

Anti-VEGF Ajanlarda Toksikite-Yan Etkiler

Potential Toxicity with Inhibitors of Vascular Endothelial Growth Factor

Ümit Übeyt İNAN¹

ÖZ

Oküler anjiogenetik hastalıklarda vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) önemi anlaşıldıktan sonra VEGF inhibisyonu yapan ilaçlar yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD), diabetik retinopati, retina damar tıkanıklıkları gibi hastalıkların tedavisinde yeni bir çığır açmıştır. Endikasyonu sadece YBMD için onaylanmış olan ranibizumab (Lucentis) ve pegaptanib sodyum (Macugen) ile birlikte amaç ötesi endikasyonla kullanılmakta olan bevacizumab (Avastin) dışında pek çok yeni anti-VEGF ilaç yakın gelecekte kullanıma girmeyi beklemektedir. Mevcut kullanılmakta olan anti-VEGF ilaçlarla ilgili yapılan prelinik hayvan çalışmaları intravitreal uygulama sonrası oküler dokulara ve sistemik olarak toksik bulgulara rastlanmamıştır. Tüm dünyada amaç ötesi olarak yaygın kullanılmakta olan Avastin kanser hastalarında sistemik verildiğinde hipertansiyon ve tromboembolik olay riskini artırmaktadır. Ancak intravitreal uygulama ile benzer riskler bildirilmemiştir. Ranibizumab ve pegaptanib ile yapılan trial çalışmalarında enjeksiyona bağlı yan etkiler dışında ilaca bağlı önemli komplikasyonlar saptanmamış olup VEGF inhibisyonu ile olası tromboembolik olay sıklığı yalancı enjeksiyon grupları ile benzer bulunmuştur. Bevacizumab ile yapılan klinik, elektroretinografik, invitro hücre kültürü, deneysel histopatolojik çalışmalarda toksisite lehine bulgular gözlenmezken elektron mikroskopik çalışmalarda fotoreseptör hücre ve koryokapillaris üzerine ultrastrüktürel düzeyde olası toksik etkisi ile ilgili bulgulara ulaşılmıştır. Anti-VEGF ilaçlar ile oküler neovasküler hastalıkların tedavisinde duyulan heyecan ile birlikte nörotrofik görevi olan VEGF'in, patolojik anjiogenezis dışında fizyolojik anjiogenezis ve gelişim sürecinde vaskülogenezis sürecinde önemli rol oynaması nedeniyle uzun süreli inhibisyonu durumunda olası toksik etkilerin bilinmesi ile bu heyecan dengelenmelidir.

Anahtar Kelimeler: VEGF, anti-VEGF ilaçlar, ranibizumab, pegaptanib, bevacizumab ve toksisite.

ABSTRACT

The new drugs inhibiting vascular endothelial growth factor (VEGF) developed after understanding of important role of VEGF in ocular angiogenetic disorders, have lead to new era in the treatment of neovascular eye diseases such as age related macular degeneration (ARMD), diabetic retinopathy and retinal vascular occlusions. Many new anti-VEGF drugs remain to be use in near future beside the existing inhibitors ranibizumab (Lucentis), Pegaptanib sodium (Macugen) approved for the treatment of ARMD and Avastin which is used with off-label indication. Preclinical experimental animal studies performed by present VEGF inhibitors showed no ocular or systemic toxicity after intravitreal application. Avastin, which is used as off-label worldwide, have increased the risk of hypertension and thromboembolic events when used systemically. However, similar risks have never been reported with intravitreal application. The multi-center trial studies by pegaptanib and ranibizumab did not report drug related significant adverse events except the injection-related complications. The incidences of possible thromboembolic events due to VEGF inhibition have been found to be similar to that of sham injection groups in these trials. While no toxicity related findings were detected in clinical, electroretinographic, in vitro cell culture, and experimental histopathological studies, some findings related to probable ultrastructural toxic effect on photoreceptor cells and choriocapillaris by bevacizumab were achieved. Because VEGF is neuroprotective and have play important roles in physiologic angiogenesis, and vasculogenesis during developmental stages, beside the its role in pathologic angiogenesis, the enthusiasm for the treatment of ocular neovascular diseases with anti-VEGF drugs should be stabilized by the knowledge of possible toxic effects in case of long term inhibition.

Key Words: VEGF, anti-VEGF drugs, ranibizumab, pegaptanib, bevacizumab and toxicity.

Ret-Vit 2007;15:Özel Sayı:55-62

GİRİŞ

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), RPE ve fotoreseptörlere yeterli kan akımının sağlanması, koriokapiller damar fenestrasyonunun sağlanması ve permeabilite artırıcı faktör ve anjiyogenik özellikleri yanında mitojenik, kemotaktik, proenflamatuar ve nöroprotektif özellikte bir faktördür. VEGF embriyonik gelişim, kadın üreme siklüsü, plasental vaskülarizasyon, normal yara iyileşmesi, enflamasyon, kemik gelişimi gibi durumlarda fizyolojik anjiogenezde yer alırken; neoplazi, artrit, endometriozis, diabetik retinopati, neovasküler yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD), psöriazis, ülserler, iske mi, kardiyovaskülopati gibi durumlarda patolojik anjiogenezde rol oynar. Anti-VEGF ilaçlar ile VEGF aktivitesinin inhibisyonu ve dolayısıyla VEGF etkinliğinin tersine dönmesi patolojik anjiogenez sürecinde olumlu etkiler oluşturabilirken, fizyolojik anjiogenez sürecinde olumsuz yan etkilere yol açabilir.¹⁻⁴

İntravitreal anti-VEGF uygulamalarında vitreusta ulaşılan VEGF inhibitörü konsantrasyonu beklenen maksimum VEGF etkinliğinden (10-200nm/ml) fazladır.⁵

Durum geri dönüşümsüz inaktivasyon değil doz bağımlı nötralizasyondur. Göz kan-oküler bariyer ile sistemik dolaşımdan izole edilmiş ise de neovasküler göz hastalığında bu bariyer kırılabilir ve sistemik maruziyet söz konusu olabilir.^{6,7} Diabetik retinopati (DR) ve YBMD hastalarında kardiyovasküler hastalık (KVH) ve periferik vasküler hastalık riskinin zaten yüksek olması nedeniyle özellikle bu hastalarda sistemik dolaşımla uzun süreli düşük düzeyde VEGF inhibisyonunun önemli yan etkileri beklenebilir.⁸

Anti-VEGF ajanlarla yapılan farmakokinetik çalışmalarda intravitreal enjeksiyon sonrası serumda belli düzeylerde ilaç aktivitesi saptanmaktadır. Rhesus maymununda bilateral intravitreal 0.5 mg pegaptanib enjeksiyonu sonrası pik plazma seviyesi 4µg/ml olup 28 gündeki ortalama düzeyi 3 ng/ml olarak bulunmuştur. İnsanda tek doz 3.0 mg pegaptanib enjeksiyonu sonrası vitre yarılanma ömrü 4 gün olarak saptanmışken, maksimal konsantrasyona 60±40 saatte ulaşılmıştır; ortalama plazma düzeyi 80 ng/mL ve plazma yarılanma ömrü 10±4 gün olarak bulunmuştur. Bu dozda, plazma konsantrasyonu altında kalan ortalama alan-zaman eğrisi (Eğri Altı Alan) yaklaşık 25 µg. saat/ml'dir. Pegaptanib 6 haftada bir intravitreal yolla uygulandığında plazmada birikim yapmadığı, 0.5 mg/göz dozundan düşük dozlarda plazma konsantrasyonlarının 10 ng/ml'yi geçmesinin olası olmadığı bildirilmiştir. İntravitreal uygulama sonrasında pegaptanibin mutlak biyoyararlanımı insanlar üzerinde değerlendirilmemiştir; ancak, tavşanlarda, köpeklerde ve maymunlarda yaklaşık %70-100 düzeyindedir. Farelerde, sıçanlarda, köpeklerde ve maymunlarda intravitreal uygulama sonrasında pegaptanib esasen plazma hacmine dağılırken çevredeki dokulara geniş ölçüde dağılmaz.

