

Oküler Anjiyogenezde Vasküler Endotelial Büyüme Faktörünün Rolü

THE ROLE OF VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR IN OCULAR ANGIOGENESIS

Dr. Burak TURGUT,^a Dr. Mete GÜLER,^a Dr. Tamer DEMİR,^a
Dr. Peykan TÜRKÇÜOĞLU,^a Dr. Ülkü ÇELİKER^a

^aGöz Hastalıkları AD, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, ELAZIĞ

Özet

Anjiyogenez varolan damarlardan yeni kapillerlerin oluşumu olarak tanımlanır ve fizyolojik olaylarda çok önemli rolü vardır. Fizyolojik koşullarda anjiyogenez sadece kadın reproduktif sisteminde, doku tamiri-yara iyileşmesi sırasında ve embriyo gelişiminde indüklenir. Anjiyogenezle birliktelik gösteren göz hastalıklarında anjiyogenik ve antiangiogenik faktörler arasındaki denge bozulduğundan anjiyogenez kontrol edilemez duruma gelir. Anjiyogenez Diyabetik Retinopati, Prematüre Retinopatisi ve Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu ve birçok göz hastalığının görmeyi tehdit eden potansiyel bir komplikasyonudur. Yara iyileşmesi, tümör gelişimi ve diğer patolojik durumlardaki önemi nedeniyle, onkoloji, romatoloji, kardiyoloji ve oftalmoloji alanlarında anjiyogenez üzerinde yoğun olarak çalışılmaktadır. Vasküler endotel hücreleri için çok spesifik bir mitojen olan Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) endotel hücrelerinde proliferasyon yapar, hücre migrasyonunu kolaylaştırır ve apoptozu inhibe eder. İn vivo olarak VEGF kan damarlarındaki geçirgenliği artırmasının yanında anjiyogenezi indüklediğinden anjiyogenezin regülasyonunda santral rol oynar. VEGF'in anjiyogenik aktivitesini antagonize ederek anjiyogenezi engelleyebilecek birkaç ajan bulunmakta ve çeşitli çalışmalara konu olmaktadır. Oküler anjiyogenezle birliktelik gösteren, görme kaybı veya körlük yapan durumların önlenmesi ve tedavisi için VEGF'in anjiyogenik ve damar geçirgenliğini artırıcı aktivitesinin regülasyonu ile ilgili anlamlı daha birçok klinik ve deneysel çalışmayla iyice anlaşılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Vasküler endotelial büyüme faktörü; patolojik neovaskülarizasyon; fizyolojik neovaskülarizasyon

Abstract

Angiogenesis is defined as the formation of new capillaries from a pre-existing vasculature. This process is very important in physiologic conditions. It is only induced during the female reproductive cycle, tissue repair and wound healing. In the eye diseases associated with angiogenesis, this delicate balance is disturbed. Angiogenesis is a potentially visually threatening complication of eye diseases such as diabetic retinopathy (DR) and age-related macular degeneration (AMD), retinopathy of prematurity (ROP), and a large number of other eye conditions. Because of its importance in wound healing, tumour growth, and other pathological situations, angiogenesis has been extensively studied in the fields of oncology, rheumatology, cardiology, and ophthalmology. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is a highly specific mitogen for vascular endothelial cells and it induces endothelial cell proliferation, promotes cell migration, and inhibits apoptosis. VEGF that induces angiogenesis as well as permeabilization of blood vessels in vivo, plays a central role in the regulation of angiogenesis. An antiangiogenic therapy is aimed at inhibiting the growth of new blood vessels and should prevent onset or progression of neovascularization. Several antineovascular agents antagonize the function of VEGF, by blocking its proangiogenic activity. The understanding of VEGF's effects on angiogenesis and vascular permeability and VEGF modulation will give us new insights about the treatment of eye diseases associated angiogenesis. New studies are needed for preventing or treating conditions that will lead to significant visual loss or blindness, driven by unregulated angiogenesis.

Key Words: Vascular endothelial growth factors; neovascularization, pathologic; neovascularization, physiologic

Türkiye Klinikleri J Ophthalmol 2007, 16:38-46

Gözün anatomik yapısında çok vaskülarize ve tamamen avasküler dokular birarada bulunmaktadır. Oküler vasküler büyüme

normalde embriyojenik gelişim içinde ortaya çıkmakta ve erişkin hayatta olmamaktadır.¹ Neovaskülarizasyon ile birlikte olan göz hastalıklarında bu denge bozulmaktadır.² Anjiyogenez sık körlük yapan diyabetik retinopati, prematüre retinopatisi ve yaşa bağlı dejenerasyon gibi hastalıklarda kritik rol oynar.³ Yara iyileşmesi, tümör gelişimi ve diğer patolojik durumlardaki öneminden dolayı anjiyogenez onkoloji, romatoloji, kardiyoloji ve oftalmoloji alanlarında çalışmalarda yoğunluk

Geliş Tarihi/Received: 29.08.2006

Kabul Tarihi/Accepted: 25.01.2007

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr.Burak TURGUT
Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi
Göz Hastalıkları AD, 23119, ELAZIĞ
drburakturgut@yahoo.com

