

Bevacizumab i patologija rožnice

Bevacizumab and corneal pathology

Marijana Bilen Babić*, Maja Merlak

Klinika za oftalmologiju, KBC Rijeka, Rijeka

Sažetak. Cilj rada je dati pregled postojeće literature o terapiji bevacizumabom u liječenju neovaskularnih poremećaja rožnice. Rožnica je jedinstveno tkivo zbog svoje prirodne avaskularnosti. Imunoprivilegirano je vezivno tkivo koje služi kao mehanička prepreka i prednja refraktivna površina oka. Krvnu opskrbu prima perilimbalnim cilijarnim arterijama. Neovaskularizacija (NV) rožnice je stanje koje obilježava patološko urastanje perilimbalnih krvnih žila u rožnicu, zbog kroničnog nedostatka kisika. Patološka stanja koja uzrokuju neoangiogenezu rožnice su kemijske ozljede, ishemija, infekcije, degeneracije, trauma i imunološki procesi. Abnormalne krvne žile uzrokuju stvaranje ožiljaka rožnice i kompromitiraju vidnu oštrinu. Neovaskularizacija rožnice nastaje kada je ravnoteža između pro-angiogenih i anti-angiogenih faktora narušena u korist pro-angiogenih molekula. Dosadašnji uobičajeni tretmani za liječenje NV-a rožnice imaju ograničenu kliničku djelotvornost jer ne ciljaju molekularne posrednike angiogeneze. VEGF-A (engl. *Vascular Endothelial Growth Factor-A*) je glavni regulator hemangiogeneze. Bevacizumab prepoznaje sve VEGF izoforme. Neovaskularna stanja rožnice koja se mogu liječiti bevacizumabom su: inflamatorna stanja, infekcije i traumatski/jatrogeni uzroci. Studije su pokazale djelomično smanjenje neovaskularizacija rožnice kroz topičku, subkonjunktivnu i intrastromalnu primjenu bevacizumaba. Anti-VEGF terapija stvorila je ogromnu nadu za liječenje neovaskularizacije rožnice, no ona ima svoje granice u liječenju, a uspješnost liječenja ovisi o veličini ožiljka, trajanju bolesti i opsegu neovaskularizacija. Anti-VEGF terapija je posebno učinkovita ako se primijeni u ranoj fazi (prva 2 tjedna neoangiogeneze). Kontrolirane prospektivne studije potrebne su za uspostavu dugoročne sigurnosti i određivanje minimalne efektivne i maksimalne sigurnosne koncentracija bevacizumaba za liječenje NV-a prednjeg segmenta oka.

Ključne riječi: bevacizumab; patologija rožnice; rožnica; vaskularni endotelni faktori rasta

Abstract. The purpose of this paper is to present a review of the current literature on anti-vascular endothelial growth factor (anti-VEGF) bevacizumab therapy for corneal neovascular disorders. Cornea is unique avascular, immunoprivileged connective tissue that acts as transparent mechanical barrier and the anterior eye refractive surface. Corneal neovascularizations (NV) are caused by chronic corneal ischemia with pathological ingrowth of perylimbal blood vessels into the cornea. Abnormal blood vessels cause scarring of the cornea and compromise visual acuity. Pathological conditions that cause corneal neoangiogenesis are: chemical burns, ischemia, infections, degeneration, trauma and immune processes. Corneal neovascularization occurs because of corneal pro-angiogenic and anti-angiogenic factors disequilibrium. The former treatment of corneal NV does not target the molecular mediators of angiogenesis. VEGF-A is the main regulator of angiogenesis. Bevacizumab recognizes all VEGF isoforms. Studies have demonstrated partial reduction of neovascularization through topical, subconjunctival and intrastromal bevacizumab application. Bevacizumab can be used in corneal inflammatory diseases, infections and traumatic/iatrogenic causes. Anti-VEGF agents have created enormous hope for the treatment of corneal neovascularization. Treatment of corneal NV with anti-VEGF antibody has limits and depends on the size of the scar, durability and range of neovascularization. Anti-VEGF agents are especially effective when administered early (less than 2 weeks in neoangiogenesis). Controlled prospective studies are needed to establish long-term safety, efficacy and minimum effective and maximum security concentration of the drug to treat neovascularisation of anterior eye segment.