Radyoetiketli pegaptanib tavşan her iki gözüne intravitreal yolla uygulanmasından yirmi dört saat sonra, radyoaktivite esasen vitreusa, retinaya ve aköz sıvıya dağılmaktadır. Radyoetiketli pegaptanibin tavşanlara intravitreal ve intravenöz uygulanmasının ardından, en yüksek radyoaktivite konsantrasyonları (intravitreal doz için göz hariç) böbrekte elde edilmiştir. Tavşanlarda, radyoetiketli Macugenin intravenöz ve intravitreal tek dozlarından sonra, bileşen nükleotid 2-floroüridin plazmada ve idrarda bulunur. Tavşanlarda, pegaptanib ana ilaç ve metabolitleri olarak idrarla atılır. Sinomolgus maymununda bilateral 0.5 mg ranibizumab enjeksiyonundan 6 saat sonra pik plazma düzeyi 150ng/mL ve serum yarılanma ömrü 3.5 gün olarak bulunmuştur. Tavşan ve maymunda vitre yarılanma ömrü sırasıyla 2.9 ve 3 gün olarak bulunmuştur. İntravitreal enjeksiyondan 1 gün sonra maksimum serum konsantrasyonunun ise 1.5 ng/ml (0.08-3 ng/ml) olduğu bildirilmiştir. İnsandaki serum lucentis konsantrasyonu maymundakinden yaklaşık 150 kat daha düşüktür. Avastin vitre yarılanma ömrü 5-6 gün, serum yarılanma ömrü ise 20 (11-50) gün olup maksimal konsantrasyona 6 saatte ulaşmaktadır.⁹⁻¹⁶

Sağlıklı bir erişkinde plazma VEGF düzeyi 0.1 ng/mL olduğu düşünülecek olursa intravitreal uygulama sonrası bile anti-VEGF ilaçların sistemik etkileri söz konusu olabilir.¹⁷ Tezel ve ark, bir göze uygulanan avastin ve macugen enjeksiyonu sonrası diğer gözde de biyolojik aktivite gözlendiğini bildirmişlerdir. İlginç olarak macugen verildiğinde diğer gözde daha anlamlı etki gözlenmiştir.¹⁸ Bu durum sistemik geçişin dokulara aktivite gösterecek boyutta ulaştığını gösterebilir.

Anti-VEGF ilaçlarla yapılmış güvenlik çalışmaları ile birlikte VEGF molekülünün vücuttaki etkilerinden yola çıkılarak VEGF inhibisyonu ile beklenebilecek olası sistemik toksik etkilerden bahsedilebilir.

Kardiyovasküler Sistem

VEGF doz bağımlı damarlarda genişleme yapar. Bu etkisi nedeniyle intravenöz avastin uygulama sonrası yüksek tansiyon bildirilmiştir. Ani kan basıncı artışı sistemik avastin tedavisi sonrası gelişen RPLE'nin bir nedeni olabilir.¹⁹ İntraoküler avastin enjeksiyonu sonrası ani kan basıncı yükselmesi olabilir. Bazı olgularda enjeksiyon sonrası kan basıncı artışları bildirilmişse de yayınlanmış olan olgu sunumlarının çoğunda intraoküler uygulamalarda bildirilmemiştir. İntravitreal enjeksiyon öncesi ve sonrası 24 saatlik kan basıncı takibi yapıldığında sadece gece görülen tansiyon düşüklüğünde (nokturnal dipping) azalma gözlendiği göze çarpmaktadır.²⁰ Bununla birlikte kontrolsüz kan basıncı olan hastalarda dikkatli olunmalıdır.

Aterosklerotik kalp hastalığında kompenzasyon mekanizması olarak kollateral damar oluşumunda VEGF rol oynamaktadır. Anti-VEGF ilaçlar tedavi etkinliğinde hücresel düzeyde endotelial disfonksiyona yol açmakta-

dır. Dolayısı ile miyokart enfarktüsü açısından predispoze hastalarda anti-VEGF ilaçların önemli derecede yan etki oluşturup oluşturmayacağı merak konusudur. Rani-bizumab ve macugen çalışmalarında ölüm oranı kontrol grubundan farklı bulunmamıştır. İleri yaş olgularında kullanımı kardiyovasküler hastalığı provoke etmediği düşünülmektedir. Bununla birlikte uzun süreli kullanımında nasıl yan etkilere yol açacağı bilinmemektedir. FDA pegaptanib onayı ile birlikte hastaların vasküler komplikasyonlar açısından yakın takibi gerekliliğini bildirmiştir.

Amerika Birleşik Devletlerinde 100 merkezden 5000 hastanın dahil edildiği faz IIIb doz güvenlik çalışması olan SAILOR çalışmasında stroke insidansı 0.3 mg lucentis için %0.3, 0.5 mg lucentis için ise %1.2 olarak verilmiştir. Lucentisin prospektüsünde olası tromboembolik olay insidansı %4 olarak verildiği için bu yeni bulguların doz stratejisini değiştirmeyeceği düşünülmektedir. Doz grupları arasında MI ve vasküler ölüm insidansı farklı bulunmamıştır. Daha önceden tamamlanmış olan MARINA çalışması 2. yıl sonuçlarında serebrovasküler olay / miyokart enfarktüsü insidansı 0.3 mg lucentis grubunda %4.6, 0.5 mg lucentis grubunda %4.2 ve yalancı enjeksiyon grubunda ise %3 olarak bulunmuştur. Yine önceden tamamlanmış lucentis trial çalışması olan ANCHOR çalışmasında kombine SVO/MI insidansı 0.3 mg Lucentis grubunda %1.6 ve kontrol grubunda %1.3, MI insidansı 0.5 mg Lucentis grubunda %2.1 ve diğer iki grupta ise %0.7 olarak bulunmuştur. Macugen trial çalışması olan VISION 2. yıl sonuçlarında ciddi tromboembolik olay macugen grubunda %3, yalancı enjeksiyon grubunda %8 bulunmuş olup 1. yıl sonuçlarında insidans her iki grup için %4 bulunmuştur. Yaşa bağlı makula dejenerasyonu hastalarında 2 yıllık SVO-MI riski %5 olarak bildirildiği göz önüne alındığında anti-VEGF ilaç çalışmalarında da benzer riskler söz konusudur. ²¹⁻³³

Pıhtılaşma-Kanama Riski

İntravenöz avastin kullanımında tromboembolik risk %1.9'dan %4.4'e çıkmaktadır. Faz 1 avastin çalışmalarında venöz tromboz sıklığında artış bildirilmiştir. İn vitro çalışmalarda farklı VEGF inhibitörleri pıhtılaşma parametrelerinde değişikliğe yol açmaktadır. Endotel hücrelerinin rejenerasyon ve turnoveri azaltıldığında subepitelyal matris açığa çıkar. Böylelikle vonwillebrand faktör (VWF) gibi trombojenik faktörler salınır. Avastin tedavisinde de serum F8 ve VWF düzeyinde artış saptanmıştır. VEGF-resep flk-1 antagonisti verildiğinde VWF ekspresyonunda artış ve serbest e-selectin doku faktöründe artış saptanmıştır. İntraoküler anti-VEGF uygulamalarında (macugen, lucentis, avastin) retinal damarlarda tromboz riski gözlenmemiştir. Sistemik avastin tedavisinde gastrointestinal kanama veya perforasyon olabileceği bildirilmiştir. Vitre hemorajilerinde de intravitreal avastin enjeksiyonu ile herhangi bir sistemik yan etki gözlenmeden olumlu sonuçların alındığı olgu sunumları bildirilmiştir. Etki me-

kanizması ve klinik çalışmalardaki yan etkilerinden yola çıkılarak gebelik ve çocukluk, akut intraoküler enfeksiyon, akut miyokart enfarktüsü, anjina pectoris, hipertansif kriz, böbrek yetmezliği, aktif glomerülonefrit, ve bilinen alerji durumlarında kesin olarak; kontrolsüz hipertansiyon, nörodejeneratif hastalıklar ve respiratuar yetmezlik durumlarında ise relatif olarak avastin uygulanmaması önerilmektedir. ^{5,15,28-40}

