

مقاله مروری

نئوواسکولاریزاسیون قرنیه

کامران منصوری^۱، علی مصطفایی^۲، حمیدرضا محمدی مطلق^۳، بداله شکیبا^۴

۱- کارشناس ارشد هماتولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران (مؤلف مسؤول)
تلفن: ۰۸۳۱-۴۲۷۶۴۷۳ kmansouri@kums.ac.ir

۲- استاد گروه ایمنولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۳- کارشناس ارشد بیولوژی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۴- دانشجوی دکتری تخصصی ایمنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

چکیده

نئوواسکولاریزاسیون قرنیه (NV)^۱ بواسطه ترمیم بیش از حد زخم پس از عفونت، جراحی، یا جراحی بوقوع می‌پیوندد. نئوواسکولاریزاسیون، تشکیل ساختارهای عروقی جدید در نواحی‌ای است که قبلاً فاقد رگ بوده‌اند. دو مکانیسم همپوشان واسکولوزنز و آنژیوژنز احتمالاً در فرآیند نئوواسکولاریزاسیون درگیر هستند که نقش مکانیسم اخیر در رشد تومور و اختلالات قرنیه و شبکیه مطرح می‌باشد. در حقیقت، نئوواسکولاریزاسیون قرنیه وضعیتی است تهدیدکننده بینایی که معمولاً با اختلالات التهابی یا عفونی سطح چشم همراه است. تحقیقات مربوط به آنژیوژنز سرطان نشان داده‌اند که تعادلی بین فاکتورهای آنژیوژنیک (مثل FGF و VEGF) و مولکولهای آنتی آنژیوژنیک (همانند آنژیواستاتین، اندوستاتین یا فاکتور مشتق از رنگدانه اپی‌تلیوم) در قرنیه وجود دارد. مشکلاتی از قبیل التهاب، عفونت، صدمه و جراحی منجر به نئوواسکولاریزاسیون در قرنیه می‌شوند که به معنی تحریک آنژیوژنز در این بافت است. نئوواسکولاریزاسیون قرنیه ممکن است تحت تأثیر متالوپروتئینازها (MMPs) و سایر آنزیمهای پروتئولیتیک قرار گیرد. بکارگیری درمانهای جدید دارویی و جراحی شامل استفاده از استروئیدهای آنژیواستاتیک، عوامل ضد التهابی غیراستروئیدی، argon laser photocoagulation و درمان فتودینامیکی (PDT)^۲ در مدل‌های حیوانی برای مهار پدیده نئوواسکولاریزاسیون قرنیه تا حدودی مؤثر بوده‌اند.

در این مبحث، مشکلات قرنیه‌ای وابسته به نئوواسکولاریزاسیون، فرایندهای دخیل در این بیماری و درمانهای بالقوه آنها را مرور خواهیم نمود.

کلید واژه‌ها: عروق دار شدن قرنیه، رگزایی، التهاب، ماتریکس متالوپروتئاز

وصول مقاله: ۸۸/۹/۱۶ اصلاحیه مقاله: ۸۸/۱۰/۲۴ پذیرش مقاله: ۸۸/۱۲/۱۴

1. Neovascularization
2. Photodynamic therapy

عروق‌دار نبودن قرنیه و پدیده نئوواسکولاریزاسیون

خون رسانی به قرنیه از طریق سرخرگهای مژکی تأمین می‌شود که شاخه‌هایی از سرخرگ چشمی هستند که تقسیم شده و به شبکه پیرامون قرنیه‌ای^۳ در ناحیه لیمبوس ختم می‌شوند. نئوواسکولاریزاسیون قرنیه مستلزم جوانه‌زنی رگهای جدید بخصوص از مویرگها و سیاهرگهای شبکه پیرامون قرنیه می‌باشد. تاکنون، دو نوع نئوواسکولاریزاسیون بالینی قرنیه شناسایی شده است: نوع اول؛ نئوواسکولاریزاسیون استرومایی که بطور عمده همراه با کراتیت استرومایی و نوع دوم؛ پانوس عروقی که مرکب از بافت پیوندی است که در حاشیه سطحی قرنیه تکثیر می‌یابد و بطور عمده با اختلالات سطح چشم همراه است. هر چند نئوواسکولاریزاسیون ممکن است چندین لایه از قرنیه را در بگیرد، مطالعات جدید نشان داده‌اند که محل ایجاد و استقرار اصلی نقاط عروق‌دار شده قرنیه‌ای، نواحی یک سوم فوقانی و میانی استرومای قدامی می‌باشد (۱-۲).

