Archive of SID

Evaluation of the Safe Dose of Intravitreal Bevacizumab in Rabbit Eyes

Modareszadeh M, MD[1]; Rezaie Kanavi M, MD[2]; Nazari H, MD[1]; Ghasemi Falavarjani K, MD*[1]; Ghasempoor A, MD[1]

[1]Ophthalmic Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran; [2]Ophthalmic Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
**Corresponding author: drghasemi@yahoo.com*

Purpose: To evaluate the safety of different doses of intravitreal bevacizumab in rabbit eyes.
Methods: Twelve eyes of 6 rabbits underwent intravitreal injection of 5, 7.5 and 10 mg of bevacizumab. In each rabbit, one eye was considered for bevacizumab injection and the fellow eye served for either placebo injection or observation. All eyes were examined before and 1, 2, 3, 7, 14 and 28 days after intravitreal injections. Electroretinography (ERG) was performed before and 14 days after the injections. 28 days after the injections, all eyes were enucleated and examined with light and electron microscopy.
Results: In the clinical examination, significant vitritis was observed in one of the 10 mg injected eyes from first post-injection which was eliminated by the 7th day. Cataract was seen in the same eye. Post-injection ERGs showed no significant changes. Increase in Muller-like cells was observed in the histological examination in the injected eyes.
Conclusion: Intravitreal injection of 5 and 7.5 mg doses of bevacizumab was safe in rabbit eyes; however, the 10 mg dose was associated with intraocular inflammation.

Key words: Intravitreal Bevacizumab, Rabbits, Safety

- Bina J Ophthalmol 2010; 15 (3): 186-192. **Received:** 21 September 2009 **Accepted:** 31 January 2010

مقدار ایمن داروی بواسیزوماب در چشم خرگوش

دکتر سیدمهدی مدرس‌زاده[۱]، دکتر مژگان رضایی کنوی[۲]، دکتر حسین نظری[۳]، دکتر خلیل قاسمی فلاورجانی[۳] و دکتر عادل قاسم پور[۴]

هدف: بررسی ایمنی مقادیر متفاوت داروی بواسیزوماب در مایع زجاجیه چشم خرگوش.
روش: تعداد ۱۲ چشم از ۶ خرگوش تحت تزریق داخل زجاجیه مقادیر ۵ ، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم از داروی بواسیزوماب قرار گرفتند. در هر خرگوش در یک چشم بواسیزوماب و در چشم مقابل یا دارونما تزریق شد و یا تنها تحت نظر قرار گرفت. خرگوش‌ها قبل از تزریق و سپس در روزهای ۱، ۲، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۸ بعد از تزریق تحت معاینه چشم قرار گرفتند. از تمام موارد قبل و ۱۴ روز بعد از تزریق آزمون الکترورتینوگرافی به عمل آمد. در روز ۲۸ تمام چشم‌ها تخلیه و به وسیله میکروسکوپ نوری و الکترونی مورد مطالعه آسیب‌شناسی قرار گرفت.
یافته‌ها: در معاینه بالینی در روز اول تا هفتم یک مورد التهاب زجاجیه با مقدار ۱۰ میلی‌گرم بواسیزوماب ایجاد شد و همین چشم مبتلا به آب‌مروارید نیز گردید. چشم‌های دیگر در معاینه بالینی طبیعی بودند و الکترورتینوگرافی پس از تزریق در هیچ چشمی تغییر قابل توجه‌ای را نشان نداد. در بررسی میکروسکوپی شبکیه، تنها افزایش سلول‌های شبه مولر در چشم‌های مورد تزریق (دارونما و دارو) مشاهده شد.
نتیجه‌گیری: در مطالعه حاضر تزریق داخل زجاجیه مقادیر ۵ و ۷/۵ میلی‌گرمی داروی بواسیزوماب در چشم خرگوش همراه با عوارض سمی نبود اما با مقدار ۱۰ میلی‌گرم علایم التهاب مشاهده گردید.

• مجله چشم‌پزشکی بینا ۱۳۸۹؛ دوره ۱۵، شماره۳: ۱۹۲-۱۸۶.

www.SID.ir

Archive of SID

• **پاسخ‌گو:** دکتر خلیل قاسمی فلاورجانی (e-mail:drghasemi@yahoo.com)
۱- استاد- چشم‌پزشک- دانشگاه علوم پزشکی ایران
۲- استادیار- چشم‌پزشک- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۳- استادیار- چشم‌پزشک- دانشگاه علوم پزشکی ایران
۴- چشم‌پزشک- دانشگاه علوم پزشکی ایران
تهران- خیابان ستارخان- خیابان نیایش- بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص)- مرکزتحقیقات چشم

دریافت مقاله: ۳۰ شهریور ۱۳۸۸
تایید مقاله: ۱۱ بهمن ۱۳۸۸

مقدمه

عامل رشد اندوتلیالی عروق (vascular endothelial growth factor) که به اختصار VEGF نامیده می‌شود، به صورت فیزیولوژیک، در فرآیندهای پیچیده سلولی نقش مهمی را ایفا می‌نماید[۱و۲]. در حالات مرضی مانند دیابت و انسداد ورید مرکزی شبکیه که سد خونی- چشمی شکسته می‌شود تعادل این عامل در چشم مختل و اختلالات مهمی ایجاد می‌گردد که از آن جمله می‌توان به نورگ‌زایی کورویید، ادم ماکولا، گلوکوم و رتینوپاتی دیابتی پیش‌رونده اشاره نمود[۳-۵].