Teratotoksosite

VEGF bağımlı gelişim sürecinde ciddi letal/endokrin organ bozukluğu olabilir. VEGF-A' nın bir alelinin eksikliğinde damarsal ve hematopoetik sistem gelişimi bozulmaktadır. VEGF yokluğu farelerde embriyonun 1 hafta içinde ölümü ile sonuçlanmıştır. Doğum sonrası bile VEGF inhibisyonu gelişimde duraksamaya neden olabilir. Gözde VEGF üretimi koriokapiller yatak ve retina pigment epitelinin sağlıklı devamı için gereklidir. Prematüre retinopatisinde VEGF inhibisyonu normal retinal damar gelişimini bozabilir. Ancak bifazik gelişim seyri olan prematüre retinopatisinde hipoksiye bağlı salınan VEGF'in proliferasyon ve neovaskülarizasyona yol açıp açmadığı araştırma konusudur ve bu bebeklerde bilinen endişeye rağmen intravitreal avastin uygulamasının faydalarına dair anekdotal olgu sunumları bildirilmiştir. ⁴¹⁻⁴⁷

Nefrotoksosite

Böbrek gelişimi esnasında VEGF inhibisyonu glomerüler endotel bozukluğa yol açar ve bu durum böbrek yetmezliği sonucu ölüme neden olabilir. Erişkinlerde glomerüler filtrasyona etkisi gözlenmemiştir. Klinik çalışmalarda onarım mekanizmaları ve rezerv kapasitesinin bozulduğuna dair bilgiler verilmektedir. Bazı çalışmalara göre VEGF inhibisyonunda klinik proteinüri olabilmektedir. Maymunlarda yapılan sistemik avastinin güvenlik çalışmalarında önemli değişiklikler bildirilmemiştir. Ancak bazı kanser hastalarında glomerüler değişiklikler gözlenmiştir. Proteinüriye rağmen toksisitenin nadir olduğu düşünülmektedir. Anti-VEGF ilaçların böbrek yetmezliği durumundaki etkileri tam çalışılmamıştır. Klirensin azaldığı durumlarda serum pegaptanib konstrasyonunun yükselebileceği bilinmektedir. ^{43,48-52}

Yara İyileşmesi

Avastin klinik kullanımda yara iyileşmesini, özellikle büyük kesili cerrahi girişimlerden sonra, bozabilmektedir. VEGF ayrıca mide ülseri iyileşmesinde de rol oynamaktadır.

Vasküler endotelial büyüme faktörünün anjiogenezi uyarıcı etkisi perifer arter tıkanıklığına bağlı kronik ülserlerin kapanmasında etkilidir. Periferik ekstremitelede trofik değişiklik veya perfüzyon bozukluğunda VEGF inhibitörlerinin kullanılmasından kaçınmak daha doğru olabilir ancak intraoküler uygulamanın etkisi bilinmemektedir. Oftalmik cerrahide lokal uygulamanın iyileşmeyi etkilemediği düşünülmektedir. Yine de mümkünse

göz yaralanması veya cerrahi girişimden belli bir süre sonra enjeksiyon yapılmalı ve koruma mekanizmalarının etkilenebileceği düşünülmelidir.⁵³⁻⁵⁷

İmmün Sistem

VEGF kemotaktik ve monositlere migratör etkilidir. Anti-VEGF tedavi ile makrofajların inhibisyonu söz konusu olabilir. Ayrıca, VEGF B-hücre indüksiyonu ve T-lenfositlerine kemotaktik etki gösterir. Bu etkiler VEGF inhibitörü ilaçların romatoid artrit gibi kronik enflamatuvar hastalıklarda faydalı olabileceğini gösterebilir. Antijen prezente eden dendritik hücrelerin gelişim ve olgunlaşması VEGF ile bozulduğundan VEGF inhibitörlerinin spesifik immün cevabı artırması söz konusu olabilir. VEGF hematopoezde öncü hücrelerin salınım ve olgunlaşmasında etkilidir. Granülosit ve makrofajların koloni oluşturmada büyüme faktörleri de yer alsada bu durum esas olarak otokrin regülasyonla ilişkili olduğundan VEGF inhibisyonundan etkilenmesi beklenmemektedir.⁵⁸⁻⁶²

Endokrin Sistem

Regüler over fonksiyonları VEGF regülasyonuna bağlıdır. Primatlarda siklusun etkilenmesi beklenir. Bununla birlikte doğurganlık ve fertilitate etkilenmemektedir.

Ancak anti-VEGF tedavisi için gebelik varlığı kontrendikasyon olarak değerlendirilmektedir. İntraoküler uygulamada da gebelik için tehlikeli etkilerin oluşup oluşmadığı henüz bilinmemektedir ve bu nedenle dikkatli olunmalıdır. Vasküler endotel büyüme faktörü ayrıca testislerde sertoli ve leydig hücrelerine de etkilidir, dolayısı ile erkek üreme sistemi de etkilenebilir. Spermiogenezis VEGF bağımlıdır. Hayvan çalışmaları anti-VEGF kaynaklı etkilenmenin geri dönüşümlü ve kısa süreli olduğunu göstermektedir. VEGF inhibisyonu, hormon üreten diğer organlarda kapiller regresyona neden olabilir. Troid bezinde kapillerlerin %50 azaldığı bildirilmiştir. Bunların dışında, avastin maymunda intravenöz 2mg/kg dozunda fizeal displaziye yol açmıştır.⁶³⁻⁶⁷

İmmün Yanıt İndüksiyonu

Avastin ile hücre sel yıkım veya kompleman aktivasyonu gözlenmemiştir. Avastin VEGF reseptörüne direkt olarak bağlandığından bevacizumab-VEGF kompleksi hücre membranına bağlanamaz ve hücre sel Fc-presentationu olmaz. Bu nedenle hücre sel immün reaksiyon riskinin olmadığı düşünülür. Avastine karşı yüksek titrede antikor oluşumu olası görünmemektedir. Lucentisin immünolojik potansiyeli fragmentasyonu nedeniyle daha da azdır. Ancak sinomolgus maymununda antikor oluşmuştur ve hastaların da %1-6'sında ranibizumaba karşı antikor saptanmıştır. Klinik önemi bilinmemekle birlikte yüksek seviyede immünoaktivite saptanan bazı hastalarda iritis ve vitritis gözlenmiştir. Altı hafta ara ile 5 doz 3.0 mg intravitreal macugen tedavisi sonrası serumda macugen birikimi, anti-macugen antikor gelişimi ve sistemik VEGF inhibisyonu bildirilmemiştir. Sadece iki hastada intravitre-

al macugen sonrası izlenmiş olan anaflaktik reaksiyon ve anjiödem dışında sistemik yan etki bildirilmemiştir.⁶⁸⁻⁷⁰

