

Tavşanlarda Deneysel Kornea Neovaskülarizasyonunda Topikal ve Subkonjonktival Bevacizumabın Etkinliğinin Araştırılması

Investigation of the Efficacy of Topical and Subconjunctival Bevacizumab in Experimental Corneal Neovascularization in Rabbits

Ümit Doğan¹, Serdal Çelebi¹, Aysel Kükner²

ÖZ

Amaç: Deneysel tavşan modellerinde oluşturulan kimyasal yanığa sekonder korneal neovaskülarizasyon (NV) tedavisinde topikal ve subkonjonktival bevacizumabın etkinliğini topikal deksametazonla karşılaştırmak.

Araçlar ve Yöntem: Çalışmada toplam 24 adet tavşan kullanıldı. Hayvanlar kontrol (topikal %0.09 NaCl) (Grup 1), topikal deksametazon (Grup 2), subkonjonktival bevacizumab (Grup3) ve topikal bevacizumab (Grup 4) olmak üzere dört gruba ayrıldı. Deneklerin kornealarında gümüş nitrat-potasyum nitrat ile kimyasal yanık oluşturuldu. Sonraki 10 gün boyunca her gruba ilgili ilaç uygulandı. Onuncu günde denekler sakrifiye edilip makroskopik ve histopatolojik olarak korneal neovaskülarizasyon değerlendirildi.

Bulgular: Histopatolojik incelemede grupların damar sayıları değerlendirildiğinde; Grup 2 (5.03±0.42), Grup 3 (3.36±0.15) ve Grup 4 (3.46±0.24)'te korneal neovaskülarizasyonda Grup 1 (6.76±1.03)'e göre anlamlı düzeyde az olduğu gözlemlendi (p<0.05). Kontrol grubu dışındaki gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında; damar sayısının Grup 3 ve Grup 4'te Grup 2'ye göre belirgin düzeyde az olduğu gözlemlendi (p<0.05).

Sonuç: Bu çalışmada kimyasal yanığa sekonder korneal NV tedavisinde hem topikal hem de subkonjonktival bevacizumabın, topikal deksametazondan daha etkili olduğunu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bevacizumab, deksametazon, korneal neovaskülarizasyon

ABSTRACT

Purpose: To compare the efficacy of topical and subconjunctival bevacizumab with topical dexamethasone in the treatment of corneal neovascularization (NV) secondary to chemical burns in experimental rabbit models.

Materials and Methods: A total of 24 rabbits were used in the study. Animals were divided into four groups as Control (received topical 0.09% NaCl) (Group 1), topical dexamethasone (Group 2), subconjunctival bevacizumab (Grup3) and topical bevacizumab (Group 4). Chemical burns were created with silver nitrate-potassium nitrate in cornea of the subjects. During the next 10 days, each group was given the drug (0.09 % NaCl, dexamethasone or bevacizumab). On the 10th day, the subjects were sacrificed and macroscopic and histopathological evaluation of corneal neovascularization was performed.

Results: When the number of vessels in the histopathological examination was evaluated; In Group 2 (5.03 ± 0.42), Group 3 (3.36 ± 0.15) and Group 4 (3.46 ± 0.24), corneal neovascularization was significantly less than Group 1 (6.76 ± 1.03) (p <0.05). When the groups except the control group were compared; the number of vessels was significantly lower in Group 3 and Group 4 than Group 2 (p <0.05).

Conclusion: In this study, both topical and subconjunctival bevacizumab were found to be more effective than topical dexamethasone in the treatment of corneal NV secondary to chemical burn.

Keywords: Bevacizumab, corneal neovascularization, dexamethasone.

Gönderilme tarihi: 20.05.2019; Kabul edilme tarihi: 02.07.2019

¹ Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları AD, Bolu, Türkiye.

² Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Lefkoşa, KKTC

Sorumlu Yazar: Ümit Doğan, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları AD, Bolu, Türkiye. E-posta: u_dogan@hotmail.com Telefon: +90505 775 7470

Makaleye atıf için: Doğan Ü, Çelebi S, Kükner A. Tavşanlarda deneysel kornea neovaskülarizasyonunda topikal ve subkonjonktival bevacizumabın etkinliğinin araştırılması. Ahi Evran Med J. 2019;3(2): 54-58.