Key words: bevacizumab; cornea; corneal diseases; vascular endothelial growth factors

*Dopisni autor:

Marijana Bilen Babić, dr. med.
Klinika za oftalmologiju, KBC Rijeka
Krešimirova 42, 51 000 Rijeka
e-mail: marijanaabb@gmail.com

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

UVOD

Zbog svoje prirodne avaskularnosti rožnica je, uz hrskavicu, jedinstveno tkivo. Imunoprivilegirano je, prozirno vezivno tkivo koja služi kao mehanička prepreka i prednja refraktivna površina oka. Krvnu opskrbu prima perilimbalnim cilijarnim arterijama. Angiogeneza je proces rasta novih krvnih žila iz već postojećih krvožilnih struktura. Neovaskularizacija (NV) rožnice je stanje koje obilježava patološko urastanje perilimbalnih krvnih žila u rožnicu, zbog kroničnog nedostatka kisika, koji rožnica apsorbira iz zraka. Patološka stanja koja uzrokuju neoangiogenezu rožnice su kemijske ozljede, ishemija, infekcije, degeneracije, trauma i imunološki procesi¹. Abnormalne krvne žile uzrokuju stvaranje ožiljaka rožnice i kompromitiraju vidnu oštrinu. Rijetko imaju pozitivnu ulogu u cijeljenju rožničnih defekata i sprječavanju 'topljenja' (engl. *melting*) rožnice². NV rožnice pogađa do 4,14 % pacijenata koji traže oftalmološku pomoć ili oko 1,4 milijuna ljudi godišnje³⁻⁴. Neovaskularizacija rožnice nastaje kada je ravnoteža između pro-angiogenih i anti-angiogenih faktora narušena u korist pro-angiogenih molekula. Najznačajnije pro-angiogene molekule su: vaskularni endotelni faktor rasta (engl. *vascular endothelial growth factor*; VEGF), osnovni faktor rasta fibroblasta (engl. *basic fibroblast growth factor*; bFGF) i matriks metaloproteinaze. Također, u neoangiogenezi postoji i nedostatak anti-angiogenih čimbenika, a to su: topljivi VEGF receptor-2 (engl. *Soluble fms-like tyrosine kinase-1*; sVEGFR-2 ili sflt-1), pigmentni epitel-derivirani faktor (engl. *Pigment epithelium-derived factor*; PEDF), angiostatin i endostatin⁵.

Neovaskularni uzorak rožnice javlja se u 3 kliničke slike: površni vaskularni panus, NV strome rožnice i duboki NV iznad Descemetove membrane⁶. Dosadašnji uobičajeni tretmani za liječenje NV-a rožnice uključuju: topičku kapljičnu primjenu kortikosteroida i nesteroidnih protuupalnih lijekova, destrukciju neovaskularizacija: fotodinamičkom terapijom, laserskom fotokoagulacijom krvnih žila, dijatermijom finom iglom te transplantaciju spojnice, limbalnih stanica i amnijske membrane⁵. Nažalost, ovi oblici liječenja imaju ograničenu kliničku djelotvornost i uzrokuju nuspojave te ne ciljaju molekularne posrednike angiogeneze.

Ciljani tretman na prednjem segmentu oka zahtijeva lijekove s mogućnosti difuzije kroz netaknuti epitel⁴.

Bevacizumab (*Avastin*; *Genentech/Roche*) je humanizirano mišje monoklonsko imunoglobulin G (IgG) antitijelo koje prepoznaje sve izoforme VEGF-a⁴. Bevacizumab je inicijalno odobrio *US Food and Drug Administration* (FDA) za liječenje metastatskog karcinoma kolona, ali se koristi i 'off-label' za liječenje neovaskularne senilne makularne degeneracije. Vaskularni endotelni faktor rasta

Neovaskularizacija (NV) rožnice stanje je koje obilježava patološko urastanje perilimbalnih krvnih žila u rožnicu, zbog kroničnog nedostatka kisika, koji rožnica apsorbira iz zraka. Patološka stanja koja uzrokuju neoangiogenezu rožnice su kemijske ozljede, ishemija, infekcije, degeneracije, trauma i imunološki procesi. Abnormalne krvne žile uzrokuju stvaranje ožiljaka rožnice i kompromitiraju vidnu oštrinu.

