajom ekspresji VEGF obserwowanym po radioterapii [99]. Teorię tę zdaje się potwierdzać badanie przeprowadzone u chorych z nawrotowym GBM, w którym wykorzystano nieinwazyjne badanie rezonansu magnetycznego (MRI, *magnetic resonance imaging*), aby ocenić efekt stosowania cediranibu [100]. Cediranib (AZD2171), będący doustnym inhibitorem kinazy tyrozynowej VEGFR oraz PDGFR- α , - β i c-Kit (receptor z rodziny receptorów dla PDGF), wykazał aktywność w zakresie normalizacji naczyń krwionośnych w ciągu 24 godzin od podania leku. Normalizacja naczyń utrzymywała się przynajmniej przez 28 dni. W badaniu tym wykazano również, iż normalizacja naczyń krwionośnych wiązała się ze zmniejszeniem nasilenia obrzęku mózgu i zmniejszeniem konieczności stosowania kortykosteroidów u chorych na GBM.

Toksyczność terapii antyangiogennej stosowanej u chorych na pierwotne guzy mózgu

Do najczęstszych działań niepożądanych terapii antyangiogennej stosowanej u chorych na nowotwory zło-

śliwe OUN należy zaliczyć zmęczenie oraz zespół odwracalnej tylnej leukoencefalopatii (RPLS, *reversible posterior leukoencephalopathy syndrome*). Ten ostatni jest rzadkim zespołem kliniczno-radiologicznym, który cechuje się różnymi objawami neurologicznymi w przebiegu obustronnego obrzęku tylnych części istoty białej mózgu. Zespół ten rozpoznaje się, wykorzystując rezonans magnetyczny, a do jego objawów klinicznych należą: bóle głowy, ospałość oraz zaburzenia pamięci i widzenia [101]. Obserwowano go także u chorych poddawanych leczeniu cytostatycznym bez udziału terapii antyangiogennej [102].

Ocena efektów leczenia antyangiogennego u chorych na pierwotne nowotwory złośliwe mózgu

Wraz z wprowadzeniem leków antyangiogennych do codziennej praktyki klinicznej konieczne będzie rozwiązanie problemu monitorowania wyników leczenia chorych na pierwotne guzy mózgu, u których zastosowano tę terapię. Zmniejszenie przepuszczalności naczyń, do którego dochodzi w efekcie normalizacji naczyń krwionośnych guza po zastosowaniu leczenia antyangiogennego, można udokumentować jako zmniejszone przenikanie kontrastu do przestrzeni pozanacyniowej mózgu. Należy jednak odpowiedzieć na pytanie: na ile zmniejszona przepuszczalność naczyń koresponduje z efektem cytostatycznym stosowanego leczenia. Rezonans magnetyczny pozostaje standardowym badaniem w ocenie struktur wewnątrzczaszkowych. Nowe techniki umożliwiają ocenę strefy obrzęku (FLAIR, *fluid attenuated inversion recovery*), pozorny współczynnik dyfuzji (ADC, *apparent diffusion coefficient*) oraz aktywność metaboliczną guza (*extracellular-extravascular volume fraction*) [103]. Obecnie bardzo zachęcające wydają się możliwości diagnostyki obrazowej z wykorzystaniem nowych technik kojarzących cechy spektroskopii rezonansu magnetycznego oraz pozytonowej tomografii emisyjnej (PET, *positron emission tomography*) w połączeniu z rezonansem magnetycznym i tomografią komputerową.

