

Trabekülektomi Uygulanan Tavşanlarda Bevacizumab'ın Konjonktival Yara İyileşmesi Üzerine Etkisi*

The Effect of Bevacizumab on Conjunctival Wound Healing After Trabeculectomy in Rabbits

Kadir ÇOLAKOĞLU¹, Ali AYDIN², Taner KAR³, Ali AYATA⁴, Ümit AYKAN⁵, Melih ÜNAL⁶, Aptullah HAHOLU⁷, Dilaver ERŞANLI⁶

ÖZ

Amaç: Bu araştırma, deneysel olarak vasküler endotelial büyüme faktörü inhibitörü olan bevacizumab'ın, trabekülektomi ameliyatı sonrasında yara iyileşmesine etkisini, değerlendirmek amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Araştırma 20 tavşan üzerinde yapıldı. 10'ar tavşanlık iki grup oluşturuldu. Her iki grupta da tavşanların sağ gözüne trabekülektomi ameliyatı uygulandı. Ameliyat sonrasında gruplardan birine subkonjonktival olarak bevacizumab, diğerine dengeli tuz solüsyonu enjekte edildi. Ameliyattan sonra tüm hayvanlar, postoperatif 1., 3., 5., 10., 15. ve 30. günlerde muayene edildi. Yapılan muayenelerin hepsinde ameliyath gözlerin göz içi basıncı değerleri, bleb vaskülaritesi ve bleb yapısı değerlendirildi. Çalışmanın sonunda ameliyath gözlerle enükleasyon uygulandı. İki grupta da fibrozis ve enflamasyon miktarını değerlendirmek ve derecelendirmek için histolojik çalışmalar yapıldı.

Bulgular: Bleb sağkalım süresi bevacizumab grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha uzundu ($p<0.05$). Postoperatif 15. günde, göz içi basıncı değerleri ve bleb vaskülarizasyonu bevacizumab grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük bulundu ($p<0.05$). Histolojik analizler bevacizumab tedavisi uygulanan gözlerde postoperatif enflamasyon ve fibrozisin daha az olduğunu gösterdi ($p<0.05$).

Sonuç: Postoperatif subkonjonktival bevacizumab tedavisinin, glokom filtrasyon cerrahisinde başarıyı arttırmak ve skar dokusu gelişiminin sınırlandırılması açısından faydalı bir ajan olabileceğini düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Glokom, bevacizumab, trabekülektomi, yara iyileşmesi.

ABSTRACT

Purpose: This study has been conducted to evaluate the effect of bevacizumab which is a vascular endothelial growth factor inhibitor on wound healing after trabeculectomy surgery in the rabbit eye.

Materials and Methods: We used 20 rabbits in our research. We allocated rabbits randomly to two groups (10 per group). We applied trabeculectomy to the right eyes of all rabbits. We injected bevacizumab subconjunctivally in one group and balanced saline solution in the other. We examined the rabbits on postoperative days 1, 3, 5, 10, 15 and 30. In these postoperative examinations; intraocular pressure values, bleb vascularity and bleb formation were evaluated. At the end of the study, we applied enucleation on all operated eyes. In each group the histological studies were performed to evaluate the rate of fibrosis and inflammation.

Results: The bleb survival in the bevacizumab group was significantly longer than control group ($p<0.05$). IOP values and bleb vascularity were significantly lower in bevacizumab group on postoperative day 15 ($p<0.05$). Histological analysis revealed that there was less postoperative fibrosis and inflammation in the bevacizumab treated eyes ($p<0.05$).

Conclusion: We consider that postoperative subconjunctival bevacizumab injection may be a useful treatment choice to improve success and to limit scar tissue formation in glaucoma filtration surgery.

Key Words : Glaucoma, bevacizumab, trabeculectomy, wound healing.

*Bu çalışma; TOD 44. Ulusal Oftalmoloji Kongresi'nde sunulmuştur.

- 1- M.D. Kasımpasa Military Hospital, Eye Clinic, İstanbul/TURKEY
COLAKOĞLU K., kadircolakoglu@hotmail.com
- 2- M.D. Associate Professor, İstanbul Medipol University, Medical Faculty,
Department of Ophthalmology, İstanbul/TURKEY
AYDIN A., aydinali67@yahoo.com
- 3- M.D., Adana Military Hospital, Eye Clinic, Adana/TURKEY
KAR T., zeytin232003@yahoo.com
- 4- M.D. Associate Professor, GATA Military Hospital, Department of
Ophthalmology, İstanbul/TURKEY
AYATA A., ali_ayata@yahoo.com
- 5- M.D., Professor, Yakın Dogu University Faculty of Medicine, Department
of Ophthalmology, Lefkosa/KKTC
AYKAN U., umitaykan@yahoo.com
- 6- M.D. Professor, GATA Military Hospital, Department of Ophthalmology,
İstanbul/TURKEY
UNAL M., melihu@hotmail.com
HAHOLU A., haholu@yahoo.com
ERSANLI D., dersanli@ekolay.net
- 7- M.D. Professor, GATA Military Hospital, Department of Pathology,
İstanbul/TURKEY
HAHOLU A., haholu@yahoo.com