در سال‌های اخیر جهت درمان ضایعات عروقی چشم از جمله نورگ‌زایی و افزایش نفوذپذیری، داروهای Pegaptanib، Ranibizumab و Bevacizumab وارد بازار گردیده‌اند که عملکرد اصلی این داروها مهار اثر فاکتور رشد VEGF می‌باشد[۶-۹]. داروی بواسیزوماب که با مهار رقابتی گیرنده VEGF اثر خود را اعمال می‌نماید، با نام تجارتی اوستین (Avastin) شناخته شده و به صورت off -label جهت درمان بیماری‌های فوق استفاده می‌شود[۱۰]. این دارو در درمان بیماری‌های چشمی به صورت داخل زجاجیه به کار برده شده است. اثرات مفید آن از جمله کاهش ادم شبکیه، جذب مایع پشت شبکیه، بهبود جداشدگی لایه حاوی رنگدانه اپی‌تلیوم، افزایش حدت بینایی و کاهش ضخامت شبکیه، مشاهده گردیده است. با این وجود تاکنون بالاترین مقدار ایمن تزریق دارو در چشم مشخص نشده است[۱۱].

علت این که در حال حاضر بواسیزوماب با مقدار ۱/۲۵ میلی‌گرم در تزریق داخل زجاجیه استفاده می‌شود، مطالعاتی است که جهت تعیین ایمنی داروی رانیبیزوماب (Ranibizumab) انجام شده و بالاترین مقدار ایمن دارو ۰/۳ تا ۰/۵ میلی‌گرم معرفی گردیده است. با توجه به این که مولکول بواسیزوماب سه برابر رانیبیزوماب و حاوی دو محل اتصال به VEGF می‌باشد (رانیبیزوماب تنها یک محل دارد) بنابراین به صورت نظری مقادیر ۰/۹ تا ۱/۵ میلی‌گرم بواسیزوماب معادل مقدار ایمن رانیبیزوماب در نظر گرفته می‌شود. اولین بار Rosenfeld[۱۲و۱۳] با همین استدلال مقدار ۱/۲۵ میلی‌گرم بواسیزوماب را به صورت تزریق داخل زجاجیه استفاده نمود. پس از آن مطالعات گوناگون، نتایج تزریق مقادیر متفاوت بواسیزوماب را در انسان و حیوانات گزارش نمودند که بالاترین میزان مورد استفاده، ۵ میلی‌گرم بوده است[۱۴-۱۸]. با توجه به این که تاکنون عوارض مقادیر بالاتر داروی بواسیزوماب مورد بررسی قرار نگرفته است، مطالعه حاضر با هدف تعیین ایمنی مقدار بیش‌تر دارو صورت پذیرفت.

روش پژوهش

شش خرگوش آلبینو با وزن متوسط ۳-۲ کیلوگرم وارد مطالعه شدند. از مجموع دوازده چشم مورد بررسی، چشم راست همه خرگوش‌ها تحت تزریق سه دوز متفاوت از داروی بواسیزوماب (مقادیر ۵، ۷ و ۱۰ میلی‌گرم هر کدام در دو چشم) قرار گرفتند. از شش چشم چپ به عنوان کنترل، سه چشم تحت تزریق دارونما با حجم معادل داروی بواسیزوماب قرار گرفتند و در سه چشم هیچ‌گونه تزریقی انجام نشد.

در مطالعه حاضر جهت ارزیابی اثرات سمی داروی بواسیزوماب بر چشم خرگوش‌ها، رویکرد سه‌گانه معاینه بالینی، بررسی الکترورتینوگرافی و آسیب‌شناختی مورد استفاده قرار گرفت.

در طول مدت پی‌گیری خرگوش‌ها ۱۲ ساعت در تاریکی و ۱۲ ساعت در روشنایی قرار می‌گرفتند و مواد غذایی و آب کافی همیشه در دسترس آنان بود. قبل از تزریق، بخش قدامی چشم خرگوش‌ها به وسیله اسلیت‌لمپ و بخش خلفی توسط افتالموسکوپ غیرمستقیم معاینه شد که در تمام موارد طبیعی بود. خرگوش‌ها، قبل از هر اقدامی به وسیله تزریق عضلانی مخلوطی از کتامین هیدروکلراید (۵۰ mg/kg) و زیلازین (Xylazine) هیدروکلراید (۵۰ mg/kg) و مجموع تقریبی ۱ cc بی‌هوش می‌شدند. قطره بی‌حسی موضعی آنستوکایین نیز در زمان معاینه استفاده می‌شد و مردمک با استفاده از قطره فنیل‌افرین (۲/۵ درصد) و تروپیکامید (۰/۵ درصد) موضعی متسع می‌گردید.