GİRİŞ

Kornea avasküler yapıda olup bu durum anjiyogenik ve antiangiogenik faktörlerin arasındaki denge ile sağlanır.¹ Korneal neovaskülarizasyon (NV), limbal damarlardan kaynaklanan yeni damarların avasküler korneaya ilerlemesiyle oluşur. Oküler yüzeyin inflamatuvar, enfeksiyöz, iskemik, immünolojik, travmatik, dejeneratif hastalıkları korneal NV'ye neden olabilir.² Yeni damarların oluşması korneal hastalığın iyileşmesine yardımcı olsa da bu durumun uzun süre devam etmesi korneada şeffaflık kaybı ve kalıcı görme azalmasına neden olabilir.³

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) başlıca proangiogenik faktördür ve patolojik NV'de önemli rol oynamaktadır.^{4,5} VEGF ailesinin VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D ve PGF olmak üzere beş üyesi bulunmaktadır.⁶ Korneal NV de dahil olmak üzere oftalmik patolojilerin birçoğunda özellikle VEGF-A'nın rol oynadığı bilinmektedir.⁷ VEGF-A, proinflamatuvar etkiye sahip olup vasküler permeabiliteyi artırmakta, migrasyonu uyararak endotel proliferasyonu ve yeni damar oluşumunu tetiklemektedir. Bununla birlikte nöroprotektif etkileri ile apoptozisi de engellemektedir.⁷

Korneal NV tedavisinde argon lazer tedavisi, kriyoterapi, koterizasyon, topikal askorbik asit, topikal ya da subkonjonktival VEGF inhibitörleri (bevacizumab, ranibizumab, aflibercept) ile steroidler gibi farklı tedavi yöntemleri uygulanmaktadır. Ancak hâlen etkinliği üzerinde fikir birliği sağlanmış bir tedavi seçeneği bulunmamaktadır.^{1,8,9} Bevacizumab insan monoklonal immünglobulin G1 anti-VEGF antikoru olup tüm VEGF subgruplarını inhibe etmektedir. Bu sayede vasküler permeabiliteyi azaltmakta ve anormal damar oluşumunu inhibe etmektedir.¹⁰ Kolorektal kanser tedavisinde kullanılan bir ilaç olan bevacizumab, yaşa bağlı makula dejenerasyonuna bağlı koroidal neovaskülarizasyon ve makula ödemi tedavisinde de off-label olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır.^{8,9} Topikal steroidler ise antiinflamatuvar ve immünsupresif etki üzerinden vasküler permeabilite, hücre kemotaksisi ve anjiogenezisi inhibe etmektedir.¹¹

Bu çalışmada deneysel tavşan modellerinde oluşturulan kimyasal yanığa sekonder korneal NV tedavisinde topikal ve subkonjonktival bevacizumabın etkinliğini topikal deksametazonla karşılaştırmayı amaçladık.

ARAÇLAR VE YÖNTEM

Bu çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi (AİBÜ) Tıp Fakültesi Hastanesi hayvan deneyleri etik komitesinden onay alınarak (2007/300-13) AİBÜ Deneysel Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yapılmıştır. Yirmi dört erkek New Zealand albino tavşan (2500-3000 g) her grupta altı tane tavşan olacak şekilde dört gruba bölündü. Çalışma süresince deney hayvanlarının her biri, besin ve su gereksinimi optimal seviyede karşılanarak kontrollü ısı (23±1°C) ve aydınlatma (12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsü) altında muhafaza edildi.

Çalışmaya tavşanların sadece sol gözleri dahil edildi. Bütün tavşanlara ketamin hidroklorid (10 mg/kg) ve ksilazin hidroklorid (5 mg/kg) intamuskuler enjeksiyonu yapılarak genel anestezi uygulandı. Ardından her bir tavşanın sol göz alt forniksine birer damla topikal 0.5% proparakain hidroklorid (Alcaine®, Alcon, Puurs, Belçika) damlatıldı. Korneada kimyasal yanık oluşturmak için %75 gümüş nitrat, %25 potasyum nitrat bileşiminden oluşan aplikatör (HemoStop®, Hizmet Medikal, İstanbul, Türkiye) kullanıldı. Aplikatör limbustan 3 mm uzaktaki parasantral korneaya 10 saniye süreyle uygulanarak, ortalama 2-2.5 mm çapında kimyasal yanık oluşturuldu. Kimyasal yanık sonrası, kornea ve konjonktiva %0.9'luk NaCl çözeltisi ile yıkandı. Deney süresi tüm gruplar için yanık sonrası 10 gün olarak planlandı. Dört grubun her birinde de tedavi uygulamasına korneada kimyasal yanık oluşturulduktan hemen sonra başlandı.