Geliş Tarihi - Received: 23.07.2013

Kabul Tarihi - Accepted: 13.12.2013

Glo-Kat 2014;9:167-172

Yazışma Adresi / Correspondence Address: M.D., Taner KAR
Adana Military Hospital, Eye Clinic, Adana/TURKEY

Phone: +90 533 380 54 61

E-Mail: zeytin232003@yahoo.com

GİRİŞ

Glokom; yüksek göz içi basıncının primer risk faktörü olduğu, karakteristik görme alanı kayıplarının eşlik ettiği ve optik nöropati ile seyreden bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Glokomda kontrol edilebilen en önemli risk faktörü göz içi basıncı (GİB) olup, glokomun medikal ve cerrahi tedavisinin ana hedefi olma özelliğini korumaktadır.¹

Glokomun cerrahi tedavisinde en sık uygulanan yöntem bir filtrasyon cerrahisi olan trabekülektomidir. Trabekülektomi cerrahisinde başarısızlığının en yaygın sebebi, progresif fibroblast proliferasyonuna bağlı olarak konjonktiva ve episklerada fibrozis gelişmesi ve filtrasyon blebi sahasında kollajen birikimidir.^{2,3} Bu başarısızlığı azaltmak için glokomun cerrahi tedavisinde antifibrotik ajanların kullanımı genel kabul görmüştür.^{4,5} Mitomycin C (MMC) ve 5-fluorouracil (5-FU) glokom filtrasyon cerrahisinde (GFC) en sık kullanılan antifibrotik ajanlardır. Bunlar fibroblast proliferasyonunu inhibe ederek skar oluşumunu önlemektedirler ve cerrahinin başarısını arttırmaktadır.^{6,7} Bununla birlikte bu ajanların non-spesifik etki mekanizmalarından dolayı geniş bir alanda hücre ölümüne neden olarak hipotoni, bleb sızdırması ve endoftalmitis gibi görmeyi tehdit eden komplikasyonlara neden olabildikleri bildirilmiştir.⁸⁻¹⁰ Bu nedenle alternatif antifibrotik ajanlara ihtiyaç vardır.

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEBF) ailesi yara iyileşmesinde anjiogenezis basamağında etkili en önemli sitokinlerden biridir. Yara içine enflamatuvar hücrelerin, fibroblast migrasyonu ve fibroblast büyüme faktörü gibi sitokinlerin salınımına izin veren anjiyogenezis, yara iyileşmesi sürecinin kritik bir basamağıdır.^{11,12} Anjiogenezisin anti-VEBF ajanlarla inhibe edilmesi fibroblast migrasyonu ve proliferasyonunu azaltacak ve böylece yara iyileşmesini azaltacaktır. Bevacizumab, Amerikan İlaç Komitesi tarafından metastatik kolorektal kanser, olgularında kullanım onayı verilen ilk antianjiyojenik ajan olup VEBF-A'ya karşı geliştirilmiş rekombinant humanize monoklonal antikordur.¹³ Bevacizumab'ın insanlarda ve tavşanlarda intravitreal kullanımı iyi bir güvenlik profiline sahiptir.^{14,15}

Biz bu çalışmada VEBF'nün skar oluşumundaki önemli rolü nedeniyle bevacizumab'ın trabekülektomi uygulanan tavşanların konjonktivasında, sklerasında yara iyileşmesi ve bleb ömrü üzerine etkisini araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada 20 adet, her birinin ağırlığı 2-3 kg arasında değişen beyaz, erkek Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Çalışma için gerekli olan hayvan deneyleri etik kurul onayı alındı.

Çalışma boyunca hayvanlara uygun beslenme koşulları sağlandı ve özel kafeslerde tutuldu. Bütün hayvanlara aynı hazırlık, anestezi ve cerrahi teknik uygulandı. Bütün işlemler genel anestezi altında yapıldı. Anestezi için 50 mg/kg ketamine hidroklorid (Ketalar; Eczacıbaşı, İstanbul) ve 5 mg/kg xylazine hidroklorid (Rompun; Bayer, İstanbul) intramusküler uygulandı.