قبل از تزریق دارو، از هر دو چشم خرگوش‌ها الکترورتینوگرافی

www.SID.ir

Archive of SID

(ERG، Flash Electroretinography، Wiesbaden, Germany, Roland) بـه عمـل آمـد. Flash ERG در دو بخـش اسـکوتوپیک (Scotopic) و فتوپیـک (Photopic) انجـام شـد کـه در قـسمت اسکوتوپیک، خرگوش‌ها حـداقل بـه مـدت ۳۰ دقیقـه در تـاریکی مطلق قرار گرفتند. در روز چهاردهم پس از تزریق نیز مطابق روش فوق از تمام خرگوش‌ها الکترورتینوگرافی مجدد به عمل آمد. دامنه (amplitude) امواج a و b در سه نـوع پاسـخ متفـاوت سـلول‌هـای اسـتوانه‌ای (rod)، سـلول‌هـای مخروطـی (cone) و ترکیبـی (combined) بررسی گردید کـه در نـوع ترکیبـی پاسـخ مـشترک سلول‌های استوانه‌ای و مخروطی هم‌زمان ثبـت گردیـد و اخـتلاف این امواج قبل و بعد از تزریق محاسـبه شـد. کـاهش بـیش از ۳۰ درصد در دامنه امواج a و b بعد از تزریق معنی‌دار در نظـر گرفتـه شد[۱۷].

برای هر مقدار داروی بواسیزوماب چـشم راسـت دو خرگـوش انتخاب شد. سپس در چشم چپ یکی از خرگوش‌ها تزریق محلول BSS (balanced salt solution) با حجم معادل دارو در چشم مقابل صورت گرفت و چشم چپ خرگـوش دیگـر تنهـا تحـت نظـر قـرار گرفت. تمامی تزریق‌ها با سرسوزن gauge ۲۸ در یک میلـی‌متـری پشت لیمبوس و در فضای میانی زجاجیه با مشاهده سرسـوزن بـه وسـیله افتالموسـکوپ غیرمـستقیم انجـام شـد. جهـت تزریـق ۵ میلی‌گرم، از قسمت قدامی مقدار ۰/۱ سی‌سـی از مـایع زلالیـه بـا سرسوزن gauge ۲۸ تخلیه شد. در مقدار ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم، قبل از تزریق از اتاق قدامی ۰/۱ سی‌سی و از زجاجیه به ترتیـب ۰/۲ و ۰/۲۵ سی‌سی مایع خارج گردید. در چشم مقابل خرگوش‌هایی که تحت تزریق دارونما (BSS) قرار گرفتند نیز متناسب بـا حجـم دارو مایع زجاجیه تخلیه شد.

فشار چشم پس از تزریق به وسـیله مـشاهده قرنیـه و شـریان مرکزی شبکیه بررسی شد که در هـیچ‌کـدام از چـشم‌هـا کـدورت قرنیه و یا انسداد شـریان مرکـزی شـبکیه ایجـاد نگردیـد. بعـد از تزریق، از پماد اریترومایسین بـه صـورت موضـعی اسـتفاده شـد و خرگوش‌ها پـس از بـه هـوش آمـدن کامـل بـه قفـس‌هـای خـود بازگردانده شدند. در روزهای ۱ ، ۲، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۸ بعد از تزریـق معاینـه کامـل چـشم بـه وسـیله اسـلیت‌لمـپ و افتالموسـکوپ غیرمستقیم صورت پذیرفت.

در روز بیـست و هـشتم پـس از بـی‌هوشـی و معاینـه کامـل، خرگوش‌ها توسط مقدار بالای کتامین کشته و چشم آنـان تخلیـه شد. پس از آن چشم حیوان در شرایط اسـتریل و در داخـل مـاده تثبیـت‌کننـده Karnovsky (متـشکل از گلوتارآلدییـد ۳ درصـد در پارافرمالدییـد ۱ درصد و بافر ۰/۱ درصد مولار کاکودیلات سدیم بـا PH ۷/۴) به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد. سپس کره چشم تحت بـرش قـدامی- خلفـی قـرار گرفـت و بخـشی از آن طـی رونـد آماده‌سازی بافت، به صورت بلـوک پـارافینی درآمـد. بعـد از تهیـه مقاطع ۵-۳ میکرونی و رنگ‌آمیزی هماتوکسین و ائوزین (H&E) و پریودیک اسـید شـیف (PAS)، توسـط میکروسـکوپ نـوری مـورد بررسی کامل قرار گرفت و تغییرات ایجاد شده ثبت گردید. بخـش دیگر کره چشم تحت برش نیمه‌نـازک و فـرانـازک قـرار گرفـت و رنـگ‌آمیـزی تولوییـدین‌بلـو و اورانیـل اسـتات جهـت بررسـی میکروسکوپ الکترونی Transmission صورت پذیرفت.