(VEGF) jedan je od najvažnijih posrednika angiogeneze⁷. Anti-VEGF agensi imaju velik potencijal za liječenje neovaskularizacije rožnice, što su pokazale studije na eksperimentalnim životinjskim modelima i klinička ispitivanja. Studije su pokazale djelomično smanjenje neovaskularizacija rožnice kroz topičku, subkonjunktivalnu i intrastromalnu primjenu bevacizumaba.

Bevacizumabom se mogu liječiti neovaskularizacije rožnice nastale u sljedećim bolestima rožnice:

1. Inflamatorna stanja: očni pemphigoid, atopički konjunktivitis, rosacea, *graft versus host*, odbacivanje transplantata rožnice⁴;
2. Infekcije: virusne (Herpes simplex i Herpes zoster), gljivične (*Candida*, *Fusarium*, *Aspergillus*), bakterijske (*Pseudomonas*, *Chlamidia trachomatis*, *Syphilis*), parazitarne (*Acanthamoeba*)¹⁻⁴;
3. Traumatski/jatrogeni uzroci (produljeno nošenje kontaktnih leća, kemijske alkalne ozljede)⁴⁻⁸.

TOPIČKA PRIMJENA AVASTINA

Topički bevacizumab djelomično smanjuje neovaskularizacije rožnice u eksperimentalnom živo-

tinjskom modelu⁴. Kod topičkog bevacizumaba upitan je prodor lijeka kroz intaktni epitel zbog visoke molekularne težine (149 kDa)⁹. U prvoj objavljenoj studiji o primjeni topičke terapije na ljudskom modelu za redukciju stabilnih rožničkih NV-a (površnog ili dubokog NV-a sa širenjem 2 mm od limbusa), 2 pacijenta su dobila 1 % topički bevacizumab 4 puta dnevno, što je rezultiralo značajnom redukcijom površnih i dubokih stromalnih NV¹⁰. Koenig i suradnici liječili su topičkim 5 mg/ml bevacizumabom 0,5 – 12 mjeseci, primjenom 5 puta dnevno, 30 očiju 27 pacijenata, što je rezultiralo smanjenjem od 61 % u srednjem neovaskularnom području i smanjenjem krvožilnog promjera za 24 %. Također, uočili su da se maksimalni učinci postižu primjenom u ranom stadiju neovaskularizacije¹¹. Dastjerdi i suradnici bilježe smanjenje za 47,1 % u srednjem neovaskularnom području i smanjenje kalibra žila za 54,1 % u 10 očiju 10 pacijenata koji su tretirani 1 % topičkim bevacizumabom tijekom 3 tjedna i praćeni 24 mjeseca¹². Bock i suradnici agresivni NV liječili su topičkom primjenom 5 mg/ml bevacizumaba 5 puta dnevno, tijekom 0,5 – 6 mjeseci s regresijom NV-a kod svih pacijenata⁸.

Topički bevacizumab je djelotvoran kao neoadjuvantna (reduktivna) terapija uz kiruršku eksciziju u liječenju skvamozne neoplazije rožnice i konjunktive. U studiji Asene i suradnika, topički 5 mg/ml bevacizumab 4 puta dnevno tijekom 8 tjedana doveo je do smanjenja lezije za 43 % (20 – 71 %) u prvom mjesecu terapije i 68 % (42 – 100 %) u drugom mjesecu terapije¹³.