Copyright © 2007 by Türkiye Klinikleri

kazanmaktadır.⁴ Neovaskülarizasyon fizyolojik olarak embriyogenez, menstrüel siklus ve doku tamiri, yara iyileşmesi sırasında, kadın reproduktif sisteminde, patolojik anjiyogenez ise başta tümörler olmak üzere kollajen doku hastalıkları, retinopatiler ve psöriasis gibi hastalıklarda görülmektedir.⁵ Hem endotel hücreleri hem de perisitlerle ilgili sıkı kontrollü bir olay olan anjiyogenezde tümör hücrelerinden; monosit, fibroblast gibi ortamdaki diğer hücrelerden kollajen matriksin yıkımı sonrasında açığa çıkabilen birçok ajan rol alır.⁶ Anjiyogenezin göz hastalıkları ve embriyonel retinal vaskülarizasyonda önemi uzun zamandır bilinmektedir. Bu çalışmada oküler anjiyogenezin anlaşılmasının, yaygın göz hastalıklarının tedavisi için yeni seçeneklerinin araştırılmasına öncülük edebileceği ortaya konulmaya çalışılmıştır. Anjiyogenez oluşurken birçok olay basamaklar şeklinde birbirini izleyerek ortaya çıkmaktadır. İlk olarak anjiyogenezise neden olan bir uyarının oluşması (hipoksi, iske mi), daha sonra bu etkenden dolayı anjiyojenik bir faktörün salınması ve ilgili faktör ya da faktörlerin de bazal membranı parçalaması (matriks metalloproteinaz enzimi aracılığıyla) sözkonusudur. Bunu sırasıyla endotel hücrelerinin aktivasyonu, adezyonu, migrasyonu, proliferasyonu ve tüp oluşumu takip eder, sonuçta yeni kan damarlarının var olandan çoğalması gerçekleşir.⁷ Yeni tüp yapıda bazal membranın oluşma-

sı ve buna perisitlerin de katılmasıyla fonksiyonel kapiller oluşum tamamlanmaktadır.⁸ Anjiyogenezisi stimüle eden birçok hormon ve/veya büyüme faktörleri mevcuttur.⁹ Bunlardan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ile fibroblast büyüme faktörü (FGF) sinerjistik etkiye sahiptirler.¹⁰ Endotel hücreleri üzerinde güçlü mitojenik etkisi olan VEGF gerek in vivo gerekse in vitro olarak hipoksik ya da iskemik koşullardaki hücrelerden salınarak anjiyogenezisi stimüle edebilmektedir. Anjiyogenezisi stimüle ve/veya inhibe eden, bir kısmı endojen ve sinerjistik olan birçok faktör ya da hormon tesbit edilmiştir (Tablo 1).⁷ Bu endojen anjiyojenik aktivatörler ve inhibitörler arasındaki hassas denge ile bir organizmanın herhangi bir noktasındaki anjiyogenezis çok ince bir şekilde kontrol edilmektedir.

VEGF'in Yapısı ve Biyolojik Aktiviteleri

VEGF homodimerik, heparin-bağlayan glikoprotein yapısında bir molekül olup çeşitli alt grupları tanımlanmıştır. VEGF A, B, C, D, E, ya da aminoasit sayılarına göre VEGF121, VEGF165, VEGF189, VEGF206 ve VEGF145 gibi izoformları bulunmaktadır.¹¹ VEGF biyolojik aktivitesini temel olarak tirozin kinaz yapılı, endotel hücreleri üzerindeki VEGF-R1 (flt-1) ve VEGF-R2 (flk-1/KDR) ile lenf damarları üzerindeki VEGF-

Tablo 1. Anjiyogenik ve antianjiyogenik faktörler.

Anjiyogenik Faktörler	Anjiyogenezi Önleyen Faktörler
VEGF (Vasküler endotelial büyüme faktör)	Trombospondin- 1 ve 2
PGF (Plasental büyüme faktör)	Anjiostatin, İnsan makrofaj metalloelastaz
FGF (Asidik, bazik fibroblast büyüme faktör)	Endostatin
FGF-3 (Fibroblast büyüme faktör-3)	Vazostatin
FGF-4 (Fibroblast büyüme faktör-4)	Vasküler endotelial büyüme faktörü inhibitörü
TGF- α (Transforme edici büyüme faktör- α)	Trombosit faktör-4 fragmanı, Anjiostatin
TGF- β (Transforme edici büyüme faktör- β)	Prolaktin derivesi, Anjiostatin
EGF (Epidermal büyüme faktör)	Restin, Angiopoietin-2
HGF (Hepatosit büyüme faktör)	Proliferinle ilgili protein, Interlökin -12
TNF- α (Tümör nekroz faktör- α)	İnterferon- α - β , Platelet Faktör -4 fragmanı
PDGF (Trombosit kaynaklı büyüme faktör)	Anjiopoietin-2, İnterferon- α - β
GCSF (Granülosit koloni uyarıcı faktör)	Antitrombin-3 fragmanı
IL- 8 (İnterlökin-8)	İnterferon ile indüklenebilen protein- 10
Anjiogenin	Vazostatin
Doku faktörü	TIMP-1 ve -2
IL-6 ve IL-8	VEGF
Angiopoietin-1	Anti-thrombin III fragmanı

R3 (flt-4) adlı üç reseptörü ile gerçekleştirir.¹² VEGF reseptörlerinin aktivasyonu; fosfolipaz-C, fosfoinositol-3 kinaz ve ras/GTPaz aktivatör proteinleri gibi bir dizi hücre içi sinyal iletim proteinlerini fosforile ederek endotel hücrelerinin proliferasyon, migrasyon ve diferansiyasyonunu sağlar.¹³ Anjiyogenezin VEGF-bağımlı bir mediyatörü olan nitrik oksit (NO), VEGF'in NO sentaz enzimi üzerindeki uyarıcı etkisi sonucu oluşarak endotel hücre migrasyonunda rol alır.¹⁴ Başta RAS, SRC ve HER-2 onkogenleri olmak üzere VEGF düzeyi; p53 gen mutasyonu, IL-1, IL-6, IL-10, IL-13, Fibroblast büyüme faktörü-4 (FGF-4), platelet-büyüme kökenli faktör (PDGF), Transforme edici büyüme faktör- β (TGF- β), İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1), Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α) ve NO gibi birçok endojen ajan ile düzenlenmektedir.¹⁵ Düşük glikoz seviyesi, oksidatif stres ve özellikle hipoksik ortamda düzeyi hızla artan hipoksinin indüklediği transkripsiyon faktör-1 (HIF-1) de VEGF salınımlarında etkili rol oynamaktadır.¹⁶ Ayrıca VEGF damarlarda endotel hücreleri arasında fenestrasyon, veziküler organel ve transselüler gap oluşumuyla vasküler permeabiliteyi arttırmaktadır.¹⁷ Endotel hücreleri için göç ettirici özelliğinin yanı sıra VEGF; hücre dışı matriks yıkımından sorumlu olan matriks metalloproteinazlar ile ürokinaz ve doku-tipi plazminojen aktivatörlerinin salınımını da uyararak invazyon ve metastazı da kolaylaştırmaktadır.¹⁸