یافته‌ها

یکی از خرگوش‌ها که تحت تزریق ۵ میلی‌گرمـی بواسـیزوماب قرار داشت به علت نامشخص از بین رفـت. در خرگـوش دیگـر بـا تزریق ۵ میلی‌گرم و نیز دو موردی که ۷/۵ میلی‌گـرم بواسـیزوماب دریافت کرده بودند، در معاینه بالینی هیچ‌گونه علامتی از التهاب و عفونت مشاهده نشد و در همه چشم‌ها شبکیه کاملا طبیعی بود.

در یکی از چشم‌های تحت تزریـق ۱۰ میلـی‌گـرم دارو، در روز اول بعد از تزریق التهاب شدید زجاجیه ایجاد شـد بـه نحـوی کـه شبکیه به سختی قابل رویت بود. این عارضـه در روز هفـتم بـدون درمان تقلیل یافت و در روز چهاردهم به طور کامل از بین رفت. در عدسی همین چشم در روز سـوم بعـد از تزریـق علایـم کاتاراکـت کپسول خلفی مشاهده شد که در روز چهاردهم، این عارضه به طور کامل مشخص شد. در خرگوش دیگر با ۱۰ میلی‌گـرم دارو مـشکل خاصی مشاهده نشد. در همه موارد چشم مقابل فاقد علایم سمی و یا التهاب و عفونت بود.

همان‌طور که در جدول (۱) مشاهده می‌شود، در هیچ کـدام از مقادیر تزریق کاهش بیش از ۳۰ درصـد در دامنـه امـواج b و a در پاسخ‌های فتوپیک و اسکوتوپیک ایجاد نگردید.

در هـر دو روش رنـگ‌آمیـزی PAS و H&E و مـشاهده بـا میکروسکوپ نـوری (Olympus BX 41, Tokyo, Japen) در تمـامی چشم‌ها هیچ‌گونه شواهدی از ارتشاح، خون‌ریزی، التهـاب، آتروفـی شبکیه و یا هیپرتروفی اپـی‌تلیـوم رنگدانـه‌دار دیـده نـشد و کلیـه لایه‌های شبکیه طبیعی بود (تصویر ۱). در یک چشم با تزریـق ۱۰ میلی‌گرم بواسیزوماب، کاتاراکت کپسول خلفی رویت گردید.

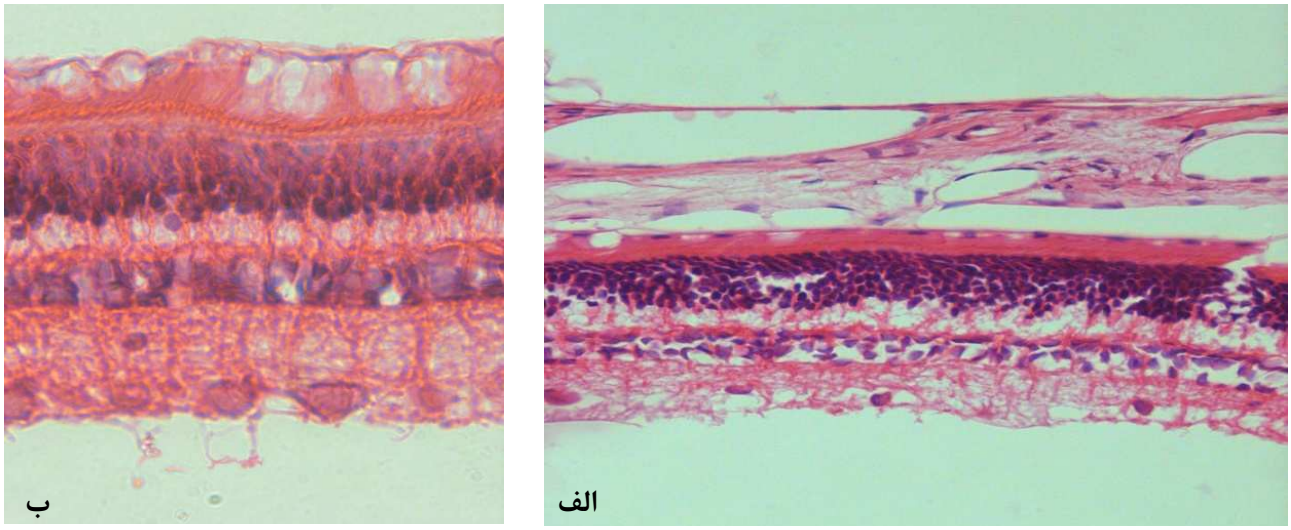
www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- درصد تغییرات دامنه امواج a و b در الکترورتینوگرافی روز ۱۴ نسبت به قبل از تزریق در ۵ خرگوش