Grup 1 (n=6): Topikal %0.9'luk NaCl çözeltisi, günde iki kez, on gün boyunca alt fornikse damlatıldı.

Grup 2 (n=6): Topikal %0.1 deksametazon (Onadron Simple®, İ.E. Ulagay, İstanbul, Türkiye), günde iki kez, on gün boyunca alt fornikse damlatıldı.

Grup 3 (n=6): 0.1 ml, 2.5 mg bevacizumab (Altuzan®, Roche, Sanfransisko, ABD), üst limbusun 2 mm uzağına subkonjonktival olarak bir kez enjekte edildi.

Grup 4 (n=6): Topikal 25 mg/ml'lik (%2.5) bevacizumab (Altuzan®, Roche, Sanfransisko, ABD), günde iki kez, on gün boyunca alt fornikse damlatıldı.

Tedavi uygulamaları bittikten hemen sonra tavşanların sol gözleri Canon EOS 450 dijital fotoğraf makinesi ile fotoğraflandı ve ardından her biri ketamin 10 mg/kg im ve ksilazin 5 mg/kg im

enjeksiyonu ile genel anestezi altına alınarak sakrifiye edildi. Her bir deneğin sol korneası limbusun 1 mm gerisinden bistüri ve makas yardımıyla total eksize edildi.

Histopatolojik Değerlendirme

Eksize edilen kornealar, ışık mikroskopik inceleme için %10'luk formaldehit çözeltisinde 24 saat süreyle tespit edildikten sonra, rutin doku takip işlemlerinden geçirilerek parafine gömüldü. Elde edilen parafin bloklardan limbusa 2 mm uzaklıkta bölgeden 4-5 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitlerin bir kısmı hematoksilin eozin (HE) ile boyandı. Bu alanlarda inflamasyon ve NV değerlendirildi. Korneal inflamasyon miktarı 0'dan 3'e kadar derecelendirildi (0: 0-10 hücre/alan, 1: 11-30 hücre/alan, 2: 31-50 hücre/alan, 3: alanda 50 hücreden fazla).¹² NV ve inflamasyon değerlendirmeleri için limbusa 2 mm uzaklıktaki bir kesitte farklı altı görüntü alanında X40 objektif büyütmesi ile damarlar sayıldı, inflamatuvar hücreler sayılıp inflamasyon skorlamaları yapıldı. Apoptotik hücrelerin tanımlanması ve sayılması için, polilizinli lam üzerine 3-4 µm kalınlığında kesitler alınıp, terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) metodu uygulanarak, immünohistokimyasal boyama (In Situ Death Detection Kit, POD®, Roche, Mannheim, Almanya) yapıldı. Apoptozis değerlendirmesi her deneğe ait kornea kesitlerinde X40 objektif büyütme ile limbusa 2 mm uzaklıktan alınan bir kesitte farklı altı görüntü alanında pozitif boyanan apoptotik hücreler sayılıp ortalamaları alındı.

İstatistiksel Analiz

Tüm verilerin istatistiksel analizi SPSS 15 programı (SPSS Inc., Chicago, IL) kullanılarak yapıldı. Sonuçlar sürekli değişkenler için ortamlama ± standart sapma, sıralı değişkenler için median (minimum-maksimum) ve kategorik değişkenler yüzde olarak ifade edildi. Gruplar arası karşılaştırmada Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık değeri olarak p<0.05 kabul edildi.