VEGF arterler, venler ve lenfatiklerdeki endotel hücreleri için güçlü bir mitojen olsa da diğer hücre tipleri için mitojenik aktiviteden yoksundur.¹⁹ VEGF, temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ile arasındaki güçlü sinerjistik etki ile in vitro modellerde mikrovasküler endotel hücrelerinin kollajen jellere invazyonunu sağlayarak anjiyogenez aktive etmekte ve kapiller benzer yapıların oluşumunu uyarmakta,²⁰ kollajen jel içine gömülmüş rat aortik halkalarından filizlenmeyi indüklemektedir.²¹ Anjiyogenez olayında VEGF'in ana fonksiyonlarından biri olan plazma protein sızıntısının induksiyonu ile endotel ve tümör hücrelerinin büyümesi için gerekli ekstrasellüler bir madde olan fibrin jel oluşumu sağlanmaktadır.²² Endotel hücreleri üzerine VEGF'in heksos trans-

portunu uyarıcı etkisinin ise endotel hücreleri çoğalmasında veya enflamasyon sırasındaki artmış enerji taleplerinin karşılanması için olabileceği sanılmaktadır.²³ VEGF'in endotel hücrelerinde vasküler sellüler adezyon molekülü-1 (VCAM-1) ve intraselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1)'in ekspresyonunu indükleyici etkisi aktif doğal killer hücrelerinin endotel hücrelerine adezyonu ile sonuçlanmaktadır.²⁴ VEGF'in monosit kemotaksisini kolaylaştırabildiği²⁵ ve koloni uyarıcı faktör ile uyarılmış olan granulosit-makrofaj kök hücrelerinin doğal alt kümeler ile koloni oluşumunu indüklediği de gösterilmiştir.²⁶

Oküler Anjiyogenez

Vasküler büyüme genelde enflamatuvar hücreler, miyofibroblastlar ve arka segmentte glial veya aktif pigment epitel hücrelerini de içeren yara iyileşmesi cevabının bir parçası olduğundan VEGF'in oküler anjiyogenezin bütün formlarında etkili olduğu gösterilmiştir.²⁷ VEGF gözde pigment epitel hücreleri, perisitler, endotel hücreleri, glial hücreler, müller hücreleri ve ganglion hücreleri tarafından oluşturulur. Hipoksik şartlarda VEGF'in mRNA'sı artmış olarak bulunur. Bundan sonra endotel hücrelerinde bir dizi enzimatik olaylar oluşur. Diaçilgliserol ve endotel hücre çoğalmasında ve vasküler permeabiliteden primer sorumlu enzim olan protein kinaz c (pkc) beta artar. İskemik fare ve primat ven tıkanıklığı modelinde VEGF inhibisyonu için vitreici reseptör inhibitörleri, nötralizan antikorlar (maymun ven tıkanıklığı modeli) verilmiş, bunlar neovaskülarizasyonu %50 oranında engellemişlerdir. İskemi haricinde değişik sitokinler, büyüme faktörleri, süperoksit ve hidrojen peroksit ile oluşan reaktif oksijen ürünleri de VEGF artışında rol oynayabilir.

VEGF ve Kornea

Ekzojen VEGF düşük enflamatuvar cevap ile veya hiç enflamatuvar cevap olmadan deney hayvanlarında korneadaki anjiyogenez güçlü bir şekilde uyarmaktadır.²⁸ Kontakt lens kullananlarda, kornea travması ve transplantasyonu sonrası veya enflamatuvar durumlar gibi patolojik kornea neovaskülarizasyondaki bu faktörün rolü açık değildir. Son yıllarda VEGF'in tavşan kornealarının

saklandığı kültürde üretildiği ve iki haftalık atmosferik hipoksi sonrasında fare korneasında in vivo olarak artmış olduğu gösterilmiştir.²⁹ Normal avasküler korneadan kaynaklanan epitel hücreleri bu faktörü üretmekte ancak vasküler kornea veya konjonktivadaki epitel hücrelerinin ürettiğinden daha düşük seviyede kalmaktadır. Bu bilgiler korneal anjiyogenezde faktörün kısmen rolü olduğunu ileri sürmektedir.^{30,31}

VEGF ve Retinal İskemi

Klinik oftalmolojide bozulmuş kapiller veya venöz dolaşımın retinal neovaskülarizasyona yani proliferatif diyabetik retinopatiye öncülük edebildiği gerçektir. İskemik retinal doku muhtemelen hipoksi ile retinal hücreleri tetiklemekte ve bir anjiyogenetik faktörün salınmasına neden olmaktadır.³² Deneysel hayvanlardaki ve insanlardaki oksijen ölçümleri retinal oksijen kısmi basıncının (pO₂) iskemik durumda çok düşük olduğunu göstermektedir. Proliferatif retinopatilerin etkin bir tedavi yöntemi olan panretinal fotokoagülasyon, retinal pO₂ seviyelerini muhtemelen dış retinal oksijen tüketimindeki azalma ve koroidden artmış oksijen difüzyonu ile düzenlemektedir.³³ Şimdilik güçlü kanıtlar VEGF'in hipoksik retina tarafından yapılan major bir sitokin olduğunu ileri sürmektedir. Ven dal tıkanıklığı oluşturulmuş bir primat retinal iskemik modelinde iristeki endotelial proliferasyon, vasküler dilatasyon ve kaçığın, iskemik retinada VEGF mRNA'nın artışı ve aközde yükselmiş büyüme faktörü seviyeleri ile uyumluluk gösterdiği bildirilmiştir.³⁴ Bu gözlemlere VEGF için nötralizan antikör enjeksiyonu iristeki vasküler değişiklikleri engellemiştir ancak iris büyüme faktörünün retinal üretim üzerine etkisi olmamıştır.³⁵ Bu modelde scatter fotokoagülasyon retinal hipoksinin düzeltilmesine ve laserle tedavi edilen retinal alanlarda VEGF'nin seviyesinin azalmasına neden olmuştur.³⁶ Tavşan ve farelerdeki retinal iskemik modellerinde iskeminin indüklediği permabilite artışı ve anjiyogenezde VEGF'in anahtar rolü olduğu ileri sürülmektedir.³⁷ Ayrıca gangliyon hücrelerinde, in vivo iskemik retinada VEGF varlığı açığa çıkarılmıştır.³⁸ Bu bulgular hipoksiye cevap olarak retinal perisitler, endotel hücreleri ve gliyal hücrelerce VEGF üretildiğini gösteren in