Nöronal Etkiler

Nöronal fonksiyonda VEGF önemli rol oynamaktadır. Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörleri beyin ve spinal kortta yaygın olarak ekspresyona edilmektedir. VEGF yoksun farede motor nöron dejeneratif hastalığı olan amiyotrofik lateral skleroz (ALS) gelişmektedir. Vasküler endotelial büyüme faktörünün hipokampusta nöronal kök hücre proliferasyonunda yer aldığı ve hafıza öğrenmede rol oynadığı düşünülmektedir. Vasküler endotelial büyüme faktörü ayrıca akut nöronal iskemide protektif rol oynamakta, nöronal-gial hücre tiplerinin proliferasyonunu stimüle etmektedir. Sağlıklı insan retinasında tüm nöron tipi ve glial hücre tiplerinde VEGF ekspresyonu tanımlanmıştır. Nöral retina tarafından bazal sekresyonu (15-20 pg/mL) retinal vasküler homeostazisin devamında etkilidir, ancak otokrin veya parakrin nöroprotektif rol potansiyeli bilinmemektedir. VEGF infüzyonu infarkt alanını küçültmektedir. Otonom, sensoriyel, dopaminerjik, hipokampal, serebellar ve kortikal nöron hücreleri üzerinde direkt nörotrofik etki gösterdiği düşünülmektedir. İn vitro ve invivo nörogenesi stimüle etmekte, anoksik koşullarda nöronal kök hücre yaşamını artırmaktadır. Astrositler üzerinde flt-1 reseptörü aracılığı ile mitojenik etki, yine flt-1 reseptör aracılı mikrogial hücre migrasyon ve proliferasyonu üzerinde uyarıcı etki yapmakta, flk-1 reseptör aracılığı ile de schwann hücre proliferasyonunu stimüle etmektedir. Diabetik hayvan modelinde intramuskuler VEGF gen tedavisi, kronik iskemik nöropati üzerinde düzelme etkisi oluşturmuştur. Spinal kord kesisinde ekzojen VEGF verilmesi dejenerasyonu azaltıp rejenerasyonu artırmıştır. Alzheimer, Parkinson, Huntington, ALS ve Multiple Skleroz hastalıklarında VEGF uygulamasının potansiyel terapötik rolü üzerinde durulmaktadır. Stroke, sinir rejenerasyonu ve diabetik nöropatide potansiyel tedavi seçeneği olabileceği düşünülmektedir. İntraoküler anti-VEGF uygulaması sonrası kronik düşük titrede VEGF inhibisyonunun bahsedilen nöroprotektif faydalar üzerinde olumsuz etki oluşturup oluşturmayacağı henüz bilinmemektedir.⁷¹⁻⁷⁹

Vasküler endotelial büyüme faktörü damar yaşam faktörü olarak görev yaptığı için VEGF inhibisyonunda iskemik değişiklikler gelişip gelişmeyeceği bilinmemektedir. Erişkin dönemde anjiogenez aracılığı ile yeni kan damarları sıkça oluşmaktadır. Bu damarlar özellikle, kadın üreme siklüsü, saç büyümesi, yara iyileşmesi, muhtemelen kan basıncı regülasyonu ve miyokardiyal kollateral oluşumu gibi biyolojik fonksiyonlar için gereklidir. Yeni damarlarda endotel hücreleri VEGF bağımlıdır. Perisit ve ekstrasellüler matrikste doku bağımlı değişikliklerde etkilidir. Sindirim sistemindeki fenestre kapillerler VEGF bağımlıdır. Koryokapiller de yapısal benzerlik gösterdiğinden VEGF blokajına karşı reaksiyon kontrol edilme-

lidir. Nitekim, intravitreal bevacizumab enjeksiyonunun maymun gözlerinde koryokapillaris üzerine ultrastrüktürel etkisi incelendiğinde, enjeksiyondan 24 saat sonra başlayan ve 14 güne kadar devam eden koryokapiller endotel hücre fenestrasyonlarında anlamlı azalma gözlenmiştir. Retina dış katlarının oksijen ve besin desteğinin koryokapiller dolaşımından sağlandığı düşünülecek olursa, intravitreal VEGF inhibisyonu sonrası potansiyel risk dikkatle izlenmelidir.⁸⁰⁻⁸³

Anti-Apoptozis

Vasküler endotelial büyüme faktörü endotel hücrelerinin kritik durumlarda yaşamasını sağlar. VEGF in-vitro olarak antiapoptotik proteinleri (Bcl-2, x1Ap, survivin) indükler. İn-vitro çalışmalar VEGF'in fotoreseptör diferansiyasyonunda rol oynadığını ve fotoreseptör sağlığı için gerekli olduğunu düşündürmektedir. İn vitro modelde VEGF'in postnatal rat fotoreseptörlerini ve rodopsin proteinini %300 artırdığı gösterilmiştir. YBMD patogenezinde fotoreseptör dejenerasyonu, DR'de nöronal iskemik yer aldığına göre VEGF inhibitörleri uzun sürede bu prosesi hızlandırabilir mi sorusu cevaplanmayı beklemektedir. Retinal hücrelerde regüler hücre siklusünde VEGF'in apoptozisi bozarak nasıl etkilediği bilinmemektedir. RPE'den oto-parakrin salınımının artması koryokapiller perfüzyonu azaltır. RPE'den mitojenik stimülasyonla bazal sekresyonunun trofik veya protektif etkisi tam olarak bilinmemektedir. VEGF izoformlarının inhibisyonu iskemik retinada apoptotik etkiyi artırabilir mi ve eğer öyle ise bu durum ne kadar süre etkilidir, tek bir inhibisyon veya tekrarlanan dozlarda etkinin ne olduğu henüz bilinmemektedir. Sitoprotektif etkisi ile ilgili çalışmalar devam etmektedir.^{68,84-89}

Oküler Yan Etki

Lokal tolerans her üç anti-VEGF ajan için de iyidir. Pegaptanib ile normal retinal veya koroidal damarlara hasar gözlenmemiştir. Arteriovenöz transit zamanında gecikme, koroidal perfüzyon anormallliği (hipoperfüzyon) veya arterioller ve kapiller oklüzyon bildirilmemiştir.

Ön Kamera Reaksiyonu

Ön kamera reaksiyonu, enjeksiyona veya ilacın hazırlanışına bağlı olabilir. Anti-VEGF ilaç çalışmalarında üveit açısından kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmuştur. Pegaptanib grubunda %14.3 iken kontrol grubunda %5.7 ve ranibizumab grubunda %12.4 iken kontrol grubunda %3.5 bulunmuştur. Bevacizumab sonrası da ön kamera reaksiyonu bildirilmiştir. Laser flare-metre ile enflamatuar aktivite ölçüldüğünde intravitreal bevacizumab sonrası findalin azaldığı gösterilmiştir.^{28-33,37,91-93}

Göz içi basınç yükselmesi

Enjeksiyon veya ilaca bağlı GİB yükselmesi nadirdir. İntravitreal macugen 0.3mg/90µl sonrası ortalama GİB'in 16 mmHg'den 21 mmHg'ye çıktığı bildirilmiştir. Göz içi basınç yükselmeleri ilk yarım saat ile 2 saat

arasında izlenmektedir. Kısa süreli düzelme volüm etkisi olduğunu gösterebilir. Lucentis 0.3 mg/50µl intravitreal enjeksiyon sonrası 2 olguda yüksek GİB bildirilmiştir. Bevacizumab (1.25 mg/50 µl) ile de anlamlı GİB yükselmesi bildirilmemiştir. İntravitreal bevacizumab sonrası 12. haftaya kadar GİB'nin monitörize edildiği bir çalışmada hemen enjeksiyon sonrası 2 hastada yükselme dışında 1,3,6 ve 24. saatlerde; 2,6 ve 12. haftalarda anlamlı GİB yükselmesi kaydedilmemiştir.⁹⁴⁻⁹⁵