Cerrahi işlem öncesi 20 tavşana numara verilerek 10'ar adetlik iki grup oluşturuldu. Her iki gruptaki tavşanların sağ gözüne aynı cerrah tarafından trabekülektomi uygulandı. Ameliyatın son aşamasına kadar tüm tavşanlara aynı işlemler uygulandı. Tel blefarosta takılıp üst rektustan geçilen 6/0 ipek sütür ile göz nazale devriye edilerek askıya alındı.

Konjonktiva ve tenon forniks tabanlı olarak saat 10 hizasında limbustan açıldı. 3x3 mm'lik üçgen skleral flep 30° bıçak kullanılarak işaretlendi. Kresent bıçak kullanılarak, 1/2 kalınlıkta skleral flep trabekulum görülene kadar kaldırıldı ve ardından 2 mm trabekülektomi yapıldı. Oluşturulan trabekülektomi sahasından periferik iridektomi yapıldı. İridektomi alanından retina reflesinin alınması ile periferik iridektominin tam kat olduğu görüldü.

Skleral flep, 1 adet 10/0 naylon sütür ile üçgenin tepe noktasından kapatıldı. Konjonktiva 8/0 vikril sütür ile kapatıldı. Yan girişten ön kamaraya dengeli tuz solüsyonu (Balanced salt solution; Alcon, Ft. Worth, TX) (BSS) enjekte edildi. Blebin olduğu ve kapatılan konjonktival alanda sızıntı olmadığı gözlemlendi.

Bu aşamadan sonra rastgele oluşturulan iki gruptan birine, konjonktiva altından skleral flep alanına 1.25 mg, bevacizumab (Avastin; Genentech, San Fransisco, CA) enjekte edildi. Kontrol grubuna ise aynı şekilde 0.1 ml BSS enjekte edildi. Konjonktiva üzerine % 0.3 tobramycin pomad (Tobrex; Alcon, USA) sürülüp blefarosta çıkarılarak ameliyata son verildi.

Ameliyat günü tüm tavşanların, genel anestezi verilmeden önce, %0.5 proparacaine damla (Alcaine; Alcon, USA) ile topikal anestezi altında başlangıç göz içi basınç (GİB) ölçümleri yapıldı. GİB ölçümleri için bir aplanasyon tonometrisi kullanıldı (Tonopen XL; Medtronic Solan. Jacksonville. FL).

Her tavşanın GİB ölçümü yapılmadan önce cihazın kalibrasyonu yapıldı. Daha sonra yapılan üç ölçümün ortalaması alınarak başlangıç GİB değeri olarak kaydedildi. Ameliyattan sonra tüm hayvanlar, grupları bilmeyen bir araştırmacı tarafından postoperatif 1., 3., 5., 10., 15 ve 30. günlerde muayene edilerek 1 ay boyunca takip edildi.

Yapılan muayenelerin hepsinde ameliyatlı gözlerin GİB değerleri, yapılan üç ölçümün ortalaması alınarak kaydedildi.

Tablo 1: Gruplara ve zamana göre vaskülarizasyon ve bleb düzeyleri.

Zaman	Kontrol Grubu (n=9)		Bevacizumab Grubu (n=10)		p ^a	
	Vaskül.	Bleb	Vaskül.	Bleb	Vaskül.	Bleb
Post-op 1. gün	2 (1-2)	2 (1.5-2)	1 (1-2)	2 (1.75-2)	0.604	0.908
Post-op 3. gün	2 (1-2)	2 (1-2)	1 (1-2)	2 (1.75-2)	0.356	0.265
Post-op 5. gün	2 (2-2.5)	1 (1-1.5)	0 (0-1)	2 (1-2)	<0.001	0.079
Post-op 10. gün	2 (2-3)	1 (0-1)	0 (0-1)	1.5 (1-2)	<0.001	0.022
Post-op 15. gün	2 (1.5-2)	0 (0-0.5)	0.5 (0-1)	1 (0.75-1.25)	<0.001	0.012
Post-op 30. gün	1 (1-2)	0 (0-0)	1 (1-1)	0 (0-1)	0.156	0.165

a "p<0.05" için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tanımlayıcı istatistikler için ortanca (25-75) yüzdeler olarak kullanıldı.

Denekler ışık mikroskobu altında muayene edilerek, bleb vaskülaritesi daha önceki çalışmalarda kullanılan skalaya göre 0'dan 3'e kadar derecelendirilip kaydedildi.¹⁶

0; Avasküler,

1; Normal vaskülarite,

2; Hiperemik,

3; Çok hiperemik olarak kaydedildi.