vitro deneylerle uyumludur.³⁹ İn vivo iskemik retinada bu faktörün üretiminin indüklenmesi muhtemelen adenozin seviyelerindeki ve hipoksi ile VEGF mRNA'daki artışa bağlı olabilir. Bu hayvan çalışmalarının sonuçları maymunların vitreusuna enjekte edilen rekombinant VEGF'in iristeki vasküler değişiklikleri ve sonuçta neovaskülarizasyonu ve neovasküler glokomu indüklediğini gösteren geçmiş raporlarca desteklenmektedir. Vitreisine uygulanan VEGF insanlarda, vasküler kaçığı ve hiperplaziyi, maymunlarda mikroanevrizma oluşumunu ve tavşanlarda preretinal yeni damarların oluşumunu indüklemiştir. Kaydadeğer olarak, bu modellerdeki ekzojen VEGF uygulanması veya endojen VEGF düzeyinin artırılması vasküler permabilite üzerine her zaman belirgin erken etkiler oluşturmakta ama anjiyogenez için gerekli olmamaktadır.⁴⁰ Hastaların arka segmentlerinde klinisyenlerce görülmüş olan tipik preretinal neovaskülarizasyon, VEGF enjekte edilen tavşanlarda ve bazı maymunlarda sadece geç dönemde ortaya çıkmaktadır. Bu bulgular diğer faktörlerin, önemli ve gerçek retinal neovaskülarizasyonun oluşumu için gerekli olduğunu ileri sürmektedir.³⁸ VEGF ve reseptörlerinin varlığı hem RNA seviyesinde kültüre insan RPE ve gliyal hücrelerinde bulunmuş hem de immunohistokimyasal boyama ile farelerdeki deneysel otoimmün üveitte, insanlardaki üveit ve afakik/psödoafakik maküler ödemde, kan-retina bariyerinin yıkılması durumlarında artmış olarak saptanmıştır.⁴¹

Venöz Tıkanıklıklar ve Diyabetik Retinopatide VEGF'in Rolü

Hayvan modellerinde daha önce tanımlanan bulgulara dayanarak proliferatif diyabetik retinopati (PDR)'li ve Santral Retinal Ven Okluzyon (SRVO) lu hastaların retinalarında VEGF mRNA artışı ve faktörün belirgin immunohistokimyasal boyanması beklenir.³⁷ Yapılan çalışmalarda yoğun lazer cerrahisi sonrasında inaktif proliferatif hastalarla nonproliferatif diyabetik retinopati (NPDR)'li hastalar karşılaştırıldığında, aktif diyabetik retinopati veya iskemik SRVO'lu hastaların oküler sıvılarında anlamlı derecede yükselmiş VEGF seviyeleri ile karşılaşılmıştır. İnsülin benzeri büyüme faktörü dışında diğer anjiyogenez faktörle-

rinden hiçbiri insanlarda iskemiye bağlı oküler anjiyogenez ile güçlü bir ilişki göstermemiştir.⁴² Hipoksiye ek olarak yükselmiş glukoz seviyeleri de diyabetiklerde VEGF artışına neden olabilir.⁴³ AntiVEGF antikorlarının intraoküler uygulanması SRVO'nu izleyen neovaskülarizasyonu dramatik olarak inhibe etmektedir.³⁷ Ancak, tam gelişmiş aktif neovaskülarizasyonlu diyabetiklerin önemli bir kısmında oküler sıvılarında anlamlı derecede yüksek faktör seviyeleri tespit edilememiştir.⁴² Bu gözlem VEGF'in retinal anjiyogenezin başlamasında, muhtemelen retina veya vitreustaki büyüme faktörlerinin kritik seviyeye gelmesine neden olan yaygın retinal iskemi durumunda primer rol oynayabileceğini düşündürmektedir. NPDR ve diğer retinal ödem nedenlerinde VEGF'in lokalize retinal artışının mikrovasküler permabilitedeki artışla ilişkili olabileceği düşünülmektedir.⁴⁴

VEGF ve Rubeozis İridis

Kontrol edilemeyen PDR, iskemik SRVO ve arka segment tümörlerinin korkulan bir komplikasyonu olan ve neovasküler glokoma, potansiyel olarak gözün kaybına neden olabilen rubeozis iskemik arka segment yapılarından gelen vazoformatif bir faktörün difüzyonuna bağlanmaktadır.⁴⁵ İris neovaskülarizasyonlu 38 hastalık bir seride aktif rubeozisli vakaların %85'inde aköz veya vitröz sıvıda kaydedilen VEGF seviyelerine rastlanırken, inaktif iris neovaskülarizasyonluların 5'inden sadece birinde saptanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır.⁴⁶ Başka bir çalışmada koroidal melanomlu enükle gözlerin iris ve diğer oküler yapılarında VEGF'e ait immunohistokimyasal mikrovasküler boyanmanın arttığı belirlenmiştir. Fakat rubeozisle bir ilişkiden bahsedilmemiştir.⁴⁷ Hayvan modellerinde iskemiyle indüklenmiş retinal VEGF artışı ile artmış damar permabilitesi, dilatasyon ve iris damarlarında endotelial proliferasyon arasında kaydedilen bir ilişki gösterilmiştir.³⁴ Bu değişiklikler deneysel retinal iskemi başladıktan sonra klinik olarak rubeozis iridis görüldüğünden iskemik SRVO'dakinden daha erken ortaya çıkmıştır.⁴⁸ Bunlar gerçek iris neovaskülarizasyonunun ortaya çıkışı olarak yorumlanmaktadır.