Bevacizumab sadece kolorektal kanserin sistemik tedavisi için onaylanmış olmakla birlikte Amerikan Retina Cerrahları Derneği (ASRS) Haziran 2005 toplantısında intravitreal olarak uygulanmasının sunulmasından sonra etkili ve maliyet-etkin bir tedavi olması nedeniyle tüm dünyada hızla kullanımı yaygınlaşmış ve ilk 6 ayda 10.000 den fazla enjeksiyon yapıldığı tahmin edilmiştir. Bu nedenle bevacizumab intravitreal uygulaması ile ilgili klinik anekdotal çalışmalar dışında intraoküler toksisitesi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır.^{96,97}

İnternet üzerinden intravitreal avastin enjeksiyonu ile ilgili yan etkilerin geribildirimine dayanan ve 12 ülke 70 merkezden 7113 enjeksiyona ait yan etkilerin değerlendirildiği uluslararası intravitreal bevacizumab güvenlik çalışmasında kan basıncı yükselmesi %0.21, derin ven trombozu 1 (%0.01), geçici iskemik atak 1 (%0.01), SVO 5 (%0.07), Mİ 0, ölüm 2 (%0.03); oküler yan etkilerden üveit 10 (%0.14), katarakt progresyonu 1(%0.01), akut görme kaybı 5 (%0.07), santral retinal arter tıkanıklığı 1 (%0.01), artmış veya yeni subretinal kanama 4 (%0.06), RPE yırtığı 4 (%0.06) olarak sunulmuştur. Kontrolsüz, hata kaynakları ve çalışma ilkeleri açısından eleştirilse de bu çalışma kısa sürede çok sayıda enjeksiyona bağlı toksisite konusunda fikir vermektedir.⁴⁰

Bevacizumabın in-vitro toksisitesi araştırılmıştır. Bevacizumab 0.125 mg/ml ve 1 mg/ml arası 4 ayrı dozda insan RPE hücresi (ARPE19), rat nörosensöriyel retina hücresi (R28) ve insan mikrovasküler endotel hücreleri (HMVECad) üzerinde toksisite oluşturmamıştır.⁹⁸

Bevacizumab 0.008 mg/ml ile 2.5 mg/ml arasında 6 farklı dozda ARPE19, rat retinal ganglion hücresi (RGC5) ve domuz koroid endotel hücreleri (CEC) üzerinde 2, 6 ve 24 saat inkübasyon sonrası in vitro toksisite gözlenmemiştir, ancak 2.5mg/ml konsantrasyonda CEC hücre canlılığında hafif azalmaya yol açmıştır. Bevacizumab 0.08mg/ml CEC hücrelerinde orta derece DNA sentezini azaltmıştır. CEC proliferasyon hızı 2.5 mg/ml dozunda %65 azalmıştır. RPE ve RGC hücre proliferasyonunda 0.08 mg/ml konsantrasyona kadar inhibisyon gözlenmemiştir. CEC hücre üzerindeki antiproliferatif etkisi daha uzun inkübasyon süresinde değişmemiştir. İntravitreal bevacizumab etkisine ilk maruz kalacak ve belki de en fazla etkilenmesi beklenen RGC hücrelerinde 10 kat konsantrasyona kadar yan etki gözlenmemiştir. Prolifere

olan hücre kültüründe CEC ve RGC hücrelerinde sitotoksikite saptanmaz iken, 2.5 mg/ml konsantrasyonda 48 saat sonra ARPE hücrelerinde %30 azalma gözlenmiştir. Çalışmacılar bevacizumabın 0.8 mg/ml konsantrasyona kadar güvenli olduğunu ancak 0.25-0.30 mg/ml (intravitreal 1.25 mg dozuna denk gelmektedir) konsantrasyonundan fazla kullanılmamasını önermektedirler.⁹⁹ İn vitro hücre kültüründe üç anti-VEGF ilacın kıyaslamalı sitotoksik etkilerinin değerlendirildiği çalışmada bevacizumab, pegaptanib ve ranibizumabın RGC, ARPE19 ve CEC hücreleri üzerine klinikte uygulanan dozlara denk gelen konsantrasyonlarında toksisite saptanmamıştır.¹⁰⁰ Başka bir çalışmada bevacizumab 2.5 mg/ml konsantrasyonda RPE hücrelerinde toksik etki oluştururken daha düşük dozlarda toksisite oluşturmamıştır. İnsan optik sinir başı astrosit, insan trabeküler ağ hücresi ve kornea endotel hücrelerinde ise hiçbir dozda toksisite gözlenmemiştir.¹⁰¹

Elektrofizyoloji çalışmalarında gerek klinik uygulamalarda gerekse deneysel hayvan çalışmalarında ve invitro transretinal teknikle denenen bir çalışmada bevacizumabın retina üzerinde fonksiyonel toksisitesi gözlenmemiştir. Diğer iki anti-VEGF ilacın prelinik güvenlik çalışmalarında maymundaki elektrofizyolojik olarak retinada toksisite saptanmamıştır.¹⁰²⁻¹⁰⁵

Histopatolojik çalışmalarda intravitreal bevacizumab enjekte edilen tavşan gözlerinde ışık mikroskopik olarak strüktürel retina toksisitesine rastlanmamıştır.^{104, 106,107} Elektron mikroskopik olarak anti-VEGF ilaçların ultrastrüktürel yan etkilerini değerlendiren iki çalışma bulunmaktadır. Ülkemizden yapılan bir çalışmada tavşan gözlerinde intravitreal 1.25 mg ve 3.0 mg dozlarında bevacizumab enjeksiyonunun oküler toksisitesinin değerlendirildiği çalışmada klinik, elektrofizyolojik ve ışık mikroskopik değerlendirmelerle göz içi yapılar için toksisite lehinde bulgular saptanmamasına rağmen elektron mikroskopik değerlendirmede her iki doz grubunda 14 ve 28. günlerde alınan kesitlerde fotoreseptör iç segmentlerinde kristalarda destrüksiyon, mitokondrilerde şişme ve parçalanma gözlenmiştir. Saptanan ultrastrüktürel hasarın apoptozise bağlı olup olmadığını anlamak amacıyla preparatlar immünohistokimyasal olarak caspase-3, caspase-9 ve bax boyama yöntemleri ile boyandığında hem düşük hem de yüksek doz grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yoğun apoptotik boyanma izlenmiştir.¹⁰⁸ Fotoreseptörler, vücuttaki metabolik olarak en aktif hücrelerdir ve fototransdüksiyon için gerekli enerji primer olarak oksidatif metabolizmadan karşılanır. Metabolik olarak aktif hücreler hasar stimülüsünden öncelikle etkilendiği için ilaç uygulaması sonrası mitokondrial hasar gelişiyor olabilir.¹⁰⁹ Ayrıca zararlı stimulan ajanların hedefi olarak en önemli organel mitokondridir. Ancak saptanan bu ultrastrüktürel hasarın klinik önemi bilinmemektedir.^{108,109} İntravitreal 1.25

mg avastinin maymun gözündeki etkileri incelendiğinde 40 ışık mikroskopik kesitin 2'inde fotoreseptör hasarı gözlenmiştir.⁸³