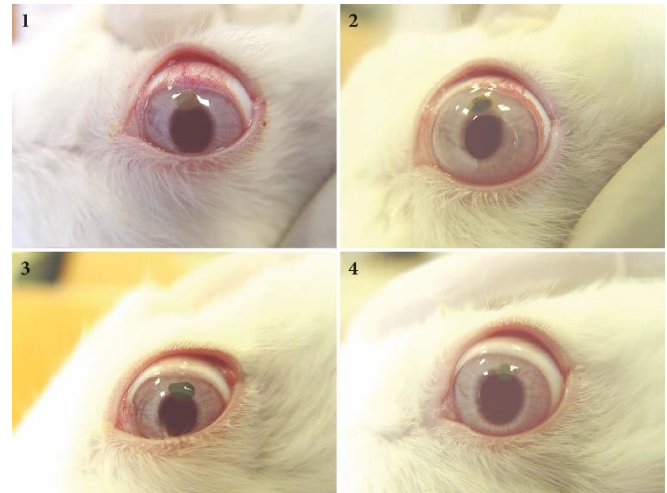
BULGULAR

Gümüş nitrat ile kimyasal yanık oluşturulan deneklerde tedavi sonrası korneal NV değerlendirildi. Topikal ve subkonjonktival bevacizumab uygulanan gruplarda, topikal deksametazon ve kontrol gruplarına göre korneal NV'nin anlamlı şekilde daha az olduğu gözlemlendi (Resim 1, Resim 2).

Kontrol grubu olan Grup 1' de özellikle yanık periferindeki limbusa yakın alanlarda NV'nin belirgin olarak arttığı gözlemlendi (Resim 1, Resim 2). Topikal deksametazon uygulanan grupta ise bu alanlarda NV izlenmekle birlikte, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha az olduğu saptandı (p=0.01; Resim 1, Resim 2). Topikal ve subkonjonktival bevacizumab gruplarında NV'nin oldukça azalmış olduğu izlendi, ancak iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p=0.32). Topikal ve subkonjonktival bevacizumab gruplarının korneal NV miktarları, kontrol grubu ve topikal deksametazon grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olarak ölçüldü (tüm p değerleri <0.01 idi; Tablo 1).

Tablo 1: Gruplardaki ortalama damar sayısı, inflamasyon skoru ve apoptotik hücre sayıları

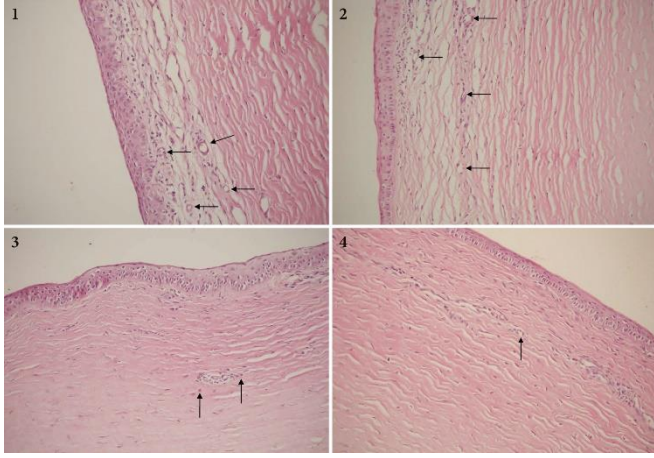
	Grup 1 (Topikal NaCl %0.9)	Grup 2 (Topikal Dexametazon %1)	Grup 3 (Subkonjonktival Bevacizumab %0.5)	Grup 4 (Topikal Bevacizumab %0.5)	p
Damar sayısı (ortalama ± SS)	6.76 ± 1.03	5.03 ± 0.42	3.36 ± 0.15	3.46 ± 0.24	<0.01
Inflamasyon skoru Medyan (min-mak)	3 (2-3)	2 (1-3)	2 (1-2)	2 (1-2)	<0.05
Apoptotik hücre sayısı (ortalama ± SS)	6.36 ± 2.49	3.68 ± 0.38	1.10 ± 0.37	1.30 ± 0.20	<0.05



Resim 1: Grupların tedavi sonrası kornea fotoğrafları. 1; Topikal % 0.9 NaCl, 2; Topikal deksametazon, 3; Subkonjonktival bevacizumab, 4; Topikal bevacizumab.