SUBKONJUNKTIVALNA PRIMJENA BEVACIZUMABA

Zaki i suradnici u svojoj studiji na 10 pacijenata prikazali su da se subkonjunktivalna primjena 2,5 mg/0,1 ml bevacizumaba dobro podnosi i dovodi do smanjenja ukupne površine neovaskularizacija s 14 % površine rožnice na 9,4 % već 15 dana nakon 1 injekcije, s postepenom regresijom NV do 3 mjeseca nakon injekcije i stabilnim stanjem tijekom 6 mjeseci¹⁴. Daljnje studije sugeriraju da se djelotvornost bevacizumaba povećava pri višim dozama (5,0 mg/0,2 ml)¹⁵. Petsoglou i suradnici primijenili su 3 subkonjunktivalne injekcije 2,5 mg/0,1 ml bevacizumaba na 30 očiju s NV-om, u

odnosu na kontrolnu placebo skupinu, te je nakon 3 subkonjunktivalne injekcije došlo do regresije za 36 % u središnjem području NV-a¹⁶.

INTRASTROMALNA PRIMJENA BEVACIZUMABA

Intrastromalna primjena bevacizumaba novija je tehnika aplikacije. Oh i suradnici prikazali su kombinaciju subkonjunktivalne i intrastromalne primjene bevacizumaba kod lipidne keratopatije s NV-om, u koncentraciji 1,25 mg/0,05 mL, u minimalno 2 doze s intervalima od jednog mjeseca između injekcija¹⁷.

Druga skupina autora primjenjivala je kombinirani subkonjunktivalni (1,25 mg/0,05 mL) i intrastromalni (1,25 mg/0,05 mL) bevacizumab, s 1 do 3 primjena, uz regresiju NV-a tijekom 6 mjeseci praćenja¹⁸. 2011. godine Hashemian i suradnici prikazali su da 1 duboka intrastromalna injekcija bevacizumaba (2,5 mg/0,1 mL) za duboke NV-e nakon duboke prednje lamelarne keratoplastike dovodi do regresije NV-a tijekom 6 mjeseci¹⁹. Mohammadpour je primijenio 27-gauge duboku intrastromalnu injekciju 2,5 mg/0,1 ml bevacizumaba u paracentralnom području rožnice²⁰.

TRANSPLANTACIJA ROŽNICE

Transplantacija na vaskulariziranu donatorsku rožnicu dvostruko uvećava mogućnost nepovoljne imunološke reakcije domaćina²¹. Na životinjskim modelima i kliničkim slučajevima prikazana je veća stopa preživljavanja transplantata rožnice nakon primjene bevacizumaba (2,5 mg/0,1 ml po zahvaćenom kvadrantu rožnice) subkonjunktivalno, perilimbalno i intrastromalno u području neovaskularizacija rožnice primatelja prije transplantacije rožnice, te subkonjunktivalno i perilimbalno nakon same transplantacije rožnice i tijekom kontrolnih pregleda u području neovaskularizacija primateljeve rožnice²².

TOPIČKA ILI SUBKONJUNKTIVALNA APLIKACIJA BEVACIZUMABA?

Još uvijek nije dokazano koji je način primjene bevacizumaba kod NV-a rožnice efikasniji, topički ili subkonjunktivalni. U mišjem modelu transplantacije rožnice utvrđeno je da je smanjenje neovaskularizacije bilo jače kod subkonjunktivalne

primjene. Štoviše, samo subkonjunktivalna administracija uspjela je smanjiti stopu odbacivanja presatka, uz 33 % preživljavanje transplantata u subkonjunktivalnoj skupini u odnosu na 0 % u kontrolnoj skupini s topičkom primjenom bevacizumaba²³⁻²⁴. Zaključno, bevacizumab se topički treba dati u većim dozama kako bi se postigla efikasnost subkonjunktivalne injekcije. Subkonjunktivalna primjena ima brži učinak, vjerojatno zbog anatomske blizine. Subkonjunktivalni bevacizumab je bolji za žarišne, duboke i periferne neovaskularizacije, dok se difuzna površna neovaskularizacija s centralnim promjenama najbolje liječi topičkom primjenom.