Równie ważnym zagadnieniem jest określenie biomarkerów oznaczanych w próbkach krwi i/lub moczu, za pomocą których można by monitorować terapię antyangiogenną. Dotychczas nie określono markerów umożliwiających kwalifikację chorych do grupy pacjentów, u których leczenie antyangiogenne może przynieść wymierne korzyści. Podejmuje się jednak próby oznaczania stężenia krążących we krwi ECs (CECs, *circulating endothelial cells*), VEGF, łożyskowego czynnika wzrostu (PIGF, *placenta growth factor*), bFGF, VEGFR2 niezwiązanych z błoną komórkową oraz rozpuszczal-

nych form cząsteczek adhezyjnych, na przykład międzykomórkowej cząsteczki adhezyjnej 1 (ICAM-1, *intercellular adhesion molecule 1*). Obserwowano zależność pomiędzy objętością guza ocenianą na podstawie badań radiologicznych u chorych na glejaki, u których doszło do nawrotu choroby, leczonych cediranibem, a stężeniami bFGF, czynnika pochodzenia stromalnego 1 (SDF1, *stromal derived factor 1*) i CECs we krwi [100]. Powyższe interesujące spostrzeżenia dają nadzieję na możliwość wprowadzenia w przyszłości prostych testów, które można będzie wykorzystać do monitorowania efektów leczenia antyangiogennego.

Piśmiennictwo

- Chang S.M., Barker F.G. 2nd, Schmidt M.H., i wsp. Clinical trial participation among patients enrolled in the Glioma Outcomes Project. *Cancer* 2002; 94: 2681–2687.
- Furuta M., Weil R.J., Vortmeyer A.O. i wsp. Protein patterns and proteins that identify subtypes of glioblastoma multiforme. *Oncogene* 2004; 23: 6806–6814.
- Sehgal A. Molecular changes during the genesis of human gliomas. *Semin. Surg. Oncol.* 1998; 14: 3–12.
- Dulić V., Kaufmann W.K., Wilson S.J. i wsp. p53-dependent inhibition of cyclin-dependent kinase activities in human fibroblasts during radiation-induced G1 arrest. *Cell* 1994; 76: 1013–1023.
- Nishikawa R., Sugiyama T., Narita Y., Furnari F., Cavenee W.K., Matsutani M. Immunohistochemical analysis of the mutant epidermal growth factor, deltaEGFR, in glioblastoma. *Brain Tumor Pathol.* 2004; 21: 53–56.
- Ballabh P., Braun A., Nedergaard M. The blood-brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiol Dis.* 2004; 16: 1–13.
- Abbott N.J., Rönnebeck L., Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nat. Rev. Neurosci.* 2006; 7: 41–53.
- Fidler I.J., Yano S., Zhang R.D., Fujimaki T., Bucana C.D. The seed and soil hypothesis: vascularisation and brain metastases. *Lancet Oncol.* 2002; 3: 53–57.
- Yuan F., Salehi H.A., Boucher Y., Vasthare U.S., Tuma R.F., Jain R.K. Vascular permeability and microcirculation of gliomas and mammary carcinomas transplanted in rat and mouse cranial windows. *Cancer Res.* 1994; 54: 4564–4568.
- Sharma S., Sharma M.C., Gupta D.K., Sarkar C. Angiogenic patterns and their quantitation in high grade astrocytic tumors. *J. Neurooncol.* 2006; 79: 19–30.
- Vescovi A.L., Galli R., Reynolds B.A. Brain tumour stem cells. *Nat. Rev. Cancer* 2006; 6: 425–436.
- Li V.W., Folkherth R.D., Watanabe H. i wsp. Microvessel count and cerebrospinal fluid basic fibroblast growth factor in children with brain tumours. *Lancet* 1994; 344: 82–86.
- Leon S.P., Folkherth R.D., Black P.M. Microvessel density is a prognostic indicator for patients with astroglial brain tumors. *Cancer* 1996; 77: 362–372.
- Newton H.B. Advances in strategies to improve drug delivery to brain tumors. *Expert Rev. Neurother.* 2006; 6: 1495–1509.
- De Boer A.G., Gaillard P.J. Drug targeting to the brain. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2007; 47: 323–355.
- Farin A., Suzuki S.O., Weiker M., Goldman J.E., Bruce J.N., Canoll P. Transplanted glioma cells migrate and proliferate on host brain vasculature: A dynamic analysis. *Glia* 2006; 53: 799–808.