VEGF ve Prematüre Retinopatisi

Retinal damarlanmanın gelişimi üzerine olan morfolojik çalışmalar ve ROP' in patogenezi, Michaelson tarafından ileri sürülen hipoksinin indüklediği retinal vazoformatif faktör görüşünün oluşmasına yardım etmiştir.⁴⁸ Geçmiş çalışmalarda, yenidoğan ratlarda ve yavru kedilerde iç retina-daki astrositler tarafından VEGF'in erken ekspresyonunu iç vasküler ağın oluşumunun yakından takip ettiği gösterilmiştir. Ve daha geç safhalarda müller hücrelerinde VEGF ekspresyonunu, yüzeyel ağdan iç nükleer tabaka seviyesine kan damarlarının içe büyümesi ve takiben dış kapiller pleksusun oluşumu izlemektedir.⁴⁹ Bu durum çeşitli yazarların nöronal aktivitenin başlaması nedeni ile oluşan hipoksinin, vasküler büyümeye öncülük eden ve gelişimin farklı safhalarında VEGF yapımında stratejik önemi olan astrosit ve müller hücreleri için uyarı olduğunu ileri sürmelerine neden olmuştur. Hipoksi yeni damarlar tarafından giderildiğinde VEGF ekspresyonu azalmakta ve anjiyogenez durmaktadır. ROP bu süreçlerin sapmasının bir sonucu olabilir.⁵⁰ Hastalık yeni şekillenmiş retinal damarların tıkanması ve yapay solunumdaki yüksek seviyedeki oksijene bağlı hiperoksinin bir sonucu olarak prematüre infantta periferel dışa büyümenin kesilmesi ile karakterizedir. Çocuk oda havasını solumaya döndüğünde, vitreusa yayılabilen, avasküler doku kenarında anormal, zayıf, preretinal yeni damarlanmalar ortaya çıkar ve bu sonradan traksiyonel retina dekolmanı ve körlüğe neden olabilir. ROP'de VEGF'in rolü hastalığın deneysel hayvan modellerinde yoğun olarak çalışılmaktadır. Yenidoğan kemirgenler, köpek ve kedi yavruları ve ratlarda hiperoksi ortamı, VEGF ekspresyonunun aşağı çekilmesine ve endotelial apoptoz nedeniyle vasküler kapanmaya neden olmuştur.⁵¹ Bu vasküler etkiler hiperoksiye maruz kalmadan önce VEGF'in tek vitreici enjeksiyonu ile önlenmektedir.⁵² Benzer sonuçlar fare modelinde de sağlanmış ve VEGF'in inhibisyonu vitreustaki endotel hücrelerinin sayısını anlamlı derecede azaltmıştır. İlginç olarak köpek yavruları ile yapılan modellerde tamamen oluşmuş periferel damarlanma etkilenmeden kalırken posterior retinada hiperoksi nedeniyle vasküler kapanma ortaya

çıkıştır⁵³. Aiello tarafından geliştirilen (insan ROP'ine benzer) ROP modelinde benzer sonuçlar alınmıştır. Kedi yavruları ile yapılan bu modelde denekler oda havasına alındıktan sonra periferik avasküler retinanın gangliyon hücre tabakasında aşırı VEGF ekspresyonu ve astrosit dejenerasyonu saptanmıştır. Bu bulgular VEGF'in anjiyogenez faktörü olmasına ek olarak gelişmekte olan retina-da yeni oluşmuş kapillerler için yaşamsal bir faktör olarak ta hareket edebileceğini ve insan ROP patogenezinde VEGF'in önemli rolü olduğunu göstermektedir.⁵⁴

VEGF ve Retinal Anjiyomlar

Retinal kapiller anjiyomlar Von Hippel-Lindau (VHL) hastalığında ortaya çıkabilir. Bu hastalıkta VEGF düzeyleri ve reseptör sayıları anlamlı derecede yükselmiştir.⁵⁵ VHL tümör süpressör geni klonlanmasından sonra VHL gen proteininin, VEGF, PDGF-B zinciri ve GLUT-1 glikoz taşıyıcısı yapımının oksijene bağımlı regülasyonunda rol oynadığı ileri sürülmüştür. VHL tümör süpressör geninin inaktivasyonunun VEGF'in kontrolsüz üretimine neden olarak VHL hastalığındaki gibi retinal anjiyom patogenezinin sorumlu olabileceği sanılmaktadır.⁵⁶

VEGF ve Koroidal Neovaskülarizasyon

Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu (YBMD)'nin sık komplikasyonu olan Subretinal veya koroidal neovaskülarizasyon (KNV) koroidden kaynaklanan fibrovasküler membranın büyümesi ile karakterizedir. Birkaç anjiyojenik ve büyüme faktörü bu membranlarda bulunmuştur ve VEGF'in subretinal anjiyogenezin bu ortak yolunda rolü olduğu deneysel çalışmalarla ileri sürülmüştür. Koroidde olayı ilk başlatan mekanizmanın iskemi olması tartışmalıdır. Çünkü koryokapillerlerdeki kan akımı çok fazladır. Ancak YBMD'de koroid kapillerlerinin ve kan akımının azaldığı gösterilmektedir. Büyüme faktörü, bu membranların cerrahi olarak çıkarılmış örneklerinde, KNV olsun ya da olmasın YBMD'li hastaların gözlerinin postmortem incelenmesinde RPE'inde, makrofajlarda, transdiferansiye RPE, fibroblastlar ve enflamatuvar hücrelerde gösterilmiştir.⁵⁷ Bu gözlemler kültüre RPE hücrelerinde ve koroidal

fibroblastlarda VEGF ekspresyonu ile desteklenmektedir.⁴⁵ Hatta, KNV li hastaların vitreuslarında VEGF seviyelerinin anlamlı derece yükselmiş olduğu bulunmuştur.⁵⁸