RASPRAVA

U objavljenim studijama prikazani su rezultati istraživanja tijekom kojih je postignuto djelomično, ali nepotpuno uklanjanje neovaskularizacija rožnice. Uz VEGF, i drugi faktori i citokini rasta također potiču angiogenezu u rožnici: faktor rasta fibroblasta (engl. *Fibroblast growth factor*; FGF-1 i 2), metaloproteinaze matriksa, angiostatin, endostatin, čimbenik rasta trombocita (engl. *Platelet derived growth factor*; PDGF)¹. Može li kombinirana terapija koja cilja na neke od ovih molekula uz anti-VEGF terapiju biti korisnija od anti-VEGF monoterapije⁴? Nadalje, bevacizumab je isključivo antitijelo protiv VEGF-A i ne blokira aktivnosti ostalih članova VEGF obitelji. Bevacizumab je naizgled učinkovit samo protiv proliferativnih krvnih žila, jer stare krvne žile ne trebaju VEGF za proliferaciju. Oblaganje novostvorenih krvnih žila pericitima nakon 2 tjedna od nastanka označava kraj osjetljivog područja rasta krvnih žila, kada odsutnost angiogenih faktora kao što je VEGF može dovesti do selektivne apoptoze i regresije žila. Budući da su nove krvne žile prekrivene pericitima nakon 2 tjedna, liječenje utvrđenih žila s angioregresivnom anti-VEGF terapijom nakon tog perioda često dovodi do suboptimalnih rezultata⁴⁻²⁵.

NUSPOJAVE

In vitro studije pokazale su da bevacizumab nema citotoksične učinke na ljudske stanične linije rožnice pri koncentracijama do 4 mg/ml²⁶. Stanične kulture keratinocita, fibroblasta i endotelnih sta-

nica rožnice nisu pokazale citotoksični efekt nakon izlaganja bevacizumabu u koncentraciji 0,25 – 5 mg/ml, što su koncentracije 20 puta veće od intravitrealne doze bevacizumaba²⁷. Kang i suradnici uspoređivali su učinak 3 VEGF agensa (bevacizumab, ranibizumab i aflibercept) na epitelne stanice i proces cijeljenja rožnice, te pokazali da bevacizumab u koncentracijama 1 – 2 mg/ml smanjuje migraciju stanica²⁸. Isključujući faktori za primjenu bevacizumaba su: trudnoća, nekon-

Vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF) jedan je od najvažnijih posrednika angiogeneze. Anti-VEGF agensi imaju velik potencijal za liječenje neovaskularizacije rožnice, što su pokazale studije na eksperimentalnim životinjskim modelima i klinička ispitivanja. Studije su pokazale djelomično smanjenje neovaskularizacija rožnice kroz topičku, subkonjunktivalnu i intrastromalnu primjenu bevacizumaba.

trolirana arterijska hipertenzija, povijest infarkta miokarda i cerebrovaskularnog inzulta.

Sistemske aplikacije bevacizumaba ima koncentraciju u organizmu 500 puta veću nego kod okularne primjene⁴. Topička primjena bevacizumaba može dovesti do epitelnih defekata rožnice, ovisno o dozi i trajanju tretmana. Kim i suradnici aplicirali su 1,25 % topički bevacizumab 2 puta dnevno tijekom 3 mjeseca. Šest od 10 očiju razvilo je epiteliopatiju u drugom mjesecu liječenja, što upućuje na poremećaj adhezije između epitela i bazalne membrane rožnice ili poremećaja u procesu cijeljenja epitela rožnice²⁹. Dong i suradnici aplicirali su subkonjunktivalne injekcije bevacizumaba u koncentracijama 1,25 i 25 mg/ml, te zapazili da degeneraciju živaca rožnice, smanjenu rožničnu osjetljivost i produljeno zacjeljivanje rožnice kod viših koncentracija bevacizumaba i nakon ponovljenih injekcija, a promjene su bile reverzibilne kod jedne subkonjunktivalne injekcije 1 – 5 mg/ml bevacizumaba³⁰.

Topička primjena bevacizumaba problematična je kod liječenja NV-a rožnica s ozljedama ili ulkusima. Dastjerdi i suradnici, koji su bevacizumab u manjoj koncentraciji (1,0 %, 10 mg/mL) primjenjivali kraće, do 3 tjedna, prikazali su smanjenje za

47,1 % prosječne površine NV, bez nuspojava¹². Koenig i suradnici primjenjuju još niže koncentracije (0,5 %) do 12 mjeseci uz dobru toleranciju lijeka¹¹. Zaključno, kraće trajanje terapije uz niže koncentracije može poboljšati sigurnosni profil topičke primjene bevacizumaba.