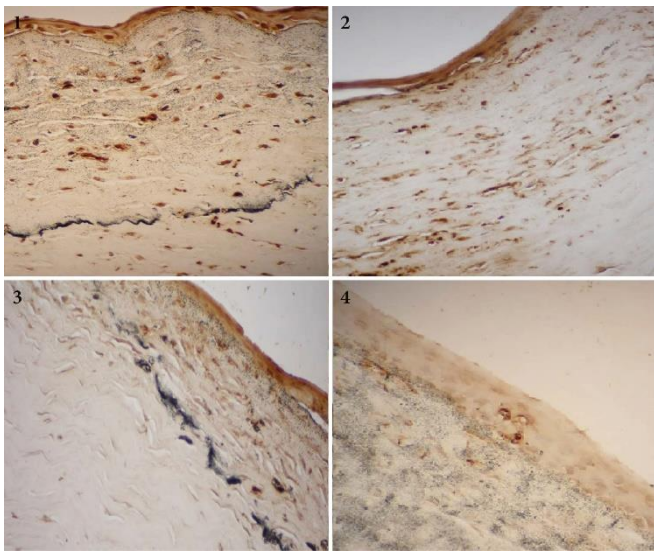
Grup 1'de medyan inflamasyon skoru 3 (2-3), Grup 2'de 2 (1-3), Grup 3'te 2 (1-2), Grup 4'te ise 2 (1-2) idi. Grup 1 en yüksek inflamasyon skoruna sahipti. Grup 2, 3 ve 4 arasında inflamasyon

skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.22$) (Tablo 1).



Resim 2: Grupların hematoxilen eozin ile boyanmış histopatolojik fotoğrafları. 1; Topikal % 0.9 NaCl, 2; Topikal deksametazon, 3; Subkonjonktival bevacizumab, 4; Topikal bevacizumab. Kontrol grubunda belirgin olarak artmış inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve yeni damarlar (↑) görülmektedir.

Ortalama apoptotik hücre sayısı Grup 1'de 6.36 ± 2.49 , Grup 2'de 3.68 ± 0.38 , Grup 3'te 1.10 ± 0.37 ve Grup 4'te ise 1.30 ± 0.20 idi. Apoptotik hücre sayıları açısından Grup 1 ile Grup 2 arasında ($p=0.06$) ve Grup 3 ile Grup 4 arasında ($p=0.32$) anlamlı farklılık saptanmadı. Grup 3 ve Grup 4'ün apoptotik hücre sayıları, Grup 1 ve 2'den istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük ölçüldü (tüm p değerleri < 0.05 ; Tablo 1). Resim 3 gruplardaki TUNEL pozitif apoptotik hücreleri göstermektedir.



Resim 3: Gruplardaki TUNEL pozitif apoptotik hücreler. 1; Topikal % 0.9 NaCl, 2; Topikal deksametazon, 3; Subkonjonktival bevacizumab, 4; Topikal bevacizumab.

TARTIŞMA

Bu çalışmada, tavşanlarda deneysel yöntemle oluşturulan kimyasal yanığa bağlı korneal NV tedavisinde topikal ve subkonjonktival bevacizumabın inhibitör etkisinin topikal deksametazondan daha fazla olduğunu tespit ettik. Apoptotik hücre yoğunlukları ise topikal ve subkonjonktival bevacizumab gruplarında diğer gruplara göre anlamlı derecede daha azdı.

Korneal NV etyopatogenezinde VEGF'nin etkin role sahip olması, tedavi sürecinde VEGF inhibisyonuna önem kazandırmaktadır. Bevacizumab, VEGF'nin tüm alt gruplarının reseptörlerle etkileşimini bloke ederek VEGF etkilerinin oluşumunu inhibe etmektedir.¹³ Literatürde bevacizumabın kimyasal travma, herpetik keratit, pterijyum nüksleri, korneal ülser ve skarlar, limbal kök hücre yetmezliği, graft versus host hastalığı ve Steven Johnson sendromu gibi birçok oküler yüzey hastalığının tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir.¹⁴⁻¹⁸