- Rijken P.F., Bernsen H.J., Peters J.P., Hodgkiss R.J., Raleigh J.A., van der Kogel A.J. Spatial relationship between hypoxia and the (perfused) vascular network in a human glioma xenograft: A quantitative multi-parameter analysis. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2000; 48: 571–582.
- Brem S., Cotran R., Folkman J. Tumor angiogenesis: a quantitative method for histologic grading. *J. Natl. Cancer Inst.* 1972; 48: 347–356.
- Brat D.J., Van Meir E.G. Vaso-occlusive and prothrombotic mechanisms associated with tumor hypoxia, necrosis, and accelerated growth in glioblastoma. *Lab Invest.* 2004; 84: 397–405.
- Goldman C.K., Kim J., Wong W.L., King V., Brock T., Gillespie G.Y. Epidermal growth factor stimulates vascular endothelial growth factor production by human malignant glioma cells: a model of glioblastoma multiforme pathophysiology. *Mol. Biol. Cell* 1993; 4: 121–133.
- Thompson W.D., Shiach K.J., Fraser R.A., Macintosh L.C., Simpson J.G. Tumors acquire their vasculature by vessel incorporation, not vessel ingrowth. *J. Pathol.* 1987; 151: 323–332.
- Ding H., Roncari L., Wu X. i wsp. Expression and hypoxic regulation of angiopoietins in human astrocytomas. *Neuro. Oncol.* 2001; 3: 1–10.
- Koga K., Todaka T., Morioka M. i wsp. Expression of angiopoietin-2 in human glioma cells and its role for angiogenesis. *Cancer Res.* 2001; 61: 6248–6254.
- Reiss Y., Machein M.R., Plate K.H. The role of angiopoietins during angiogenesis in gliomas. *Brain Pathol.* 2005; 15: 311–317.
- Dvorak A.M. Mast cell-derived mediators of enhanced microvascular permeability, vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, histamine, and serotonin, cause leakage of macromolecules through a new endothelial cell permeability organelle, the vesiculo-vacuolar organelle. *Chem. Immunol. Allergy* 2005; 85: 185–204.
- Gille H., Kowalski J., Li B. i wsp. Analysis of biological effects and signaling properties of Flt-1 (VEGFR-1) and KDR (VEGFR-2). A reassessment using novel receptor-specific vascular endothelial growth factor mutants. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 3222–3230.
- Garmy-Susini B., Varner J.A. Circulating endothelial progenitor cells. *Br. J. Cancer* 2005; 93: 855–858.
- Breier G., Damert A., Plate K.H., Risau W. Angiogenesis in embryos and ischemic diseases. *Thromb. Haemost.* 1997; 78: 678–683.
- Forsythe J.A., Jiang B.H., Iyer N.V. i wsp. Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol. Cell. Biol.* 1996; 16: 4604–4613.
- Shweiki D., Itin A., Soffer D., Keshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature* 1992; 359: 843–845.
- Plate K.H., Breier G., Weich H.A., Risau W. Vascular endothelial growth factor is a potential tumour angiogenesis factor in human gliomas *in vivo*. *Nature* 1992; 359: 845–848.
- Brat D.J., Castellano-Sanchez A.A., Hunter S.B. i wsp. Pseudopalisades in glioblastoma are hypoxic, express extracellular matrix proteases, and are formed by an actively migrating cell population. *Cancer Res.* 2004; 64: 920–927.
- Gladson C.L., Pijuan-Thompson V., Olman M.A., Gillespie G.Y., Yacoub I.Z. Upregulation of urokinase and urokinase receptor genes in malignant astrocytoma. *Am. J. Pathol.* 1995; 146: 1150–1160.
- Raithatha S.A., Muzik H., Newcastle N.B., Johnston R.N., Edwards D.R., Forsyth P.A. Localization of gelatinase-A and gelatinase-B mRNA and protein in human gliomas. *Neuro. Oncol.* 2000; 2: 145–150.