Bleb formasyonu değerlendirmesi de ışık mikroskobu kullanılarak yapıldı.

0; Düz,

1; Sığ,

2; Yüksek forme bleb, olarak derecelendirilen bir skala kullanıldı.¹⁷

Cerrahisi komplikasyonsuz olarak tamamlanmış, postoperatif 1. gün belirgin bir filtrasyon blebi olan ve göz içi basıncı en az 2 mmHg düşmüş olanlarda cerrahi başarılı olarak kabul edildi. Sadece bu tavşanlar çalışmaya dahil edildi. Otuz günün sonunda denekler yüksek doz fenobarbital (120mg/kg) verilerek ötenazi uygulandı. Hayvanların ameliyatl gözlerine enükleasyon uygulandı ve gözler %4'lük formaldehid içinde fikse edildi. Daha sonra operasyon yapılan trabekülektomi bölgesi diseke edilip, dehidrate edilerek, parafin içine yerleştirildi. Trabekülektomi bölgesinden geçecek şekilde ardışık 5 µm'lik kesitler alındı. Genel histolojik gözlem ve hücre yapısını incelemek için hematoksilin eozin (HE) ile boyandı. Preparatlardaki enflamasyon ve fibrozis durumu grupları bilmeyen bir patolog tarafından yapıldı. Enflamasyon değerlendirmesi daha önceki çalışmalarda kullanılan histolojik derecelendirme skalası esas alınarak yapıldı. Hiç müdahale edilmemiş bir gözden alınan kesit, enflamasyon ve fibrozis skorlamasında 0 (sıfır) kabul edilerek değerlendirmeler buna göre yapıldı.

0; enflamasyon/fibrozis yok,

1; Hafif şiddette enflamasyon/fibrozis,

2; Orta şiddette enflamasyon/fibrozis,

3; Şiddetli enflamasyon/fibrozis olarak not edildi.¹⁸

İstatistiksel incelemeler için verilerin analizi SPSS for Windows 11.5 paket programında yapıldı. GİB ölçümlerinin normale yakın dağılıp dağılmadığı Shapiro Wilk testi ile araştırıldı.

Tanımlayıcı istatistikler GİB, vaskülarite, bleb ve histopatolojik inceleme için ortanca (25-75.) yüzdeler olarak gösterildi.

İki grup arasında GİB ortalamaları, vaskülarizasyon ve bleb düzeyleri arasında farkın anlamlı olup olmadığı ise Mann Whitney U Testi ile incelendi. Gruplar arasında enflamasyon ve fibrozis şiddeti yönünden farkın önemliliği için Mann Whitney U testi kullanıldı. "p<0.05" değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 20 tavşanın 19'u 30 günlük takibi tamamladı. Bir tavşana cerrahi esnasında, skleral flep hazırlarken koroid hemorajisi gelişmesi üzerine ameliyata son verilerek çalışma dışı bırakıldı.

Ameliyat öncesi ve sonrası yapılan muayenelerde kaydedilen bleb vaskülaritesi, bleb oluşumu ve GİB değerleri ile enükleasyon sonrası yapılan histopatolojik incelemeler sonucunda elde edilen bulgular istatistiksel olarak değerlendirildi.

Klinik Değerlendirme: Bleb düzeylerinde zamana göre anlamlı değişimin olup olmadığı incelendiğinde, kontrol grubundaki bleblerden 2 tanesi 15. günde sığ olarak izlendi, diğer blebler ise kapanmıştı. 30'uncu günde ise kontrol grubundaki sadece bir bleb sığ olarak değerlendirildi.

Tablo 2: Gruplara ve zamana göre GİB düzeyleri.

Zaman	Kontrol Grubu (n=9)	Bevacizumab Grubu (n=10)	p ^a
Pre-op	19.6 (18-23.3)	21.15 (18.4-22.7)	0.838
Post-op 1. gün	10 (8.8-12)	10 (9.05-11)	0.710
Post-op 3. gün	12 (10.5-13.5)	11 (9.8-11.2)	0.067
Post-op 5. gün	14.3 (11.6-17.4)	12.5 (11-13.2)	0.085
Post-op 10. gün	17 (13.3-17.8)	13.6 (12.9-14.7)	0.078
Post-op 15. gün	18.3 (16.8-20.1)	14.5 (12.9-17.07)	0.003
Post-op 30. gün	19 (17-21.5)	15.5 (13-21.2)	0.093

a "p<0.05" için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tanımlayıcı istatistikler için ortanca (25-75) yüzdeler olarak kullanıldı.