Sonuç olarak klinik kullanıma girmiş anti-VEGF ilaçların doza bağlı veya bağımsız yan etkileri henüz tam olarak ortaya konmuş değildir. Sinyal kaskadında polimorfizm-varyantları olan tek tük olgular risk grubu oluşturabilir.¹¹⁰ Bu ilaçların verteporfin hariç ilaçlarla etkileşimi değerlendirilmemiştir. Ayrıca VEGF'in türe bağlı etkileri farklı olabilir ve invitro-deneysel hayvan çalışmaları insan için tam bir model oluşturmayabilir. İntraoküler aşırı VEGF üretimi hastalığa katkıda bulunurken, bu faktör aynı zamanda oküler ve ekstraoküler dokularda bazı temel fonksiyonlara hizmet etmektedir. Klinik uygulamalarda güvenilir olduğu bildirilmiş olan anti-VEGF ilaçların oküler neovasküler hastalıklarda sağladığı fayda ve görme keskinliğinde görme artışı vaat etmesi ile birlikte özellikle kronik tam VEGF inhibisyonu ile karşılaşılabilecek olası nöroretinal hasar akılda tutulmalıdır.¹¹⁰ Bununla birlikte tedavideki yararı için sürekli VEGF supresyonu gerekli olmayabilir, aktivite takibi ile az sayıda ve uzun interval tedavisi ile kontrol sağlanabilir.¹¹¹ Anti-VEGF ajanlarla yaşanan heyecan önemli lokal ve sistemik yan etki-toksikite potansiyelinin bilinmesi ile dengelenmelidir. Patolojik anjiogenezin moleküler temellerinin daha iyi anlaşılması ile anti-VEGF tedavide karşımıza yeni ufuklar çıkabilir.

KAYNAKLAR/REFERENCES

1. Ferrara N.: Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev.* 2004;25:581-611.
2. Zakarija A, Soff G.: Update on angiogenesis inhibitors. *Curr Opin Oncol.* 2005;17:578-583.
3. Ng EWM, Adamis AP.: Targeting angiogenesis, the underlying disorder in neovascular age-related macular degeneration *Can J Ophthalmol.* 2005;40:353-368.
4. Ferrara N.: Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2001;280:1358-1366.
5. Ziemssen F, Bartz-Schmidt KU, Grisanti S.: Side effects of VEGF inhibition. *Ophthalmologie.* 2006;113:484-492.
6. Cunha-Vaz J, Faria de Abreu JA, Rigas IK, et al.: Early breakdown of the blood retinal barrier in diabetes *BJO.* 1975;59:649-656.
7. Vinos SA, Derevjani NL, Ozaki H, et al.: Campochiaro PACellular mechanisms of blood-retinal barrier dysfunction in macular edema *Doc Ophthalmol.* 1999;97:217-228.
8. Hyman L, Schachat AP, He Q, Leske MC.: Hypertension, cardiovascular disease, and age-related macular degeneration. Age-Related Macular Degeneration Risk Factors Study Group. *Arch Ophthalmol.* 2000;118:351-358.
9. Mordenti J, Cuthbertson RA, Ferrara N, et al.: Comparisons of the intraocular tissue distribution, pharmacokinetics, and safety of 125I-labeled full-length and Fab antibodies in rhesus monkeys following intravitreal administration. *Toxicol Pathol.* 1999;27:536-544.
10. Drolet DW, Nelson J, Tucker CE, et al.: Pharmacokinetics and safety of an anti-vascular endothelial growth factor aptamer (NX1838) following injection into the vitreous humor of rhesus monkeys. *Pharm Res.* 2000;17:1503-1510.
11. Tucker CE, Chen LS, Judkins MB, et al.: Detection and plasma pharmacokinetics of an anti-vascular endothelial growth factor oligonucleotide-aptamer (NX1838) in rhesus monkeys. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1999;732:203-212.
12. Gordon MS, Margolin K, Talpaz M et al.: Phase I safety and pharmacokinetic study of recombinant human anti-vascular endothelial growth factor in patients with advanced cancer *J Clin Oncol.* 2001;19:843-850.