	درصد تغییرات موج a			درصد تغییرات موج b		
	پاسخ سلول استوانه‌ای	پاسخ سلول مخروطی	حداکثر پاسخ ترکیبی	پاسخ سلول استوانه‌ای	پاسخ سلول مخروطی	حداکثر پاسخ ترکیبی
۵ میلی‌گرم بواسیزوماب	۸۲/۱۱↑	۲۷/۵۰↓	۶۶/۸۴↑	۵/۷۰↑	۲۲/۱۶↓	۵/۶۰↑
۵ میلی‌گرم BSS	۳/۷۰↓	۳/۷۹↓	۱۳/۹۱↓	۲۵/۴↓	۲۵/۴۸↓	۱۶/۵۰↓
۷/۵ میلی‌گرم بواسیزوماب	۱۳۳/۶۰↑	۱۵۳/۶۳↑	۹۹/۲۰↑	۴۰/۵۱↑	۷/۶۱↑	۳۲/۵۷↑
۷/۵ میلی‌گرم BSS	۲۸/۱۰↓	۱۲۸/۸۱↑	۹۶/۸۰↑	۱۹/۸۰↓	۲۴/۰۶↓	۷/۶۰↓
۷/۵ میلی‌گرم بواسیزوماب	۱۷۱/۳۰↑	۷/۰۹↑	۱۶/۷۴↓	۱۳۵/۱۹↑	۴۶/۴۰↑	۱۵۴/۹۴↑
کنترل ۷/۵ میلی‌گرم	۳/۹۰↓	۱۷/۰۹↓	۱۴/۷۲↑	۵/۱۰↓	۲۷/۱۲↓	۰/۶۷↑
۱۰ میلی‌گرم بواسیزوماب	۲۶ /۷۰↓	۴۹/۷۰↑	۲۸/۵۰↓	۲۵/۵۰↓	۷/۰۴↓	۲۲/۷۰↓
۱۰ میلی‌گرم BSS	۲۷/۱۳↓	۱۰۰/۹۹↑	۵۹/۲۰↑	۳۰/۴۳↑	۱۷/۵۶↑	۲۴/۶۰↓
۱۰ میلی‌گرم بواسیزوماب	۲۷/۹۲↓	۲۶/۳۰↓	۶/۸۱↓	۲/۵۰↓	۲۰/۲۶↓	۱۶/۶۷↓
کنترل ۱۰ میلی‌گرم	۴۶/۵۶↑	۱۱/۸۱↑	۱۴۵/۵۵↑	۱۵/۳۰↓	۱۱/۵۰↓	۲۵/۲۹↓

↑: درصد افزایش و ↓: درصد کاهش

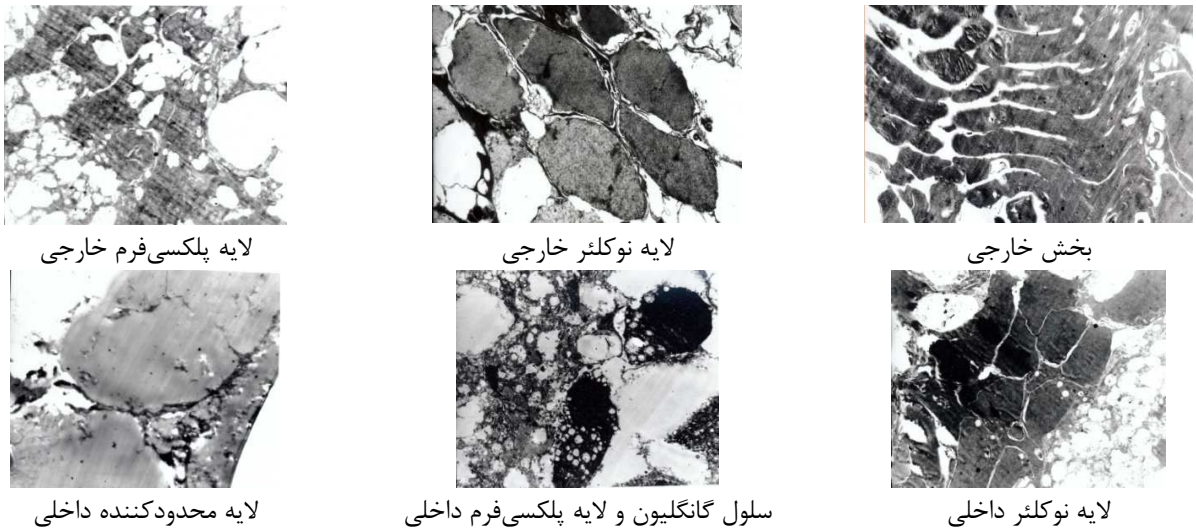


تصویر ۱- وضعیت لایه‌های شبکیه در نمای میکروسکوپ نوری الف) رنگ‌آمیزی PAS و ب) H&E: شواهدی از اثر سمی مشاهده نمی‌گردد.