- Sivaparvathi M., Sawaya R., Wang S.W. i wsp. Overexpression and localization of cathepsin B during the progression of human gliomas. *Clin. Exp. Metastasis* 1995; 13: 49–56.
- Hu B., Guo P., Fang Q. Angiopoietin-2 induces human glioma invasion through the activation of matrix metalloproteinase-2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003; 100: 8904–8909.
- Pepper M.S. Role of the matrix metalloproteinase and plasminogen activator-plasmin systems in angiogenesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001; 21: 1104–1117.
- Pietsch T., Valtter M.M., Wolf H.K. i wsp. Expression and distribution of vascular endothelial growth factor protein in human brain tumors. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1997; 93: 109–117.
- Plate K.H., Breier G., Weich H.A., Mennel H.D., Risau W. Vascular endothelial growth factor and glioma angiogenesis: Coordinate induction of VEGF receptors, distribution of VEGF protein and possible *in vivo* regulatory mechanisms. *Int. J. Cancer* 1994; 59: 520–529.
- Kaur B., Tan C., Brat D.J., Post D.E., Van Meir E.G. Genetic and hypoxic regulation of angiogenesis in gliomas. *J. Neurooncol.* 2004; 70: 229–243.
- Ohgaki H., Dessen P., Jourde B. i wsp. Genetic pathways to glioblastoma: A population-based study. *Cancer Res.* 2004; 64: 6892–6899.
- Mentlein R., Held-Feindt J. Angiogenesis factors in gliomas: a new key to tumour therapy? *Naturwissenschaften.* 2003; 90: 385–394.
- Bello L., Francolini M., Marthyn P. i wsp. Alpha(v)beta3 and alpha(v)beta5 integrin expression in glioma periphery. *Neurosurgery* 2001; 49: 380–389.
- Oz B., Karayel F.A., Gazio N.L., Ozlen F., Balci K. The distribution of extracellular matrix proteins and CD44S expression in human astrocytomas. *Pathol. Oncol. Res.* 2000; 6: 118–124.

45. Bergers G., Song S. The role of pericytes in blood-vessel formation and maintenance. *Neuro. Oncol.* 2005; 7: 452–464.
46. Hood J.D., Cheresch D.A. Role of integrins in cell invasion and migration. *Nat. Rev. Cancer* 2002; 2: 91–100.
47. Brat D.J., Bellail A.C., Van Meir E.G. The role of interleukin-8 and its receptors in gliomagenesis and tumoral angiogenesis. *Neuro. Oncol.* 2005; 7: 122–133.
48. Tenan M., Fulci G., Albertoni M. i wsp. Thrombospondin-1 is downregulated by anoxia and suppresses tumorigenicity of human glioblastoma cells. *J. Exp. Med.* 2000; 191: 1789–1798.
49. Kalluri R. Basement membranes: Structure, assembly and role in tumour angiogenesis. *Nat. Rev. Cancer* 2003; 3: 422–433.
50. Ferrara N., Kerbel R.S. Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature* 2005; 438: 967–974.
51. Reardon D.A., Wen P.Y., Desjardins A., Batchelor T.T., Vredenburgh J.J. Glioblastoma multiforme: an emerging paradigm of anti-VEGF therapy. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2008; 8: 541–553.
52. Jouanneau E. Angiogenesis and gliomas: current issues and development of surrogate markers. *Neurosurgery* 2008; 62: 31–50.
53. Omuro A.M., Faivre S., Raymond E. Lessons learned in the development of targeted therapy for malignant gliomas. *Mol. Cancer Ther.* 2007; 6: 1909–1919.
54. Jain R.K., di Tomaso E., Duda D.G., Loeffler J.S., Sorensen A.G., Batchelor T.T. Angiogenesis in brain tumours. *Nat. Rev. Neurosci.* 2007; 8: 610–622.
55. Chang S.M., Wen P., Cloughesy T. i wsp. Phase II study of CCI-779 in patients with recurrent glioblastoma multiforme. *Invest. New. Ugs.* 2005; 23: 357–361.