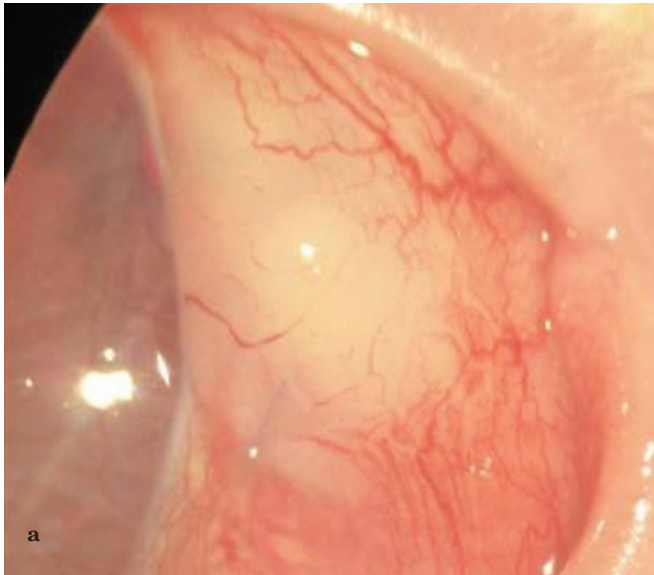
Tablo 3: Gruplara göre histopatolojik değerlendirme.

Değişkenler	Kontrol Grubu	Bevacizumab Grubu	p ^a
İnflamasyon Şiddeti	1 (1-2)	0 (0-1)	0,003
Fibrozis Şiddeti	2 (2-3)	1 (0-1)	<0.001

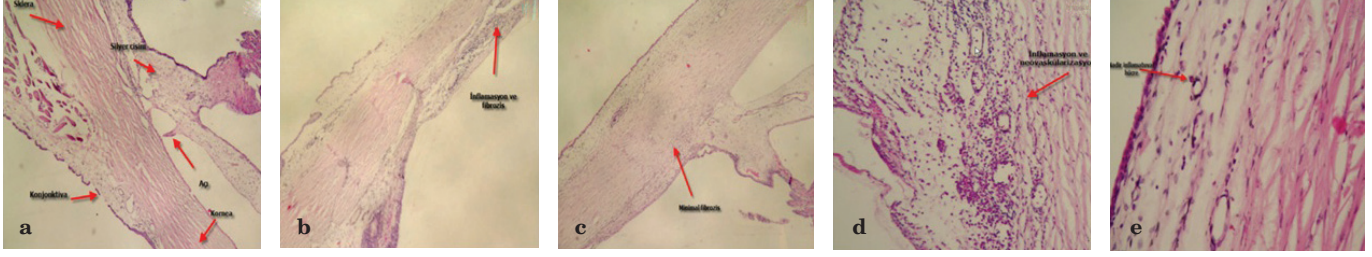
a "p<0.05" için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tanımlayıcı istatistikler için ortanca (25-75) yüzdeler olarak kullanıldı.

Bevacizumab grubunda, 15. günde 2 bleb forme, 6 bleb sığ, 2 bleb kapanmış olarak saptandı. 30'uncu günde ise bevacizumab grubundaki 4 bleb sığ olarak değerlendirildi, diğer bleblerin hepsi kapanmıştı. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, bevacizumab grubunda 10. ve 15. günlerdeki bleb düzeyi anlamlı derecede daha yüksek bulundu (p<0.05). Otuzuncu günde gruplar arasındaki bleb düzeyi farkı istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0.05). Vaskülarizasyon düzeylerini incelediğimizde bevacizumab grubunda 5, 10. ve 15. günlerdeki vaskülarizasyon şiddeti, kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu (p<0.05) (Resim 1).

Otuzuncu günde vaskülarizasyon derecelendirmesinde ise gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı (p>0.05). Gruplara ait vaskülarizasyon ve bleb düzeyleri tablo 1'de özetlenmiştir. Gruplar arasında GİB ortalamaları yönünden farkın önemliliği incelendi. İstatistiksel olarak sadece 15. gün muayenesinde bevacizumab grubundaki ortalama GİB değerleri, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu (p<0.05). Diğer muayenelerde de bevacizumab grubundaki GİB değerleri düşük olmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0.05). Gruplara ait GİB ortalama değerleri tablo 2'de özetlenmiştir.



Resim 1a, b: Bevacizumab grubuna ait deneklerden birinde postoperatif 15. günde avasküler forme bleb görüntüsü (a). Kontrol grubuna ait deneklerden birinde postoperatif 15. günde vaskülerize sığ bleb görüntüsü (b).