در نمای میکروسکوپ الکترونی (EM 900, Zeiss, Germany) در کلیه نمونه‌ها تمامی لایه‌های شبکیه یکپارچگی خود را حفظ کرده بودند (تصویر ۲) و هیچ گونه شواهدی دال بر وجود سلول‌های التهابی یا گلبول قرمز یافت نشد. وجود سلول‌های شبه‌مولر (Muller-Like) در لایه نوکلئر خارجی از یافته‌های مرضی این نما بود (تصویر ۳) که در گروه کنترل مشاهده نشد. در گروه BSS بین ۲-۰ سلول و در گروه بواسیزوماب بین ۷-۲ سلول رویت گردید.

www.SID.ir

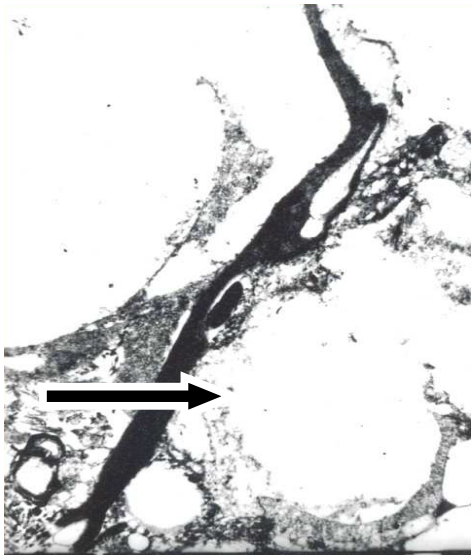
Archive of SID



تصویر ۲- لایه‌های شبکیه پس از تزریق داروی بواسیزوماب در چشم خرگوش: نمای میکروسکوپ الکترونی

بحث

تزریق داخل زجاجیه داروها مزیت‌هایی بر تزریق وریدی دارد که غلظت بالای دارو در چشم و محدود شدن عوارض سیستمیک از آن جمله می‌باشد. با این وجود این روش می‌تواند همراه عوارض سمی بوده و حیات یا کارکرد چشم را تهدید نماید. به همین دلیل محققین قبل از انجام تزریق داخل زجاجیه، اثرات سمی مقادیر مختلف داروی مورد نظر را بررسی کرده و مقدار بی‌خطر را مشخص می‌نماید[۱۲و۱۳].



تصویر ۳- سلول شبه مولر (پیکان) در چشم تحت تزریق که در گروه بواسیزوماب تعداد آن‌ها بیش‌تر از گروه دارونما (BSS) بود: نمای میکروسکوپ الکترونی

در زمینه اثرات سمی بواسیزوماب نیز مطالعاتی انجام شده است. Manzano و همکارانش[۱۷]، ۱۲ خرگوش نژاد نیوزلندی را جهت بررسی اثر سمی تزریق داخل زجاجیه بواسیزوماب انتخاب کردند و از مقادیر ۰/۵، ۱، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم استفاده نمودند، پس از بررسی بافت شناسی و الکترورتینوگرافی یافته‌ای دال بر سمی بودن دارو یافت نگردید اما در تزریق ۵ میلی‌گرم در یکی از چشم‌ها تعداد اندکی سلول التهابی در زجاجیه ایجاد شد. در مطالعه مشابه دیگر، Feiner و همکارانش[۱۸] تا مقدار ۵ میلی‌گرم بواسیزوماب را در چشم خرگوش تزریق نمودند و شواهدی دال بر سمیت دارو در شبکیه گزارش نکردند. در مطالعه مذکور هیچ‌گونه تفاوتی در دامنه امواج a و b در پاسخ‌های اسکوتوپیک و فتوپیک وجود نداشت و از این نظر تفاوتی بین خرگوش‌های تحت تزریق دارو و گروه کنترل گزارش نگردید. در این مطالعه نیز تنها از میکروسکوپ نوری استفاده شده بود. Shahar و همکاران[۱۴]، مقدار ۲/۵ میلی‌گرم دارو را به کار بردند و با این مقدار هیچ‌گونه اثر سمی رویت نشد. در این مطالعه آزمون الکترورتینوگرافی به فواصل سه ساعت، سه روز و هفته‌های اول، دوم و چهارم بعد از تزریق انجام شد؛ علاوه بر آن در بررسی بافت‌شناسی با استفاده از اسکن کانفوکال نفوذپذیری دارو در لایه‌های مختلف شبکیه به دنبال تزریق دارو بررسی گردید و محققان نتیجه‌گیری کردند که با وجود نفوذ دارو به لایه‌های زیرین، این مقدار دارو فاقد اثر سمی بر روی چشم است. در مطالعه ما مقادیر بالاتر دارو استفاده و نمونه بافتی توسط میکروسکوپ الکترونی بررسی شد. در بررسی بافت‌شناسی