Normal Gözde VEGF'in Muhtemel Görevleri

Diğer erişkin dokularda olduğu gibi VEGF mRNA'nın düşük ekspresyonu normal gözün hemen hemen tüm dokularında tanımlanmıştır ki en önemlileri siliyer cisim, konjonktiva, RPE, koroid ve lenstir.⁵¹ RPE hücrelerince üretilen VEGF'in koriokapillaris için bir büyüme faktörü gibi davranabileceği varsayılarak, faktör koroidal endotelial tüp oluşumundan kısmen sorumlu tutulabilir.⁵⁹ Genelde normal gözde VEGF ekspresyonunun fonksiyonu bilinmemektedir.⁶⁰

VEGF'in Klinik Kullanımı

VEGF arter tıkanıklığına bağlı kol bacak iskemisinde kollateral oluşumunu uyardığından oftalmolojide tedavi amaçlı kullanımı yararlı olabilir.⁶¹ Gelişen retinada VEGF mikrovasküler yapı için yaşamsal bir faktör olarak etki ettiğine göre ekzojen VEGF ROP'de vasküler tıkanmayı engelleyebilir.^{51,52} Anti VEGF stratejileri lazer tedavisinin geçerli olduğu oküler anjiyogenez görülen bütün durumlarda değerli bir alternatif veya ek bir tedavi seçimi olabilir. VEGF'in oküler anjiyogenez ve artmış mikrovasküler permabilitede önemli bir rolü olduğu tartışılrsa da bu rolün neovasküler cevabın veya vasküler sızıntının sürmesinde veya direkt ya da indirekt olarak başlamasında anlamlı olup olmadığı bilinmemektedir. Neovaskülarizasyon veya makuler ödemle başvuran hastaların sayısının fazlalığı nedeniyle VEGF inhibitör ajanların kullanımı önem taşır. VEGF'in endotel hücreleri üzerinde bulunan transmembran tirozin kinaz reseptörlerine bağlanması ile tetiklenen sinyal yolu birçok seviyede farklı açılardan inhibe edilerek VEGF in etkinliği önlenilmektedir.⁶¹

Oküler Anjiyogenezde Kullanımı Olan VEGF'e Yönelik Monoklonal Antikorlar;

Pegaptanib sodyum (Macugen®), YBMD'e sekonder oküler neovaskülarizasyon ve vasküler kaçak gelişiminde baskın rol oynayan VEGF 165 izoformuna selektif olarak bağlanıp hem kan damarlarındaki büyüme hem de vasküler kaçığı

inhibe eden sentetik bir oligonükleotiddir. Pegaptanib YBMD ile ilişkili patolojik koroidal neovaskülarizasyonları tedavi etmek ve görme kaybını önlemek için geliştirilmiştir. Çalışmalar sonucunda 6 haftada bir intravitreal 0,3 mg pegaptanib uygulamasının etkili en düşük doz olduğu bulunmuştur.^{62,63}

Ranibizumab (rhuFabV2, Lucentis®), VEGF'in tüm izoformlarına bağlanmak, damar geçirgenliğini ve anjiogenezi bloke etmek üzere geliştirilmiş monoklonal antikor fragmanıdır. Ranibizumab VEGF₁₆₅, VEGF₁₂₁ ve VEGF₁₁₀'a bağlanır ve inhibe eder. Ranibizumabın muhtemelen molekül yapısının küçüklüğü sayesinde retina'nın tüm katlarını geçebildiği gösterilmiştir. Vitroz kaviteye uygulanan ranibizumab birkaç ciddi yan etkisiyle birlikte görme kaybını azaltmakta ve görme keskinliğini iyileştirmektedir. İlacın aylık uygulanması önerilmektedir.^{64,65}

Bevacizumab (Altuzan®), VEGF-A'nın tüm izoformlarına bağlanıp nötralize etme özelliğine sahip humanize monoklonal antikordur.⁶⁶ Koroidal neovasküler membran tedavisinde intravitreal 1.25 mg bevacizumabın görme keskinliğini arttırdığı, anjiyografik olarak sızıntıyı ve optik koherens tomografide retinal kalınlığı azalttığı gözlenmiştir. Bevacizumabın önemli sistemik ve oküler yan etkilerinin olmaması nedeniyle eksudatif YBMD tedavisinde kısa dönem için güvenli ve etkili olduğu yakın tarihli çalışmalarda bildirilmiştir.^{67,68}

Bu monoklonal antikorlardan pegaptanib ve ranibizumab FDA onayı alarak eksudatif yaşa bağlı makula dejenerasyonu hastalarında kullanılmaktadır. Ülkemizde ranibizumabın ruhsatlandırılma işlemleri devam etmekte ve insani amaçlı kullanım için onay alınarak her vaka için özel olarak getirilebilmektedir. Pegaptanib 6 haftada bir verilirken, bevasizumab ayda bir uygulanmaktadır. Şu an intravitreal uygulama için ruhsat verilmeyen bevacizumabın ülkemizde, Avrupa ve Amerika ülkelerinde kullanıldığı bilinmektedir.

VEGF reseptörlerine yönelik ajanların ve VEGF reseptör tirozin kinaz inhibitörlerinin oküler anjiogeneizde kullanımına ait yeterli literatür bilgisi henüz yoktur.