Resim 2a-e: Deneklerin hematoksilen eozin boyası kullanılarak yapılan histopatolojik görüntülerine ait özellikler. Normal bir açının görüntüsü (x100), (a). Kontrol grubuna ait bir preparat. Yoğun inflamasyon ve fibrozis (x100), (b). Bevacizumab grubunda minimal fibrozis ve inflamasyon (X100), (c). Kontrol grubuna ait yoğun inflamasyon (X200), (d). Bevacizumab grubunda nadir inflamatuvar hücre (X400), (e).

Histopatolojik Değerlendirme: Gruplar arasında enflamasyon ve fibrozis şiddeti yönünden farkın önemliliği değerlendirildi. Kontrol grubunda mikroskopik düzeyde önemli derecede postoperatif fibrozis ve enflamasyon görülürken bevacizumab kullanılan grupta ise fibrozis ve enflamasyon minimal olarak izlendi (Resim 2). Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$, Tablo 3).

TARTIŞMA

Glokom filtrasyon cerrahisinin başarısı postoperatif yara iyileşmesi derecesine ve skar dokusu gelişimi miktarına bağlıdır. Günümüzde glokom cerrahisinde kullanılan MMC ve 5-FU gibi ajanların ciddi yan etkilerinin olması, yan etkileri az ve antifibrotik etkisi yeterli olan yeni ajanların araştırılması ihtiyacını doğurmuştur. VEBF yara iyileşme sürecinde anjiyogenezis, fibroblast ile inflamatuvar hücre migrasyonu ve proliferasyonu için anahtar düzenleyici olmasından dolayı önemlidir.^{11,19,20} Cerrahi travma ile oluşan uyarı sonucunda erken dönemde vasküler permeabilite artışı ile yara yerine göç eden inflamatuvar hücreler ve fibroblastlar skar oluşumunda önemlidir. Ayrıca çalışmalarda VEBF seviyesinin trabekülektomi sonrası ve glokomlu gözlerde arttığı gösterilmiştir.^{21,22} Ayrıca yüksek konsantrasyondaki anti-VEBF antikörlerin invitro insan tenon fibroblastı üzerine hücre ölümüne neden olarak direkt inhibitör etkisi olduğu bildirilmiştir.²³ Bütün bu nedenlerden dolayı anti-VEBF ajanlar yara iyileşmesi ve anjiyogenezisi inhibe etmesi ile yara iyileşme yanıtının ve skar dokusu gelişiminin azalmasına yol açabilir. Çalışmamızda GİB değerleri bevacizumab kullandığımız grupta daha düşük seyretmesine rağmen, sadece 15. gün muayenesinde bevacizumab grubundaki GİB değerleri, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olarak bulundu. Diğer günlerdeki ölçümlerde, kontrol grubu ile arasındaki fark anlamlı değildi. Bu modelde preoperatif GİB zaten normal değerlerde olduğundan ve denek sayısının azlığından ötürü fark anlamlı çıkmamış olabilir. GİB değerleri arasındaki fark sadece 15. günde istatistiksel olarak anlamlıydı.

Ameliyattan sonra erken dönemde ve çalışma sonunda 30. günde iki grup arasındaki GİB değerleri istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu durum; ameliyat sonrasında her iki grubun ameliyatlarının başarılı olduğunu, ancak BSS uygulanan grupta 15. günde oluşturulan fistülün kapanmaya başladığını, 30. gün sonunda ise her iki grupta da fistülün benzer oranda kapandığını düşündürmüştür. 30 gün sonunda neredeyse ameliyatların tamamının başarısız olmasını, insanlarla kıyaslandığında tavşanlardaki yara iyileşme yanıtının daha agresif oluşundan kaynaklanmış olabileceği değerlendirildi.^{24,25} Ayrıca bevacizumab'ın intravitreal yarı 5-6 gün olup etkinliği ortalama 4 hafta sürmektedir.²⁶ Bevacizumab yarı ömrünün kısa olması da tedavi grubunda 30. günde fistüllerin kapanmasını açıklayabilir. Memarzadeh ve ark.,¹⁸ tavşanlarda yaptıkları trabekülektomi ameliyatında, bevacizumab ile 5-FU ve BSS enjeksiyonlarını karşılatırmışlar ve 30 günlük izlemde gruplar arasında GİB açısından fark olmadığını bildirmişlerdir. Li ve ark.,²² yaptıkları deneysel çalışmada bevacizumab ve kontrol grubunda 13. güne kadar GİB'de preoperatif döneme göre anlamlı düşüş olduğunu, 13. günden sonra GİB'in normal seviyelere geldiğini fakat bütün muayenelerde iki grup arasında anlamlı fark olmadığını bildirmişlerdir. Bleb oluşumu ve ömrü açısından grupları karşılaştırdığımızda yapılan kontrollerin hepsinde bevacizumab grubundaki blebler daha iyi bulunmasına karşılık iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Bu çalışmada kullanılan tavşanlarda glokom olmaması ve ameliyat öncesi normal GİB'e sahip olmalarına ek olarak, yaklaşık 15. günde, GİB değerlerinin her iki grupta da ameliyat öncesi seviyesine çok yaklaşması nedeni ile oluşturulan fistülden hüme aköz geçişinin az olmasının bleblerin erken kapanmasında rolü olabileceği değerlendirildi. Memarzadeh ve ark.,¹⁸ bleb ömrünün bevacizumab uygulanan tavşanlarda ortalama 16 gün, 5-FU ve BSS grubunda ise ortalama 7 gün bulmuşlardır. Bevacizumab grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde hem bleb ömrünün hem de bleb morfolojisinin diğer iki gruptan daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada bizimkinden farklı olarak tavşanlara 7 kez enjeksiyon uygulanmıştır. Bizim çalışmamızda da istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bevacizumab grubunda 15. günde kontrol grubuna göre daha forme ve daha fazla kapanmamış bleb mevcuttu.