56. Galanis E., Buckner J.C., Maurer M.J. i wsp. Phase II trial of temsirolimus (CCI-779) in recurrent glioblastoma multiforme: a North Central Cancer Treatment Group Study. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 5294–5304.
57. Nguyen T.D., Lassman A.B., Lis E. i wsp. A pilot study to assess the tolerability and efficacy of RAD-001 (everolimus) with gefitinib in patients with recurrent glioblastoma multiforme (GBM). *Am. Soc. Clin. Oncol. Ann. Meet.* 2006; 24: 1507.
58. Reardon D.A., Quinn J.A., Vredenburgh J.J. i wsp. Phase 1 trial of gefitinib plus sirolimus in adults with recurrent malignant glioma. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12: 860–868.
59. Dostępne na: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00597493?intr=%22Temozolomide%22&rank=17>.
60. Hau P., Jachimczak P., Schlingensiepen R. i wsp. Inhibition of TGF-beta2 with AP 12009 in recurrent malignant gliomas: from preclinical to phase I/II studies. *Oligonucleotides* 2007; 17: 201–212.
61. Vredenburgh J.J., Desjardins A., Herndon J.E. 2nd i wsp. Bevacizumab plus irinotecan in recurrent glioblastoma multiforme. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25: 4722–4729.
62. Dostępne na: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00369590>.
63. Trent S., Kong A., Short S.C. i wsp. Temozolomide as second-line chemotherapy for relapsed gliomas. *J. Neurooncol.* 2002; 57: 247–251.
64. Marx G.M., Pavlakis N., McCowatt S. i wsp. Phase II study of thalidomide in the treatment of recurrent glioblastoma multiforme. *J. Neurooncol.* 2001; 54: 31–38.
65. Dostępne na: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00671801?term=lenalidomide&rank=12>.
66. Latterra J.J., Grossman S.A., Carson K.A. i wsp. Suramin and radiotherapy in newly diagnosed glioblastoma: phase 2 NABTT CNS Consortium study. *Neuro. Oncol.* 2004; 6: 15–20.
67. Dostępne na: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00562419?term=CT-322&rank=1>.
68. Dostępne na: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00768911?term=CT-322&rank=2>.
69. Rich J.N., Reardon D.A., Peery T. i wsp. Phase II trial of gefitinib in recurrent glioblastoma. *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 133–142.
70. Prados M.D., Lamborn K.R., Chang S. i wsp. Phase 1 study of erlotinib HCl alone and combined with temozolomide in patients with stable or recurrent malignant glioma. *Neuro. Oncol.* 2006; 8: 67–78.
71. Dostępne na: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00103129?cond=%22Gliosarcoma%22&rank=39>.
72. Dostępne na: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00387933?term=vatalanib&rank=13>.
73. Dostępne na: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00128700?term=vatalanib&rank=15>.
74. Dostępne na: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00662506?term=cediranib&rank=23>.
75. Dostępne na: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00459381?term=pazopanib&rank=37>.
76. Dostępne na: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00006247?term=semaxanib&rank=17>.
77. Dostępne na: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00606008?term=sunitinib&rank=3>.
78. Dostępne na: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00721292?term=vandetanib&rank=29>.
79. Wen P.Y., Yung W.K., Lamborn K.R. i wsp. Phase I/II study of imatinib mesylate for recurrent malignant gliomas: North American Brain Tumor Consortium Study 99–08. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12: 4899–48907.
80. Levin V.A., Phuphanich S., Yung W.K. i wsp. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of marimastat in glioblastoma multiforme patients following surgery and irradiation. *J. Neurooncol.* 2006; 78: 295–302.
81. Dostępne na: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00006093>.
82. Dostępne na: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00352313?term=ATN-161&rank=2>.
83. Dostępne na: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00036725?term=interferon+%CE%B1+GBM&rank=1>.
84. Dostępne na: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00335764?cond=%22Gliosarcoma%22&rank=28>.
85. Cheng S.Y., Huang H.J., Nagane M. i wsp. Suppression of glioblastoma angiogenicity and tumorigenicity by inhibition of endogenous expression of vascular endothelial growth factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1996; 93: 8502–8507.