Bu çalışmada bevacizumabın korneal NV ve apoptozisi azaltıcı etkisini literatürle uyumlu olarak deksametazon ve kontrol grubundan belirgin olarak yüksek saptadık.¹⁹⁻²¹ Deneyin 10. gününün ardından yapılan karşılaştırmada bevacizumabın topikal ve subkonjonktival uygulamasının korneal NV, inflamasyona ve apoptozis üzerine etkileri üzerinde anlamlı düzeyde bir farklılık saptamadık. Topikal ve subkonjonktival uygulamanın erken dönem etkilerinin kıyaslamasına dair elde ettiğimiz bu sonuçlar literatürle de uyumlu idi.²²⁻²⁴ Dastjerdi ve ark²⁵, bevacizumabın topikal kullanımı (%1) ve subkonjonktival enjeksiyonunun (0.5 mg) ardından 14 güne kadar korneal stromada bevacizumabın saptandığını ve etkinliğinin devam ettiğini ifade etmiştir. Kim ve ark¹⁰, da korneal NV tedavisinde ilk iki hafta topikal ve subkonjonktival uygulamanın etkinliği arasında fark olmadığını, ancak iki haftadan sonra subkonjonktival enjeksiyonun etkisinin bevacizumabın yarı ömrü nedeniyle azaldığını ve tekrarının gerekli olduğunu ifade etmiştir. Özellikle kimyasal yanığa bağlı korneal NV'li hastalarda ağrı eşliğinin azalmasına bağlı subkonjonktival enjeksiyon uygulamalarının konforsuz ve zor olduğu, subkonjonktival hemoraji gibi komplikasyonların da daha sık gözlemlendiği bildirilmiştir. Topikal tedaviye devam etmenin uzun dönemde daha pratik ve etkili olduğu ifade edilmiştir.^{10,26}

Topikal steroidler antiinflamatuvar etki üzerinden yeni damar oluşumunu suprese etmektedir. Ancak var olan matür damarlar üzerindeki antiangiyojenik etkileri sınırlı bulunmuştur.²⁷ Bizim çalışmamızda da korneal NV tedavisinde antiangiyojenik etkinin topikal deksametazonda kısıtlı ve bevacizumabtan daha düşük

olduğunu tespit ettik. Antiinflatuar etkinlik açısından ise aralarında anlamlı farklılık saptamadık. Bununla birlikte steroidlerin uzun dönem kullanımında katarakt formasyonu, glokom, enfeksiyonlara yatkınlık gibi iyi bilinen yan etkilerinin bulunması da tedavide öncelikle tercih edilmemeleri için önemli bir gerekçe oluşturmaktadır.¹¹ Topikal bevacizumabın ise hafif korneal epitelopati ve korneal incelme gibi nadir görülen yan etkiler dışında ciddi bir komplikasyonuna literatürde rastlanmamıştır.²⁸

Sonuç olarak bu çalışma kimyasal yanığa sekonder korneal NV tedavisinde hem topikal hem de subkonjonktival bevacizumabın, topikal deksametazondan daha etkili olduğunu göstermiştir.

ÇIKAR BEYANNAMESİ

Mevcut çalışma ile ilgili yazarların herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