نئوواسکولاریزاسیون قرنیه‌ای: اپیدمیولوژی و ریسک فاکتورها

بیماری‌های نئوواسکولار و عفونی قرنیه و سایر بخشهای چشم ناشی از مشکلات بهداشت عمومی می‌باشند. تخمین زده می‌شود که هر ساله ۱/۴ میلیون نفر در ایالات متحده ممکن است به نئوواسکولاریزاسیون قرنیه مبتلا شوند، در حقیقت، ۴ درصد جمعیت آمریکا از نئوواسکولاریزاسیون قرنیه رنج می‌برند. از سوی دیگر طبق شواهد آسیب شناسی، ۲۰ درصد از نمونه‌های قرنیه بدست آمده در طی پیوند قرنیه دچار نئوواسکولاریزاسیون می‌شوند. این آسیب عمده چشمی می‌تواند منجر به ایجاد زخم در قرنیه، خیز یا ادم، رسوب

چربیها و التهاب شود که نه تنها ممکن است میزان دید را تا حد زیادی کاهش دهد، بلکه می‌تواند پیش آگهی کراتوپلاستی نفوذکننده (PK)^۴ بعدی را بدتر کند. ریسک فاکتورهای نئوواسکولاریزاسیون پس از PK در بیماران بدون التهاب حاد، نئوواسکولاریزاسیون قبلی قرنیه یا نقائص مداوم اپی تلیال ارزیابی شده‌اند. مطالعات همچنین نشان می‌دهند که عواملی مثل فرو رفتن گره‌های بخیه در استرومای میزبان، وجود بلغاریت فعال و مسائلی از این قبیل، سبب افزایش خطر بروز نئوواسکولاریزاسیون می‌شوند. علاوه بر این، ۴۱ درصد از چشم افراد دچار PK که تحت معالجه قرار گرفته بودند، ۶ تا ۹ ماه بعد به نئوواسکولاریزاسیون قرنیه‌ای مبتلا شده‌اند که اهمیت این عارضه را نشان می‌دهد (۳).

اختلالات ایمنولوژیکی و عفونی قرنیه و ملتحمه ممکن است سبب تحریک تولید مولکولهای آنژیوژنیک دخیل در نئوواسکولاریزاسیون قرنیه شوند. به طور مثال، میزان بروز نئوواسکولاریزاسیون قرنیه در بیماران دچار اختلالات التهابی همچون کراتوکونژنکتیویت آتوپیک^۵ ممکن است در طی دوره بیماری به ۵۰ درصد هم برسد. در بین عوامل عفونی مختلفی که واسکولاریزاسیون قرنیه را القاء می‌کنند، خانواده هرپس ویروس (عمدتاً هرپس سیمپلکس و هرپس زوستر) از عوامل بوجود آورنده اولیه نئوواسکولاریزاسیون القاء شده توسط کراتیت در دگمه‌های PK می‌باشند. این عارضه پس از کراتیت بینابینی نکروز دهنده یا عودکننده رخ می‌دهد و تنها به واکنش میزبان وابسته نیست. نتایج مطالعات مختلف نیز نشان داده‌اند که الگوهای بیماری چشمی القاء شده

4. Atopic Keratoconjunctivitis
5. Penetrating keratoplasty

3. Pericomeal

توسط ویروس هرپس سیمپلکس از لحاظ ژنتیکی توسط DNA ویروسی تعیین می‌شوند (۴).

هر چند نئوواسکولاریزاسیون قرنیه عمدتاً در طی فرآیندهای التهابی به وقوع می‌پیوندد، ممکن است در اختلالات تحلیل رونده (شامل ناخنک و Terrien marginal degeneration) و مادرزادی (aniridia) نیز بوجود آید. اگرچه تمامی کراتیت‌های عفونی ممکن است سبب بروز نئوواسکولاریزاسیون قرنیه شوند، برخی گزارشها حاکی از آن هستند که کراتیت آکانتاموبیا^۶ یک عفونت چشمی است که در اثر نوعی آمیب ایجاد می‌شود، حتی در موارد نسبتاً شدید و طولانی مدت منجر به نئوواسکولاریزاسیون قرنیه‌ای نمی‌گردد (۵).

مولکولهای آنژیوژنیک درگیر در نئوواسکولاریزاسیون قرنیه VEGF

در طی پدیده نئوواسکولاریزاسیون قرنیه، افزایش بیان فاکتورهای آنژیوژنیک به احتمال فراوان بایستی همراه با کاهش بیان مولکولهای آنتی آنژیوژنیک باشد. مطالعات اخیر نشان داد که VEGF در قرنیه‌های ملتهب و عروق‌دار شده انسانی و در مدل‌های حیوانی افزایش بیان می‌یابد. VEGF بطور عمده توسط ماکروفازها، سلولهای T، سلولهای اندوتلیال رنگدانه اپی‌تلیال، آستروسیتها و سلولهای عضله صاف تولید شده، بیان آن در شرایط هایپوکسی القاء می‌گردد (۶و۷).