Li ve ark.,²² bevacizumabın bleb morfolojisinde istatistiksel olarak anlamlı derecede iyileşme sağladığını ve bleb ömrünü uzattığını bildirmişlerdir. Bleb vaskülarizasyonu açısından grupları karşılaştırdığımızda, bevacizumab grubunda 5., 10. ve 15. günlerdeki vaskülarizasyon derecelendirmesi, kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü. Otuzuncu gündeki vaskülarizasyon derecelendirmesinde bizim çalışmamızda istatistiksel olarak fark bulunmadı. Biz bunu tavşanlardaki yara iyileşme yanıtının agresif olmasına ve bevacizumab enjeksiyonunun tekrarlanmasının gerekebileceğine bağladık. Literatürdeki diğer deneysel çalışmalarda da bevacizumabın blebteki vaskülarizasyonu anlamlı derecede azalttığı bildirilmiştir.^{18,22,27} İnflamasyon ve fibrozis gelişimi açısından grupları karşılaştırdığımızda, bevacizumab grubunda enflamasyon ve fibrozisi anlamlı derecede düşük bulduk. Ayrıca preparatlarda BSS grubunda neovaskülarizasyonun da daha fazla olduğunu gözledik. Li ve ark.,²² immünohistokimyasal çalışmada bevacizumabın CD-31 pozitif kan damarlarında anlamlı derecede azalma sağladığını bildirmişlerdir. Ayrıca trikrom boyama ile yaptıkları mikroskopik incelemede, total kollajen miktarında bevacizumab grubunda kontrol grubuna göre 30. günde %13 azalma olduğunu bulmuşlardır. Memarzadeh ve ark.,¹⁸ ile How ve ark.,²⁷ yaptıkları immünohistokimyasal ve mikroskopik incelemede bevacizumab grubundaki kollajen miktarının 5-FU ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha az olduğunu bildirmişlerdir. How ve ark.,²⁷ yaptıkları deneysel çalışmada, bevacizumabı 5-FU ile kombine ettikleri için dikkat çekicidir. Bu çalışmada kombine grupta, sadece 5-FU ve sadece bevacizumab kullandıkları gruplara göre bleb ömrü ve skar inhibisyonunun anlamlı derecede daha az olduğunu bildirmişlerdir.

Bu bulgular ışığında postoperatif subkonjonktival bevacizumab enjeksiyonunun, tavşan modelindeki trabekülektomide, cerrahi başarıyı artırdığı, enflamasyon ve skar dokusu gelişimini sınırladığı değerlendirildi. Ancak uzun dönem sonuçları açısından bevacizumabın yetersiz olabileceğini, enjeksiyonların tekrarlanması gerekebileceğini düşünüyoruz. Trabekülektomi tedavisinde anti-VEBF ajanların farklı uygulama yollarının denendiği (topikal, sunkonjonktival, ön kamara) ve bu uygulamalarda ilaçların farmakokinetik özellikleri ile yan etkilerinin çalışıldığı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR/REFERENCES