13. Lin YS, Nyugen C, Mendoza JL et al.: Preclinical pharmacokinetics, interspecies scaling, and tissue distribution of a humanized monoclonal antibody against vascular endothelial growth factor. *J Pharmacol Exp Ther.* 1998;288:371-378.
14. Viores SA.: Technology evaluation: Pegaptanib, Eyetech/Pfizer. *Curr Opin Mol Ther.* 2003;5:673-679.
15. Macugen (pegaptanib sodium) [package insert]. New York: Eyetech Pharmaceuticals, Inc, and Pfizer Inc. 2004.
16. Gaudreault J, Fei D, Rusit J, et al.: Preclinical pharmacokinetics of Ranibizumab (rhuFabV2) after a single intravitreal administration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46:726-733.
17. Larsson A, Skoldenberg E, Ericson H.: Serum and plasma levels of FGF-2 and VEGF in healthy blood donors. *Angiogenesis.* 2002;5:107-110.
18. Tezel TH, Barr CC, Kaplan HJ.: Intravitreally injected anti-VEGF drugs exert a biological effect in the fellow eye. *Cannes Retina Festival 2006, ASRS-EVRS Ortak Toplantısı, Sözlü Sunu.* 162.
19. Glusker P, Recht L, Lane B.: Reversible posterior leukoencephalopathy syndrome and bevacizumab. *N Engl J Med.* 2006;354:980-982.
20. El Wardani M, Ziemssen F, Peters S.: Tuebingen Bevacizumab Study Group. Intensified Monitoring of Circadian Heart Rate and Blood Pressure Before and After Intravitreal Bevacizumab Injection. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47:5227.
21. Eyetech Study Group.: Preclinical and phase 1A clinical evaluation of an anti-VEGF pegylated aptamer (EYE001) for the treatment of exudative age related macular degeneration. *Retina.* 2002;22:143-152.
22. Ferrara N, Damico L, Shams N, et al.: Development of ranibizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antigen binding fragment, as therapy for neovascular age-related macular degeneration. *Retina.* 2006;26:859-870.
23. Ku DD, Zaleski JK, Liu S, et al.: Vascular endothelial growth factor induces EDRF-dependent relaxation in coronary arteries. *Am J Physiol.* 1993;265:586-592.
24. Yang R, Thomas GR, Bunting S et al.: Effects of vascular endothelial growth factor on hemodynamics and cardiac performance. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1996;27: 838-844.
25. Henry TD, Annex BH, McKendall GR et al.: The VIVA trial: Vascular endothelial growth factor in Ischemia for Vascular Angiogenesis. *Circulation.* 2003;107:1359-1365.
26. El Wardani M, Ziemssen F, Peters S.: Tuebingen Bevacizumab Study Group. Intensified Monitoring of Circadian Heart Rate and Blood Pressure Before and After Intravitreal Bevacizumab Injection. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47:5227.
27. Glusker P, Recht L, Lane B.: Reversible posterior leukoencephalopathy syndrome and bevacizumab. *N Engl J Med.* 2006;354:980-982.
28. Sailor.
29. Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS et al.: for the MARINA study group. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med.* 2006;355:1419-1431.
30. Brown DM, Kaiser PK, Michels M et al.: for the ANCHOR study group. Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med.* 2006;355:1432-1444.
31. Gragoudas ES, Adamis AP, Cunningham ET, et al.: Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med.* 2004;351:2805-2816.
32. The Eyetech study group.: Anti-vascular endothelial growth factor therapy for subfoveal choroidal Neovascularization secondary to age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol.* 2003;110:979-986.
33. VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization (V.I.S.I.O.N.) Clinical Trial Group; Chakravarthy U, Adamis AP, Cunningham ET Jr, Goldbaum M, Guyer DR, Katz B, Patel M. Year 2 efficacy results of 2 randomized controlled clinical trials of pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology.* 2006;113:1508.1-25.
34. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W et al.: Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2004;350:2335-2342.
35. Ma L, Francia G, Vilorio-Petit A et al.: In vitro procoagulant activity induced in endothelial cells by chemotherapy and antiangiogenic drug combinations: modulation by lower-dose chemotherapy. *Cancer Res.* 2005;65:5365-5373.
36. Killickap S, Abali H, Celik I.: Bevacizumab, bleeding, thrombosis, and warfarin. *J Clin Oncol.* 2003;21:3542.
37. Avery RL, Pieramici DJ, Rabena MD et al.: Intravitreal bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology.* 2006;113:363-372.
38. Michels S, Rosenfeld PJ, Puliafito CA, et al.: Systemic bevacizumab (Avastin) therapy for neovascular age-related macular degeneration: twelve-week results of an uncontrolled open-label clinical study. *Ophthalmology.* 2005;112:1035-1047.
39. Spaide RF, Fisher YL.: Intravitreal bevacizumab (Avastin) treatment of proliferative diabetic retinopathy complicated by vitreous hemorrhage. *Retina.* 2006;26:275-278.
40. Fung AE, Rosenfeld PJ, Reichel E.: The international intravitreal bevacizumab safety survey: Using the internet to assess drug safety worldwide. *Br J Ophthalmol.* 2006;90:1344-1349.
41. Carmeliet P, Ferreira V, Breier G et al.: Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature.* 1996;380:435-439.
42. Karkkainen MJ, Haiko P, Sainio K et al.: Vascular endothelial growth factor C is required for sprouting of the first lymphatic vessels from embryonic veins. *Nat Immunol.* 2004;5:74-80.
43. Gerber HP, Hillan KJ, Ryan AM et al.: VEGF is required for growth and survival in neonatal mice. *Development.* 1999;126:1149-1159.
44. Marneros AG, Fan J, Yokoyama Y et al.: Vascular endothelial growth factor expression in the retinal pigment epithelium is essential for choriocapillaris development and visual function. *Am J Pathol.* 2005;167:1451-1459.
45. Alon T, Hemo I, Itin A et al.: Vascular endothelial growth factor acts as a survival factor for newly formed retinal vessels and has implications for retinopathy of prematurity. *Nat Med.* 1995;1:1024-1028.
46. Pierce EA, Foley ED, Smith LE.: Regulation of vascular endothelial growth factor by oxygen in a model of retinopathy of prematurity. *Arch Ophthalmol.* 1996;114:1219-1228.
47. Quiroz-Mercado H, Travassos ACV, Martinez-Castellanos AM.: Safety and efficacy of intravitreal bevacizumab for retinopathy of prematurity. 2006, Cannes Retina Festival ASRS-EVRS Ortak Toplantısı, Sözlü Sunu. 162.
48. Kitamoto Y, Tokunaga H, Tomita K.: Vascular endothelial growth factor is an essential molecule for mouse kidney development: glomerulogenesis and nephrogenesis. *J Clin Invest.* 1997;99: 2351-2357.
49. Ostendorf T, Kunter U, Eitner F et al.: VEGF(165) mediates glomerular endothelial repair. *J Clin Invest.* 1999;104:913-923.
50. Sugimoto H, Hamano Y, Charytan D et al.: Neutralization of circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) by anti-VEGF antibodies and soluble VEGF receptor 1 (sFlt-1) induces proteinuria. *J Biol Chem.* 2003;278:12605-12608.
51. Ryan AM, Eppler DB, Hagler KE et al.: Preclinical safety evaluation of rhuMABVEGF, an antiangiogenic humanized monoclonal antibody. *Toxicol Pathol.* 1999;27:78-86.
52. Kabbinnar FF, Schulz J, McCleod M et al.: Addition of bevacizumab to bolus fluorouracil and leucovorin in first-line metastatic colorectal cancer: results of a randomized phase II trial. *J Clin Oncol.* 2005;23:3697-3705.
53. Bates DO, Jones RO.: The role of vascular endothelial growth factor in wound healing. *Int J Low Extrem Wounds.* 2003;2:107-120.
54. Roman CD, Choy H, Nanney L et al.: Vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis inhibition and postoperative wound healing in rats. *J Surg Res.* 2002;105:43-47.
55. Malara B, Josko J, Tyrpien M, et al.: Dynamics of changes in vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and angiogenesis in stress-induced gastric ulceration in rats. *J Physiol Pharmacol.* 2005;56:259-271.
56. Scappaticci FA, Fehrenbacher L, Cartwright T et al.: Surgical wound healing complications in metastatic colorectal cancer patients treated with bevacizumab. *J Surg Oncol.* 2005;91:173-180.
57. Baumgartner I, Pieczek A, Manor O et al.: Constitutive expression of phVEGF165 after intramuscular gene transfer promotes collateral vessel development in patients with critical limb ischemia. *Circulation.* 1998;97:1114-1123.
58. Clauss M, Gerlach M, Gerlach H et al.: Vascular permeability factor: a tumor-derived polypeptide that induces endothelial cell and monocyte procoagulant activity, and promotes monocyte migration. *J Exp Med.* 1990;172:1535-1545.
59. Hattori K, Dias S, Heissig B et al.: Vascular endothelial growth factor and angiopoietin-1 stimulate postnatal hematopoiesis by recruitment of vasculogenic and hematopoietic stem cells. *J Exp Med.* 2001;193:1005-1014.
60. Reinders ME, Sho M, Izawa A et al.: Proinflammatory functions of vascular endothelial growth factor in alloimmunity. *J Clin Invest.* 2003;112:1655-1665.
61. Gabrilovich D, Ishida T, Oyama T et al.: Vascular endothelial growth factor inhibits the development of dendritic cells and dramatically affects the differentiation of multiple hematopoietic lineages in vivo. *Blood.* 1998;92:4150-4166.
62. Broxmeyer HE, Cooper S, Li ZH et al.: Myeloid progenitor cell regulatory effects of vascular endothelial cell growth factor. *Int J Hematol.* 1995;62:203-215.