86. Schlingensiepen K.H., Fischer-Blass B., Schmaus S., Ludwig S. Antisense therapeutics for tumor treatment: the TGF-beta2 inhibitor AP 12009 in clinical development against malignant tumors. *Recent Results Cancer Res.* 2008; 177: 137–150.
87. Jain R.K. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy. *Science* 2005; 307: 58–62.
88. Jain R.K. Normalizing tumor vasculature with anti-angiogenic therapy: a new paradigm for combination therapy. *Nat. Med.* 2001; 7: 987–989.
89. Vredenburgh J.J., Desjardins A., Herndon J.E. 2nd i wsp. Bevacizumab plus irinotecan in recurrent glioblastoma multiforme. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25: 4722–4729.
90. Konner J., Dupont J. Use of soluble recombinant decoy receptor vascular endothelial growth factor trap (VEGF Trap) to inhibit vascular endothelial growth factor activity. *Clin. Colorectal Cancer.* 2004; 4: 81–85.
91. Holash J., Davis S., Papadopoulos N. i wsp. VEGF-Trap: a VEGF blocker with potent antitumor effects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002; 99: 11393–11398.
92. Wachsberger P.R., Burd R., Cardi C. i wsp. VEGF trap in combination with radiotherapy improves tumor control in u87 glioblastoma. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2007; 67: 1526–1537.
93. Short S.C., Traish D., Dowe A., Hines F., Gore M., Brada M. Thalidomide as an anti-angiogenic agent in relapsed gliomas. *J. Neurooncol.* 2001; 51: 41–45.
94. Glass J., Gruber M., Nirenberg A. Phase I/II study of carboplatin and thalidomide in recurrent glioblastoma multiforme. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 1999; 18: 551.
95. Fine H.A., Wen P.Y., Maher E.A. i wsp. Phase II trial of thalidomide and carmustine for patients with recurrent high-grade gliomas. *J. Clin. Oncol.* 2003; 21: 2299–2304.
96. Baumann F., Bjeljac M., Kollias S.S. i wsp. Combined thalidomide and temozolomide treatment in patients with glioblastoma multiforme. *J. Neurooncol.* 2004; 67: 191–200.
97. Krishnan S., Brown P.D., Ballman K.V. i wsp. Phase I trial of erlotinib with radiation therapy in patients with glioblastoma multiforme: results of North Central Cancer Treatment Group protocol N0177. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2006; 65: 1192–1199.
98. Geng L., Donnelly E., McMahon G. i wsp. Inhibition of vascular endothelial growth factor receptor signaling leads to reversal of tumor resistance to radiotherapy. *Cancer Res.* 2001; 61: 2413–2419.
99. Gorski D.H., Beckett M.A., Jaskowiak N.T. i wsp. Blockage of the vascular endothelial growth factor stress response increases the antitumor effects of ionizing radiation. *Cancer Res.* 1999; 59: 3374–3378.
100. Batchelor T.T., Sorensen A.G., di Tomaso E. i wsp. AZD2171, a pan-VEGF receptor tyrosine kinase inhibitor, normalizes tumor vasculature and alleviates edema in glioblastoma patients. *Cancer Cell.* 2007; 11: 83–95.
101. Yoshida T., Niwa F., Kimura S., Nakagawa M. Anaplastic astrocytoma presenting as reversible posterior leukoencephalopathy syndrome. *Neurologist* 2006; 12: 311–313.
102. Honkaniemi J., Kähärä V., Dastidar P. i wsp. Reversible posterior leukoencephalopathy after combination chemotherapy. *Neuroradiology* 2000; 42: 895–899.
103. Sorensen A.G. Magnetic resonance as a cancer imaging biomarker. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 3274–3281.