- Allingham RR, Damji K, Freedman S, et al. Shields' Textbook of glaucoma. Chapter 10, 5th edition, Philadelphia, Lippincott Williams&Wilkins, 2005;191-6.
- Cantor L, Berlin MS, Hodapp EA, et al. Introduction and definitions, Chapter 1, Glaucoma, Section 10, Basic and Clinical Science Course, Denny M, Taylor F, eds, San Francisco, American Academy of Ophthalmology. 1999-2000: 7.
- Skuta GL, Parrish RK. Wound healing in glaucoma filtering surgery. *Surv Ophthalmol.* 1987;32:149-70.
- Atreides SP, Skuta GL, Reynolds AC. Wound healing modulation in glaucoma filtering surgery. *Int Ophthalmol Clin.* 2004;44:61-106
- Costa VP, Spaeth GL, Eiferman RA, et al. Wound healing modulation in glaucoma filtration surgery. *Ophthalmic Surg.* 1993;24:152-70.
- Yamamoto T, Varani J, Soong HK, et al. Effects of 5-fluorouracil and mitomycin C on cultured rabbit subconjunctival fibroblasts. *Ophthalmology.* 1990;97:1202-10.
- Kitazawa Y, Kawase K, Matsushita H, et al. Trabeculectomy with mitomycin. A comparative study with fluorouracil. *Arch Ophthalmol.* 1991;109:1693-8.
- Crowston JG, Akbar AN, Constable PH, et al. Antimetabolite induced apoptosis in Tenon's capsule fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998;39:449-54.
- Seah SK, Prata JA Jr, Minckler DS, et al. Hypotony following trabeculectomy. *J Glaucoma.* 1995;4:73.
- Parrish R, Minckler D. "Late endophthalmitis": filtering surgery time bomb? *Ophthalmology.* 1996;103:1167-8.
- Asahara T, Bauters C, Zheng LP, et al. Synergistic effect of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor on angiogenesis in vivo. *Circulation.* 1995;92:365-71.
- Li J, Zang YP, Kirsner RS. Angiogenesis in wound repair: angiogenic growth factors and the extracellular matrix. *Microsc Res Tech.* 2003;60:107.
- Marshall J. The role of bevacizumab as first-line therapy for colon cancer. *Semin Oncol.* 2005;32:43-7.
- Fung AE, Rosenfeld PJ, Reichel E. The international intravitreal bevacizumab safety survey: using the internet to assess drug safety worldwide. *Br J Ophthalmol.* 2006;90:1344-9.
- Feiner L, Barr EE, Shui YB, et al. Safety of intravitreal injection of bevacizumab in rabbit eyes. *Retina.* 2006;26:882-8.
- Mead AL, Wong TTL, Cordeiro F, et al. Evaluation of anti-TGF-β2 antibody as a new postoperative anti-scarring agent in glaucoma surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44:3394-401.
- Doyle JW, Sherwood MB, Khaw PT, et al. Intraoperative 5-Fluorouracil for filtration surgery in the rabbit. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1993;34:3313-9.
- Memarzadeh F, Varma R, Lin LT, et al. Postoperative use of bevacizumab as an antifibrotic agent in glaucoma filtration surgery in the rabbit. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50:3233-7.
- Hoeben A, Landuyt B, Highley MS, et al. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. *Pharmacol Rev.* 2004;56:549-80.
- Pollina EA, Legesse-Miller A, Haley EM, et al. Regulating the angiogenic balance in tissues. *Cell Cycle.* 2008;7:2056-70.
- Hu DN, Ritch R, Liebmann J, et al. Vascular endothelial growth factor is increased in aqueous humor of glaucomatous eyes. *J Glaucoma.* 2002;11:406-10.
- Li Z, Van Bergen T, Van de Veire S et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor reduces scar formation after glaucoma filtration surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50:5217-25.
- O'Neill EC, Qin Q, Van Bergen et al. Antifibrotic activity of bevacizumab on human Tenon's fibroblasts in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51:6524-32.
- Miller MH, Grierson I, Unger WI, et al. Wound healing in an animal model of glaucoma fistulizing surgery in the rabbit. *Ophthalmic Surg.* 1989;20:350-7.
- Gresses MG, Parrish RK II, Folber R. 5-Fluorouracil and glaucoma filtering surgery: an animal model. *Ophthalmology.* 1984;91:378-83.
- Kook D, Wolf A, Kreutzer T, et al. Long-term effect of intravitreal bevacizumab in patients with chronic diffuse diabetic macular edema. *Retina.* 2008;28:1053-60.
- How A, Chua JL, Charlton A, et al. Combined treatment with bevacizumab and 5-fluorouracil attenuates the postoperative scarring response after experimental glaucoma filtration surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51:928-32.