Nuspojave subkonjunktivalog bevacizumaba su rijetke, ali ozbiljne, kao perforacija bulbusa ili okulokardijalni refleks⁴.

ZAKLJUČAK

Anti-VEGF tvari stvorile su ogromnu nadu za liječenje neovaskularizacije rožnice. Klinička ispitivanja neophodna su za daljnji razvoj, s obzirom na to da je otkriveno da je mreža molekula uključenih u angiogenezu rožnice još opsežnija nego što se ranije mislilo. Uspjeh liječenja neovaskularizacija rožnice anti-VEGF antitijelima ima granice te ovisi o veličini ožiljka, dugotrajnosti bolesti i opsegu neovaskularizacije. Radi se o simptomatskom liječenju neovaskularizacija rožnice, koje ne liječi uzrok poremećaja, a u nekim slučajevima potrebno je ponoviti postupak za održavanje pozitivnog učinka. Anti-VEGF tvari posebno su učinkovite kada se primijene u ranoj fazi neoangiogeneze, tijekom prva 2 tjedna. Za starije neovaskularizacije kombinacije anti-VEGF tvari mogu biti učinkovitije od anti-VEGF monoterapije.

Osim uvrježena korištenje bevacizumaba u liječenju karcinoma i koriorretinalne neovaskularizacije, početni brzodjelujući odgovor i visoka tolerancija pacijenata daju ohrabrujuće rezultate u liječenju neovaskularnih poremećaja prednjeg segmenta. Kontrolirane prospektivne studije potrebne su za uspostavu dugoročne sigurnosti i određivanje minimalne efektivne i maksimalne sigurnosne koncentracija lijeka za liječenje NV-a prednjeg segmenta oka.

Izjava o sukobu interesa: autori izjavljuju da ne postoji sukob interesa.

LITERATURA

- Chang JH, Gabison EE, Kato T, Azar DT. Corneal neovascularization. *Curr Opin Ophthalmol* 2001;12:242–9.
- Lee P, Wang CC, Adamis AP. Ocular neovascularization: an epidemiologic review. *Surv Ophthalmol* 1998;43:245–269.
- Bachmann BO, Bock F, Wiegand SJ, Maruyama K, Dana MR, Kruse FE et al. Promotion of graft survival by vascular endothelial growth factor a neutralization after high-risk corneal transplantation. *Arch Ophthalmol* 2008;126:71–7.
- Chang JH, Garg N, Lunde E, Han KY, Jain S, Azar D. Corneal Neovascularization: An Anti-VEGF Therapy Review. *Surv Ophthalmol* 2012;57:415–429.
- Azar DT. Corneal angiogenic privilege: angiogenic and antiangiogenic factors in corneal avascularity, vasculogenesis, and wound healing (an American Ophthalmological Society thesis). *Trans Am Ophthalmol Soc* 2006;104:264–302.
- Ellenberg D, Azar DT, Hallak JA, Tobaigy F, Han KY, Jain S et al. Novel aspects of corneal angiogenic and lymphangiogenic privilege. *Prog Retin Eye Res* 2010;29:208–48.
- Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med* 1995;1:27–31.
- Bock F, Konig Y, Kruse F, Baier M, Cursiefen C. Bevacizumab (Avastin) eye drops inhibit corneal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008;246:281–4.
- Huang AJ, Watson BD, Hernandez E, Tseng SC. Induction of conjunctival transdifferentiation on vascularized corneas by photothrombotic occlusion of corneal neovascularization. *Ophthalmology* 1988;95:228–235.
- DeStafeno JJ, Kim T. Topical bevacizumab therapy for corneal neovascularization. *Arch Ophthalmol* 2007;125:834–6.
- Koenig Y, Bock F, Horn F; Kruse F, Straub K, Cursiefen C. Short- and long-term safety profile and efficacy of topical bevacizumab (Avastin) eye drops against corneal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2009;247:1375–82.
- Dastjerdi M, Al-Arfaj K, Nallasamy N, Hamrah P, Jurkunas U, Pineda R 2nd et al. Topical Bevacizumab in the Treatment of Corneal Neovascularization: Results of a Prospective, Open-label, Non-comparative Study. *Arch Ophthalmol* 2009;127: 381–389.
- Asena L, Dursun Altınörs D. Topical Bevacizumab for the Treatment of Ocular Surface Squamous Neoplasia. *J Ocul Pharmacol Ther* 2015;31:487–90.
- Zaki AA, Farid SF. Subconjunctival bevacizumab for corneal neovascularization. *Acta Ophthalmol* 2010;88:868–71.
- You IC, Kang IS, Lee SH, Yoon KC. Therapeutic effect of subconjunctival injection of bevacizumab in the treatment of corneal neovascularization. *Acta Ophthalmol* 2009;87:653–658.
- Petsoglou C, Balaggan KS, Dart JK, Bunce C, Xing W, Ali RR, Tuft SJ. Subconjunctival bevacizumab induces regression of corneal neovascularisation: a pilot randomised placebo-controlled double-masked trial. *Br J Ophthalmol* 2013;97:28–32.
- Oh JY, Kim MK, Wee WR. Subconjunctival and intracorneal bevacizumab injection for corneal neovascularization in lipid keratopathy. *Cornea* 2009;28:1070–3.
- Yeung SN1, Lichtinger A, Kim P, Amiran MD, Slomovic AR. Combined use of subconjunctival and intracorneal bevacizumab injection for corneal neovascularization. *Cornea* 2011;30:1110–4.
- Hashemian MN, Zare MA, Rahimi F, Mohammadpour M. Deep intrastromal bevacizumab injection for management of corneal stromal vascularization after deep anterior lamellar keratoplasty, a novel technique. *Cornea* 2011;30:215–8.