www.SID.ir

Archive of SID

پس از تزریق مقادیر ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بواسیزوماب، در هیچ موردی سلول التهابی در زجاجیه رویت نگردید، اگرچه در معاینه بالینی واکنش التهابی خودمحدود شونده در یکی از موارد تزریق ۱۰ میلی‌گرم دیده شد. در مطالعه ما بررسی الکترورتینوگرافی به روش مشابه مطالعات پیشین انجام شد و نتایج نیز مشابه بود. هم‌چنین نتایج میکروسکوپ الکترونی نشان داد که تعداد سلول‌های شبه مولر در چشم‌های تحت تزریق بواسیزوماب بیش از گروه دارونما (BSS) و در هر دو مورد بیش از گروه کنترل است.

سلول‌های مولر، سلول‌های آستروگلیال شبکیه هستند که در شرایط فیزیولوژیک یکپارچگی شبکیه را حفظ کرده و شبیه داربست عمل می‌کنند[۱۹و۲۰]. این سلول‌ها در شرایط فیزیولوژیک در ایجاد سد خونی-شبکیه‌ای دخالت داشته و نقش حمایتی دارند[۲۱]. سلول‌های مولر در حالت طبیعی دارای رشته‌های بینابینی (intermediate filament) بوده و در حفظ یکپارچگی مکانیکی شبکیه و لایه‌های آن، نقش اساسی دارند. در شرایط غیرطبیعی، تعداد این سلول‌ها زیاد می‌شود[۲۲]. در این مطالعه مشاهده سلول‌های شبه مولر در هر دو گروه دارونما و بواسیزوماب، نشان دهنده وارد آمدن استرس به دنبال تزریق داخل شبکیه می‌باشد و به احتمال زیاد این نما به علت اثر داروی بواسیزوماب تشدید می‌شود و تعداد بالاتر سلول می‌تواند به عنوان شاهدی از وجود استرس بیش‌تر در این گروه تلقی گردد. البته با توجه به تعداد محدوده نمونه در هر گروه نتیجه‌گیری قطعی امکان‌پذیر نبوده و اثبات و توجیه این یافته نیازمند مطالعات گسترده‌تر به ویژه بهره‌مندی از تصاویر میکروسکوپ الکترونی می‌باشد. عدم گزارش چنین یافته‌ای در مطالعات پیشین به احتمال زیاد ناشی از عدم بررسی شبکیه توسط میکروسکوپ الکترونی بوده است.

در مورد کاتاراکت کپسول خلفی، هر چند که احتمال روش نامناسب تزریق را نمی‌توان به طور کامل مردود دانست اما با اقداماتی که در حین تزریق و پس از آن انجام دادیم این احتمال کم‌تر مطرح است. در حین تزریقات مختلف، نوک سر سوزن در فضای حفره خلفی و پشت عدسی دیده می‌شد و در هیچ تزریقی سر سوزن به کپسول خلفی بر خورد نکرد، هم‌چنین در روز سوم از میان هشت مورد تزریق فقط یک چشم مبتلا به کاتاراکت واضح گردید و در هیچ کدام از موارد تزریق BSS، این عارضه ایجاد نشد. در بررسی آسیب‌شناختی کپسول خلفی هیچ‌گونه گسستگی در این کپسول مشاهده نگردید، لذا با توجه به مطالب فوق توصیه می‌شود در مطالعات بعدی احتمال ایجاد کاتاراکت مدنظر قرار گیرد.

از محدودیت‌های عمده مطالعه حاضر کم بودن تعداد نمونه در هر گروه می‌باشد. هم‌چنین، یکی از خرگوش‌ها به علت نامشخص از بین رفت و از مطالعه خارج شد. با توجه به یافته‌های این مطالعه می‌توان نتیجه‌گیری نمود که تزریق مقادیر ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم از داروی بواسیزوماب در چشم خرگوش به احتمال زیاد از ایمنی مناسبی برخوردار است و عوارض مشاهده شده در این مطالعه مربوط به تزریق است نه داروی بواسیزوماب، هر چند به علت محدودیت فوق نتایج باید با احتیاط مورد تفسیر قرار گیرند. هم‌چنین بررسی اثر تزریقات مکرر نیاز به مطالعه جداگانه دارد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه با تزریق واحد ۵ و ۷/۵ میلی‌گرم از داروی بواسیزوماب در داخل چشم خرگوش هیچ‌گونه اثر سمی در معاینه بالینی، الکترورتینوگرافی و آسیب‌شناختی یافت نگردید. جهت بررسی ایمنی مقدار ۱۰ میلی‌گرم داروی بواسیزوماب می‌بایست مطالعات بیش‌تری صورت پذیرد، زیرا یک مورد کاتاراکت کپسول خلفی و التهاب زجاجیه در این مقدار دارو مشاهده گردید.