KAYNAKÇA

- Sarah B, Ibtissam H, Mohammed B, Hasna S, Abdeljalil M. Intrastromal Injection of Bevacizumab in the Management of Corneal Neovascularization: About 25 Eyes. *J Ophthalmol* 2016;2016:6084270. Karakaya E, Coşkun AM, Yakıt E. Suriyeli mülteci kadınların doğurganlık özellikleri ve etkileyen faktörler: Kalitatif bir çalışma. *J Int Soc Res*. 2017;10(48):417-428.
- Chang JH, Garg NK, Lunde E, Han KY, Jain S, Azar DT. Corneal neovascularization: an anti-VEGF therapy review. *Surv Ophthalmol* 2012;57(5):415-429.
- Gupta D, Illingworth C. Treatments for corneal neovascularization: a review. *Cornea* 2011;30(8):927-938.
- Patan S. Vasculogenesis and angiogenesis. *Cancer Treat Res* 2004;117: 3-32.
- Kvanta A. Ocular angiogenesis: the role of growth factors. *Acta Ophthalmol Scand* 2006;84(3):282-288.
- Xu J, Li Y, Hong J. Progress of anti-vascular endothelial growth factor therapy for ocular neovascular disease: benefits and challenges. *Chin Med J (Engl)* 2014;127(8):1550-1557.
- Philipp W, Speicher L, Humpel C. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in inflamed and vascularized human corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(9):2514-2522.
- Stevenson W, Cheng SF, Dastjerdi MH, Ferrari G, Dana R. Corneal neovascularization and the utility of topical VEGF inhibition: ranibizumab (Lucentis) vs bevacizumab (Avastin). *Ocul Surf* 2012;10(2):67-83.
- Gal-Or O, Livny E, Sella R, et. al. Efficacy of Subconjunctival Aflibercept Versus Bevacizumab for Prevention of Corneal Neovascularization in a Rat Model. *Cornea* 2016;35(7):991-996.
- Kim J, Kim D, Kim ES, et. al. Topically administered bevacizumab had longer standing anti-angiogenic effect than subconjunctivally injected bevacizumab in rat corneal neovascularization. *Int J Ophthalmol* 2013;6(5):588-591.
- Feizi S, Azari AA, Safapour S. Therapeutic approaches for corneal neovascularization. *Eye Vis (Lond)* 2017;4:28.
- Peebo BB, Fagerholm P, Traneus-Rockert C, Lagali N. Cellular level characterization of capillary regression in inflammatory angiogenesis using an in vivo corneal model. *Angiogenesis* 2011;14(3):393-405.
- Cheng SF, Dastjerdi MH, Ferrari G, et. al. Short-term topical bevacizumab in the treatment of stable corneal neovascularization. *Am J Ophthalmol* 2012;154(6):940-948.e941.
- Bock F, König Y, Kruse F, Baier M, Cursiefen C. Bevacizumab (Avastin) eye drops inhibit corneal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008;246(2):281-284.
- You IC, Kang IS, Lee SH, Yoon KC. Therapeutic effect of subconjunctival injection of bevacizumab in the treatment of corneal neovascularization. *Acta Ophthalmol* 2009;87(6):653-658.
- Jacobs DS, Lim M, Carrasquillo KG, Rosenthal P. Bevacizumab for corneal neovascularization. *Ophthalmology* 2009;116(3):592-593; author reply 593-594.
- Yoeruek E, Ziemssen F, Henke-Fahle S, et. al. Safety, penetration and efficacy of topically applied bevacizumab: evaluation of eyedrops in corneal neovascularization after chemical burn. *Acta Ophthalmol* 2008;86(3):322-328.
- Carrasco MA. Subconjunctival bevacizumab for corneal neovascularization in herpetic stromal keratitis. *Cornea* 2008;27(6):743-745.
- Hasanreisoglu M, Weinberger D, Mimouni K et. al. Intravitreal bevacizumab as an adjunct treatment for neovascular glaucoma. *Eur J Ophthalmol* 2009;19(4):607-612.
- Barros LF, Belfort R, Jr. The effects of the subconjunctival injection of bevacizumab (Avastin) on angiogenesis in the rat cornea. *An Acad Bras Cienc* 2007;79(3):389-394.
- Hosseini H, Nejabat M, Mehryar M, et. al. Bevacizumab inhibits corneal neovascularization in an alkali burn induced model of corneal angiogenesis. *Clin Exp Ophthalmol* 2007;35(8):745-748.
- Ahmed A, Berati H, Nalan A, Aylin S. Effect of bevacizumab on corneal neovascularization in experimental rabbit model. *Clin Exp Ophthalmol* 2009;37(7):730-736.
- Hashemian MN, Moghimi S, Kiumehr S, et. al. Prevention and treatment of corneal neovascularization: comparison of different doses of subconjunctival bevacizumab with corticosteroid in experimental rats. *Ophthalmic Res* 2009;42(2):90-95.
- Oner V, Kucukerdonmez C, Akova YA, et. al. Topical and subconjunctival bevacizumab for corneal neovascularization in an experimental rat model. *Ophthalmic Res* 2012;48(3):118-123.
- Dastjerdi MH, Sadrai Z, Saban DR, et. al. Corneal penetration of topical and subconjunctival bevacizumab. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(12):8718-8723.
- Krizova D, Vokrojova M, Liehneova K, Studeny P. Treatment of Corneal Neovascularization Using Anti-VEGF Bevacizumab. *J Ophthalmol* 2014;2014:178132.
- Cursiefen C, Wenkel H, Martus P et. al. Impact of short-term versus long-term topical steroids on corneal neovascularization after non-high-risk keratoplasty. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001;239(7):514-521.
- Kim SW, Ha BJ, Kim EK, et. al. The effect of topical bevacizumab on corneal neovascularization. *Ophthalmology* 2008;115(6):33-38.