20. Mohammadpour M. Deep Intrastromal Injection of Bevacizumab for the Management of Corneal Neovascularization. *Cornea* 2013;32:109–110.
21. Maguire MG, Stark WJ, Gottsch JD, Stulting RG, Sugar A, Fink NE et al. Risk factors for corneal graft failure and rejection in the collaborative corneal transplantation studies. Collaborative Corneal Transplantation Studies Research Group. *Ophthalmology* 1994;101:1536–47.
22. Vassileva PI, Hergeldzhieva TG. Avastin use in high risk corneal transplantation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2009;247:1701–6.
23. Ferrara N, Hillan KJ, Novotny W. Bevacizumab (Avastin), a humanized anti-VEGF monoclonal antibody for cancer therapy. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;333:328–35.
24. Dastjerdi MH, Saban DR, Okanobo A et al. Effects of topical and subconjunctival bevacizumab in high-risk corneal transplant survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:2411–7.
25. Cursiefen C, Hofmann-Rummelt C, Kuchle M, Schlötzer-Schrehardt U. Pericyte recruitment in human corneal angiogenesis: an ultrastructural study with clinicopathological correlation. *Br J Ophthalmol* 2003;87:101–6.
26. Chalam KV, Agarwal S, Brar VS, Murthy RK, Sharma RK. Evaluation Of Cytotoxic Effects Of Bevacizumab On Human Corneal Cells. *Cornea* 2009;28:328–33.
27. Yoeruek E, Spitzer MS, Tatar , Aisenbrey S, Bartz-Schmidt KU, Szurman P. Safety profile of bevacizumab on cultured human corneal cells. *Cornea* 2007;26:977–82.
28. Kang S, Choi H, Rho CR. Differential Effects of Bevacizumab, Ranibizumab, and Aflibercept on the Viability and Wound Healing of Corneal Epithelial Cells. *J Ocul Pharmacol Ther* 2016;32:671–676.
29. Kim SW, Ha BJ, Kim EK, Tchah H, Kim TI. The effect of topical bevacizumab on corneal neovascularization. *Ophthalmology* 2008;115:e33–8.
30. Dong M, Di G, Zhang X, Zhou Q, Shi W. Subconjunctival Bevacizumab Injection Impairs Corneal Innervations and Epithelial Wound Healing in Mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017;58:1469–1477.