منابع

1. Eyetech Study Group. Anti-vascular endothelial growth factor therapy for subfoveal choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration: phase II study results. *Ophthalmology* 2003;110:979-986.
2. Krzystolik MG, Afshari MA, Adamis AP, Gaudreault J, Gragoudas ES, Michaud NA, et al. Prevention of experimental choroidal neovascularization with intravitreal anti-vascular endothelial growth factor antibody fragment. *Arch Ophthalmol* 2002;120:338-346.
3. Tripathi BJ, Tripathi RC, Livingston AM, Borisuth NS. The role of growth factors in the embryogenesis and differentiation of the eye. *Am J Anat* 1991;192:442-471.
4. Adamis AP, Shima DT. The role of vascular endothelial growth factor in ocular health and disease. *Retina* 2005;25:111-118.
5. Adamis AP, Miller JW, Bernal MT, D'Amico DJ, Folkman J, Yeo TK, et al. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1994;118:445-450.
6. Presta LG, Chen H, O'Connor SJ, Chisholm V, Meng YG, Krummen L, et al. Humanization of an anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody for therapy of solid tumors and other disorders. *Cancer Res* 1997;57:4593-4599.

www.SID.ir

Archive of SID

7. Hurwitz HI, Fehrenbacher L, Hainsworth JD, Heim W, Berlin J, Holmgren E, et al. Bevacizumab in combination with fluorouracil and leucovorin: an active regimen for first-line metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2005;23:3502-3508.
8. Yang JC, Haworth L, Sherry RM, Hwu P, Schwartzentruber DJ, Topalian SL, et al. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *N Engl J Med* 2003;349:427-434.
9. Gragoudas ES, Adamis AP, Cunningham ET Jr, Feinsod M, Guyer DR. VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization Clinical Trial Group. Pegaptanib for neovascular age- related macular degeneration. *N Engl J Med* 2004;351:2805-2816.
10. Michels S, Rosenfeld PJ, Puliafito CA, Marcus EN, Venkatraman AS. Systemic bevacizumab (Avastin) therapy for neovascular age- related macular degeneration: twelve-week results of an uncontrolled open- label clinical study. *Ophthalmology* 2005;112:1035-1047.
11. Mordenti J, Cuthbertson RA, Ferrara N, Thomsen K, Berleau L, Licko V, et al. Comparisons of the intraocular tissue distribution, pharmacokinetics, and safety of 125I-labeled full length and Fab antibodies in rhesus monkeys following intravitreal administration. *Toxicol Pathol* 1999;27:536-544.
12. 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;36:331-335.
13. Rosenfeld PJ, Fung AE , Puliafito CA. Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab (Avastin) for macular edema from central retinal vein occlusion. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2005;36:336-339.
14. Shahar J, Avery RL, Heilweil G, Barak A, Zemel E, Lewis GP, et al ,Electrophysiologic and retinal penetration studies following intravitreal injection of Bevacizumab. *Retina* 2006;26:262-269.
15. Avery RL, Pieramici DJ, Rabena MD,Castellarin AA, Nasir MA, Giust MJ. Intravitreal bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2006;113:363-372.
16. Spaide RF, Laud K, Fine HF, Klancnik JM Jr, Meyerle CB, Yannuzzi LA, et al. Intravitreal bevacizumab treatment of choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration. *Retina* 2006;26:383-390.
17. Manzano RP, Peyman GA, Khan P, Kivilcim M. Testing Intravitreal toxicity of Bevacizumab (Avastin). *Retina* 2006;26:257-261.
18. Feiner L, Barr EE, Shui YB, Holekamp NM, Brantley MA Jr. Safety of intravitreal injection of bevacizumab in Rabbit eyes. *Retina* 2006;26:882-888.
19. Green WR. Retina: Anatomy and Histology. In: Spencer W.H. Ophthalmic pathology, an atlas and textbook; 4th edition, on CD Rom, Chapter 9.
20. Lundkvist A, Reichenbach A, Betsholtz C, Carmeliet P, Wolburg H, Pekny M. Under stress, the absence of intermediate filaments from Muller cells in the retina has structural and functional consequences. *Journal of Cell Science* 2004;117:3481-3488.
21. Reichenbach A, Wurm A, Pannicke T, Iandiev I, Wiedemann P, Bringmann A. Muller cells as players in retinal degeneration and edema. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007;245:627-636.
22. Lewis GP, Fisher SK. Up-regulation of glial fibrillary acidic protein in response to retinal injury: its potential role in glial remodeling and a comparison to vimentin expression. *Int Rev Cytol* 2003;230:263-290.

www.SID.ir