VEGF İnhibisyonunun Potansiyel Yan Etkileri

Yara iyileşmesi, kadın üreme siklusu, kardiyak iskemide kollateral oluşumu ve diğer doku cevapları VEGF aktivitesinin değişmesiyle etkilenebilir. Normalde epitel tarafından bazal VEGF üretimi belirli kapiller yatakları (koroid pleksus ve böbrek) koruyabileceğinden RPE ve koroidal kapillerler arasında benzer bir mekanizma işlerlik gösterirse VEGF inhibisyonu koroidal atrofiye neden olabilecektir. Bunun için hem sistemik hem de lokal oküler inhibisyonun ciddi yan etkileri olabilir.⁵⁹

Sonuç olarak, VEGF'in gelişen gözde ve patolojik göz durumlarında bir vasküler permabilite veya anjiyogenez faktörü olarak büyük rol oynayacağı görülmektedir. Bu faktörün inhibitörleri görme azalmasına neden olan kan retina bariyerinin kaybı veya anjiyogenezin görüldüğü yaygın oküler hastalıkların tedavisinde güçlü ilaçlar olabilir. VEGF hakkındaki tüm bu araştırma sonuçlarına rağmen faktörün asıl rolü hakkında öğreneceğimiz daha çok bilgi olmalıdır. Diğer büyüme faktörleri gibi VEGF'in etkileri reseptörlerinin ekspresyonuna, ekstrasellüler matrikse, ekstravaze plazma proteinlerine, diğer sitokinlere bağlı olabilir. Anlamlı görme kaybı ve körlük yapan durumların önlenmesi veya tedavi edilmesi için VEGF'in etkilerinin daha birçok klinik ve deneysel çalışmayla iyice anlaşılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Garner A. Ocular angiogenesis. *Int Rev Exp Pathol* 1986;28:249-306.
2. D'Amore PA. Mechanisms of retinal and choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:3974-9.
3. Jampol LM, Ebroon DA, Goldbaum MH. Peripheral proliferative retinopathies: An update on angiogenesis, etiologies and management. *Surv Ophthalmol* 1994;38:519-40.
4. Diaz-Flores L, Gutierrez R, Varela H. Angiogenesis: an update. *Histol Histopathol* 1994;9:807-43.
5. Hudlicka O. Growth of vessels – Historical review. *Prog Appl Microcirc* 1984;4:1-8.
6. Clark ER, Hirschler WJ, Kirby-Smith HT, Rex RO, Smith JH. General observations on the ingrowth of new blood vessels into standardized chambers in the rabbit ear, and the subsequent changes in the newly grown vessels over a period of months. *Anat Rec* 1931;50:129-68.
7. Distler O, Neidhart M, Gay RE, Gay S. The molecular of angiogenesis. *Intern Rev Immunol* 2002;21:33-49.

8. Maragoudakis ME, Missirlis E, Karakiulakis GD, Sarmonica M, Bastakis M, Tsopanoglou N. Basement membrane biosynthesis as a target for developing inhibitors of angiogenesis with anti-tumor properties. *Kidney Int* 1993;43:147-50.
9. Hudlicka, O, Brown M, Egginton S. Angiogenesis in skeletal and cardiac muscle. *Physiol Rev* 1992;72:369-417.
10. 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.
11. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995;146:1029-39.
12. Laka KP, Chakraborty C. Role of Nitric oxide in carcinogenesis and tumor progression. *Lancet Oncol* 2001;2:149-55.
13. Longo R, Sarmiento R, Fanelli M, et al. Anti-angiogenic therapy: Rationale, challenges and clinical studies. *Angiogenesis* 2002;5:237-56.
14. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocrin Rev* 1997;18:4-25.
15. Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. *Science* 1987;235:442-7.
16. Folkman J. Tumor angiogenesis: Therapeutic implications. *N Eng J Med* 1971;285:1182-6.
17. Cherrington JM, Strawn LM, Shawver LK. New paradigms for the treatment of cancer: The role of anti-angiogenesis agents. *Adv Cancer Res* 2000;79:1-38.
18. Klagsbrun M, D'Amore P. Vascular endothelial growth factor and its receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 1996;7:259-70.
19. Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;161:851-8.
20. Pepper MS, Ferrara N, Orci L, Montesano R. Potent synergism between vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in the induction of angiogenesis in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;189:824-31.
21. Nicosia RF, Nicosia SV, Smith M. Vascular endothelial growth factor, platelet-derived growth factor and insulin-like growth factor-1 promote rat aortic angiogenesis in vitro. *Am J Pathol* 1994;145:1023-9.
22. Roberts WG, Palade G. Increased microvascular permeability and endothelial fenestration induced by vascular endothelial growth factor. *J Cell Sci* 1995;108:2369-79.
23. Pekala P, Marlow M, Heuvelman D, Connolly D. Regulation of hexose transport in aortic endothelial cells by vascular permeability factor and tumor necrosis factor-alpha, but not by insulin. *J Biol Chem* 1990;265:18051-4.
24. Melder RJ, Koenig GC, Witwer BP, Safabakhsh N, Munn LL, Jain RK. During angiogenesis, vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor regulate natural killer cell adhesion to tumor endothelium. *Nature Med* 1996;2:992-7.
25. 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;172:1535-45.
26. Broxmeyer HE, Cooper S, Li ZH, et al. Myeloid progenitor cells regulatory effects of vascular endothelial growth factor. *Int J Hematol* 1995;62:203-15.
27. Senger DR. Molecular framework for angiogenesis. A complex web of interactions between extravasated plasma proteins and endothelial cell proteins induced by angiogenic cytokines. *Am J Pathol* 1996;149:1-7.
28. Kenyon BM, Voest EV, Chen CC, Flynn E, Folkman J, D'Amato RJ. A model of angiogenesis in the mouse cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:1625-32.
29. Maybodi M, Harvey HD, Williams JM, Pepose JS, Fleming TP. Vascular endothelial growth factor is expressed in cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:1139.
30. Li CH, McConnell A, Garcia J, Hernandez E, Huang AJ. Expression of vascular endothelial growth factor in rabbit ocular surface epithelia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:863.
31. Bednarz J, Weich HA, Rodokanaki-von Schrenck A, Engelmann K. Expression of genes coding growth factors and growth factor receptors in differentiated and dedifferentiated human corneal endothelial cells. *Cornea* 1995;14:372-81.
32. Wise GN. Retinal neovascularization. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1956;54:729-826.
33. Hogeboom van Buggenum IM, van der Heijde GL, Tangelder GJ, Reichert-Thoen JWM. Ocular oxygen measurement. *Br J Ophthalmol* 1996;80:567-73.
34. Miller JW, Adamis AP, Shima DT, et al. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor is temporally and spatially correlated with ocular neovascularization in a primate model. *Am J Pathol* 1994;145:574-84.
35. Adamis AP, Shima DT, Tolentino MJ, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor prevents retinal ischemia-associated iris neovascularization in a nonhuman primate. *Arch Ophthalmol* 1996;114:66-71.
36. Pounaras CJ, Miller JW, Gragoudas ES, et al. Upregulation of retinal VEGF expression with ischemic hypoxia and reversal with hyperoxia or scatter photocoagulation in a monkey model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:659.
37. Pe'er J, Shweiki D, Itin A, Hemo I, Gnessin H, Keshet E. Hypoxia-induced expression of vascular endothelial growth factor by retinal cells is a common factor in neovascularizing ocular diseases. *Lab Invest* 1995;72:638-45.
38. Shima DT, Gougos A, Miller JW, et al. Cloning and mRNA expression of vascular endothelial growth factor in ischemic retinas of *Macaca fascicularis*. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:1334-40.
39. Hata Y, Nakagawa K, Ishibashi T, Inomata H, Ueno H, Sueishi K. Hypoxia-induced expression of vascular endothelial growth factor by retinal glial cells promotes in vitro angiogenesis. *Virchows Arch* 1995;426:479-86.
40. Duh E, Aiello LP, Takagi C, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) increases retinal vascular permeability in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:121.