63. Greenaway J, Gentry PA, Feige JJ, et al.: Thrombospondin and vascular endothelial growth factor are cyclically expressed in an inverse pattern during bovine ovarian follicle development. *Biol Reprod.* 2005;72:1071-1078.
64. Shimizu T, Sato E.: Manipulation of ovarian follicle development by injecting vascular endothelial growth factor (VEGF) gene. *Reprod Biol.* 2005;5:257-268.
65. Ravindranath N, Little-Ihrig L, Phillips HS, et al.: Vascular endothelial growth factor messenger ribonucleic acid expression in the primate ovary. *Endocrinology.* 1992;131:254-260.
66. Samson M, Peale FV, Frantz G et al.: Human endocrine gland-derived vascular endothelial growth factor: expression early in development and in Leydig cell tumors suggests roles in normal and pathological testis angiogenesis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:4078-4088.
67. Kamba T, Tam BY, Hashizume H et al.: VEGF-dependent plasticity of fenestrated capillaries in the normal adult microvasculature. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006;290:560-576.
68. Wang Y, Fei D, Vanderlaan M, et al.: Biological activity of bevacizumab, a humanized anti-VEGF antibody in vitro. *Angiogenesis.* 2004;7:335-345.
69. O'Neill CA, Christian B, Murphy CJ, et al.: Safety evaluation of intravitreal administration of rhuFab VEGF in cynomolgus monkeys for 3 months. *Invest Ophthalmol Vis sci.* 2000;41:142.
70. Steffensmeier AC, Azar AE, Fuller JJ, et al.: Vitreous injections of pegaptanib sodium triggering allergic reactions. *Am J Ophthalmol.* 2007;143:512-513.
71. Cao L, Jiao X, Zuzga DS.: VEGF links hippocampal activity with neurogenesis, learning and memory. *Nat Genet.* 2004;36:827-835.
72. Famiglietti EV, Stopa EG, McGookin ED et al.: Immunocytochemical localization of vascular endothelial growth factor in neurons and glial cells of human retina. *Brain Res.* 2003;969:195-204.
73. Storkebaum E, Lambrecht D, Carmeliet P. VEGF: once regarded as a specific angiogenic factor, now implicated in neuroprotection. *BioEssays.* 2004;26:943-954.
74. Jin KL, Mao XO, Greenberg DA.: Vascular endothelial growth factor: Direct neuroprotective effect in invitro ischemia. *PNAS.* 2000;97:10242-10247.
75. Isner JM, Ropper A, Hirst K.: VEGF gene transfer for diabetic neuropathy. *Hum Gene Ther.* 2001;12:1593-1594.
76. Sun FY, Guo X.: Molecular and cellular mechanisms of neuroprotection by vascular endothelial growth factor. *J Neurosci Res.* 2005;79:180-184.
77. Sun Y, Jin K, Xie L et al.: VEGF-induced neuroprotection, neurogenesis, and angiogenesis after focal cerebral ischemia. *J Clin Invest.* 2003;111:1843-1851.
78. Gora-Kupilas K, Josko J.: The neuroprotective function of vascular endothelial growth factor (VEGF). *Folia Neuropathol.* 2005;43:31-39.
79. Campochiaro PA.: Ocular versus extraocular neovascularization: mirror images or vague resemblances. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47:462-474.
80. Baffert F, Thurston G, Rochon-Duck M et al.: Age-related changes in vascular endothelial growth factor dependency and angiopoietin-1-induced plasticity of adult blood vessels. *Circ Res.* 2004;94:984-992.
81. Maharaj AS, Saint-Geniez M, Maldonado AE, et al.: Vascular endothelial growth factor localization in the adult. *Am J Pathol.* 2006;168:639-648.
82. Tran J, Rak J, Sheehan C et al.: Marked induction of the IAP family antiapoptotic proteins survivin and XIAP by VEGF in vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999;264:781-788.
83. Peters S, Heiduschka P, Julien S, and et al.: Ultrastructural Findings in the Primate Eye After Intravitreal Injection of Bevacizumab. *Am J Ophthalmol.* 2007.
84. Gerber HP, Dixit V, Ferrara N.: Vascular endothelial growth factor induces expression of the antiapoptotic proteins Bcl-2 and A1 in vascular endothelial cells. *J Biol Chem.* 1998;273:13313-13316.
85. Tran J, Master Z, Yu JL et al.: A role for survivin in chemoresistance of endothelial cells mediated by VEGF. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99:4349-4354.
86. Yourey P, Gohari S, Su JL, Alderson RF.: Vascular endothelial cell growth factors promote the in vitro development of rat photoreceptor cells. *J Neurosci.* 2000;20:6781-6788.
87. Greenberg DA, Jin K.: From angiogenesis to neuropathology. *Nature.* 2005;438:954-959.
88. Guerrin M, Moukadir H, Chollet P et al.: Vasculotropin/vascular endothelial growth factor is an autocrine growth factor for human retinal pigment epithelial cells cultured in vitro. *J Cell Physiol.* 1995;164:385-394.
89. Spaide RF, Armstrong D, Browne R.: Continuing medical education review: choroidal neovascularization in age-related macular degeneration - what is the cause? *Retina.* 2003;23:595-614.
90. Shima DT, Nishijima K, Jo N, Adamis AP.: VEGF-mediated neuroprotection in ischemic retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45:3270.
91. Heier JS, FOCUS Study Group.: Intravitreal ranibizumab (Lucentis) with verteporfin photodynamic therapy for neovascular age-related macular degeneration: year one results. *ASRS 2005, Sözlü Sunu, Montreal, Quebec, Canada.*
92. Ziemssen F, Warga M, Neuhann IM et al.: Tuebingen Bevacizumab Study Group. Does intravitreal injection of bevacizumab have an effect on the blood-aqueous barrier function? *Br J Ophthalmol.* 2006;90:922.
93. Kiss C, Michels S, Prager F et al.: Evaluation of anterior chamber inflammatory activity in eyes treated with intravitreal bevacizumab. *Retina.* 2006;26:877-881.
94. Hariprasad SM, Shah GK, Blinder KJ.: Short-term intraocular pressure trends following intravitreal pegaptanib (Macugen) injection. *Am J Ophthalmol.* 2006;141:200-201.
95. Kernt M, Neubauer AS, Kampik A.: Intravitreal bevacizumab (Avastin) treatment is safe in terms of intraocular and blood pressure. *Acta Ophthalmol.* 2007;85:119-120.
96. Rosenfeld PJ, Moshfeghi AA, Puliafito CA.: Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging.* 2005;36:331-335.
97. Rosenfeld PJ, Fung AE, Puliafito CA.: 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.
98. Luthra S, Narayanan R, Marques LE et al.: Evaluation of in vitro effects of bevacizumab (avastin) on retinal pigment epithelial, neurosensory retinal, and microvascular endothelial cells. *Retina.* 2006;26:512-518.
99. Spitzer MS, Wallenfels-Thilo B, Sierra A et al.: Antiproliferative and cytotoxic properties of bevacizumab (avastin) on different ocular cells. *Br J Ophthalmol.* 2006;90:1316-1321.
100. Spitzer MS, Yoeruek E, Sierra A, et al.: Comparative antiproliferative and cytotoxic profile of bevacizumab (Avastin), pegaptanib (Macugen) and ranibizumab (Lucentis) on different ocular cells. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2007, Online baski.
101. Welge-Lussen U, et al.: Bevacizumab has no toxicity on cultured cell from the anterior and posterior segment of the human eye. *EVER.* 2006;7.
102. Shahar J, Avery RL, Heilweil G, et al.: Electrophysiologic and retinal penetration studies following intravitreal injection of bevacizumab (Avastin). *Retina.* 2006;26:262-269.
103. Maturi RK, Bleau LA, Wilson DL.: Electrophysiologic findings after intravitreal bevacizumab (Avastin) treatment. *Retina.* 2006;26:270-274.
104. Manzano RPA, Peyman GA, Khan P, et al.: Testing intravitreal toxicity of bevacizumab (Avastin). *Retina.* 2006;26:257-261.
105. Luke M, Warga M, Ziemssen F et al.: Effects of bevacizumab on retinal function in isolated vertebrate retina. *Br J Ophthalmol.* 2006;90:1178-1182.
106. Bakri SJ, Cameron JD, McCannel CA, et al.: Absence of histologic retinal toxicity of intravitreal bevacizumab in a rabbit model. *Am J Ophthalmol.* 2006;142:162-164.
107. Feiner L, Barr EE, Shui YB, et al.: Safety of intravitreal injection of bevacizumab in rabbit eyes. *Retina.* 2006;26:882-888.
108. Inan UU, Avci B, Kusbeci T, et al.: Preclinical safety evaluation of intravitreal injection of full-length humanized rhuMAB vascular endothelial growth factor antibody in rabbit eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48:1773-1781.
109. Howes EL, Rao NA.: Basic mechanisms in pathology. In: Spencer WH, editor. *Ophthalmic Pathology.* W. B. Saunders Company, Philadelphia. 4th edition. 1996;2939-2945.
110. Wijngaarden PV, Coster DJ, Williams KA.: Inhibitors of Ocular Neovascularization. Promises and potential Problems. *JAMA.* 2005;293:1509-1513.
111. Hughes MS, Sang DN.: Safety and efficacy of intravitreal bevacizumab followed by pegaptanib maintenance as a treatment regimen for age-related macular degeneration. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging.* 2006;37:446-454.