41. Hackett SF, Schoenfeld CL, Chen YS, Viores MA, Campochiaro PA. Receptors for VEGF (flt-1 and flk-1) are expressed in nonvascular cells in the eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:794.
42. Laatikainen L, Blach RK. Behaviour of the iris vasculature in central retinal vein occlusion: A fluorescein angiographic study of the vascular response of the retina and the iris. *Br J Ophthalmol* 1977;61:272-7.
43. Adamis AP, Miller JW, Bernal MT, et al. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1994;118:445-50.
44. Williamson JR, Chang KC, LeJeune W, Stephan CC, Brock TA, Tilton RG. Links between retinal vascular dysfunction induced by elevated glucose levels and VEGF. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:969.
45. Amin RH, Frank RN, Elliott D, Kennedy A, Puklin JE, Abrams GW. Vascular endothelial growth factor is present in glial cells of the retina and optic nerve of human subjects with nonproliferative diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:36-47.
46. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med* 1994;331:1480-7.
47. Viores SA, Kuchle M, Mahlow J, Chiu C, Green WR, Campochiaro PA. Blood-ocular barrier breakdown in eyes with ocular melanoma. A potential role for vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor. *Am J Pathol* 1995;147:1289-97.
48. Michaelson IC. The mode of development of the retinal vessels and some observations of its significance in certain retinal diseases. *Trans Ophthalmol Soc UK* 1948;68:137-80.
49. Dorey CK, Aouididi S, Reynaud X, Dvorak HF, Brown LF. Correlation of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor with extraretinal neovascularization in the rat. *Arch Ophthalmol* 1996;114:1210-7.
50. Stone J, Itin A, Alon T, et al. Development of retinal vasculature is mediated by hypoxia-induced vascular endothelial growth factor (VEGF) expression by neuroglia. *J Neurosci* 1995;15:4738-47.
51. Alon T, Hemo I, Itin A, Pe'er J, Stone J, Keshet E. Vascular endothelial growth factor acts as a survival factor for newly formed retinal vessels and has implications for retinopathy of prematurity. *Nature Med* 1995;1:1024-8.
52. Pierce EA, Foley ED, Smith LEH. Regulation of vascular endothelial growth factor by oxygen in a model of retinopathy of prematurity. *Arch Ophthalmol* 1996;114:1219-28.
53. Pierce EA, Avery RL, Foley ED, Aiello LP, Smith LE. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor expression in a mouse model of retinal neovascularization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:905-9.
54. Aiello LP, Pierce EA, Foley ED, et al. Suppression of retinal neovascularization in vivo by inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF) using soluble VEGF-receptor chimeric proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:10457-61.
55. Wizigmann-Voos S, Plate KH. Pathology, genetics and cell biology of hemangioblastomas. *Histol Histopathol* 1996;11:1049-61.
56. Iliopoulos O, Levy AP, Jiang C, Kaelin WG, Goldberg MA. Negative regulation of hypoxia-inducible genes by the von Hippel Lindau protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:10595-9.
57. Ogata N, Yi X, Yamamoto C, et al. Expression of vascular endothelial growth factor in experimental choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:124.
58. Wells JA, Murthy R, Chibber R, et al. Levels of vascular endothelial growth factor are elevated in the vitreous of patients with subretinal neovascularization. *Br J Ophthalmol* 1996;80:363-6.
59. Adamis AP, Shima DT, Yeo KT, et al. Synthesis and secretion of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor by human retinal pigment epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;193:631-8.
60. Kim I, Tolentino MJ, Miller JW, Adamis AP. Constitutive VEGF mRNA expression in the tissues of normal adult eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:792.
61. Dupont J, Camastra D, Gordon M, et al. A phase I study of VEGF trap in patients with solid tumors and lymphoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003;22:194 (abstract 776).
62. Lewitz Gryziewicz. Regulatory aspects of drug approval for macular degeneration. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2005;57:2092-8.
63. Zhou B, Wang B. Pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration. *Exp Eye Res* 2006;83:615-9.
64. Gaudreault J, Fei D, Rusit J, et al. Preclinical Pharmacokinetics of Ranibizumab (rhuFabV2) after a single intravitreal administration. *Invest Ophthalmol and Vis Sci* 2005;46:726-33.
65. Rosenfeld PJ. Intravitreal Avastin: The low cost alternative to Lucentis? *Am J Ophthalmol* 2006;142:141-3.
66. Ferrara N, Hillan KJ, Novotny W. Bevacizumab (Avastin), a humanized anti-VEGF monoclonal antibody for cancer Therapy. *Biochem and Biophys Res Commun* 2005;333:328-35.
67. Avery RL, Pieramici DJ, Reberna MD. Intravitreal Bevacizumab (avastin) for neovascular Age-related Macular Degeneration. *Ophthalmology* 2006;113:363.
68. Rosenfeld PJ, Moshfeghi AA, Puliafito CA. Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2005;36:331-5.