FGF

فاکتور آنژیوژنیک دیگر یعنی bFGF بطور گسترده در مدل‌های آنژیوژن قرنیه مورد مطالعه قرار گرفته است. bFGF به خانواده فاکتور رشد فیروبلاستی تعلق دارد. این خانواده در برگیرنده ۲۳ پپتید متصل کننده

هپارین با ساختارهای مربوطه است که بطور گسترده در بافتهای بالغ و در حال تکامل در طی تمایز سلولی، آنژیوژنز، میتوژنز و بهبود زخم بیان می‌شوند. عملکرد FGF بواسطه اتصال به گیرنده‌های مربوطه (FGFR-1, 2, 3, 4) انجام می‌شود. FGF-1 در اپی‌تلیوم قرنیه طبیعی بیان می‌شود، در صورتیکه، FGF-2 پس از جراحی و در کشت همزمان کراتوسیت- سلول اندوتلیال عروقی افزایش بیان می‌یابد. جالب اینجاست که bFGF به غشاهای بومن و دسمه^۷ در قرنیه‌های طبیعی و غشاهای پایه عروقی در قرنیه‌های نئوواسکولاریزه متصل می‌شود. بر حسب میزان بلوغ رگهای جدید، میزان اتصال در رگهای طبیعی لیمبیک و رگهای تازه بوجود آمده، متفاوت است. این اتصال احتمالاً به پروتئوگلیکان‌های هپاران سولفات بر نقش ماتریکس خارج سلولی در تنظیم آنژیوژن قرنیه تأکید دارد (۸-۱۱).

متالوپروتئینازهای ماتریکس

بازسازی ماتریکس خارج سلولی و بهبود زخم معمولاً همراه با آنژیوژن در بافت محل است. از بین ۲۴ متالوپروتئیناز ماتریکس که قبلاً توصیف شده‌اند، هشت عدد در قرنیه شناسایی شده‌اند که شامل کلاژنازها (MMP-1, 13)، ژلاتینازهای A و B (9, MMP-2)، استروملیزین ۱ و ۲ (10, MMP-3)، ماتریلیزین (MMP-7)، و MMP نوع غشایی (MMP-14) هستند. هر چند، افزایش بیان این آنزیمها در طی آنژیوژن قرنیه مشاهده شده است، نقش آنها در تنظیم آنژیوژن ممکن است مبهم به نظر برسد زیرا یک مولکول واحد می‌تواند بعنوان فاکتور محرک یا مهارکننده آنژیوژن عمل کند. بنابراین، فعال شدن MMP-2 (ژلاتیناز A) ممکن است

7. Bowman and Descemet's membranes

6. Acanthamoeba keratitis

ساختمانی و COX-2 قابل القاء یافت شده‌اند. درمان با مهارکننده‌های انتخابی، اهمیت افتراقی آنها را در آنژیوزنز قرنیه نشان می‌دهد. مهار انتخابی COX-2، میزان مهار ۲۰ درصدی سنتز PGE2 قرنیه را در پی دارد و این میزان مهار پس از بهبودی به ۸۰ درصد نیز افزایش می‌یابد. علاوه بر این، مهار انتخابی COX-2 تا حد چشمگیری از نئوواسکولاریزاسیون قرنیه ممانعت می‌کند (دارای تأثیر آنتی آنژیوژنیک مشابه ایندومتاسین که مهارکننده غیر انتخابی COX-1 و COX-2 می‌باشد). مولکولهای متنوع دیگری مورد مطالعه قرار گرفته‌اند که در نئوواسکولاریزاسیون قرنیه، فعالیت آنتی آنژیوژنیک از خود نشان داده‌اند که از جمله آنها می‌توان به استفاده موضعی از آنتاگونیست گیرنده IL-1، octreotide، (آنالوگ سوماتواستاتین طولانی مدت اثر)، سیکلوسپورین A، FK 506، قطعات پلاسمینوژن، اسپیرونولاکتون، تالیدومید، amiloride، curcumin و آنتاگونیست PAF اشاره داشت (۲۹-۲۷).

درمان نئوواسکولاریزاسیون قرنیه با استفاده از جراحی
 نخستین تلاش جهت درمان نئوواسکولاریزاسیون قرنیه در جراحی درمانی، مسدود کردن عروق با استفاده از تکنیکهای مختلفی شامل لیزر آرگون و درمان فتودینامیک بوده است. Laser photocoagulation با استفاده از رنگ زرد ۵۷۷ نانومتری برای درمان نئوواسکولاریزاسیون قرنیه تثبیت شده مورد آزمایش قرار گرفته است. این تکنیک، ظاهراً در مطالعات حیوانی نسبتاً بی‌خطر به نظر می‌رسد. بنابراین، در افراد مبتلا به نئوواسکولاریزاسیون قرنیه از لحاظ بالینی (مقاوم به درمان پزشکی)، پیش از PK (برای ممانعت از عود بیماری) و پس از PK (برای درمان نئوواسکولاریزاسیون قرنیه) نیز به کار رفته است. هر چند، کاهش چشمگیر

نخست در سلولهای رتینوبلاستوم شناسایی و سپس در اپی‌تلیوم رنگدانه‌ای شبکه‌ای، عنیبه و قرنیه نیز کشف شد. هر چند، PEDF که به خانواده مهارکننده سرین پروتئاز (سرین) تعلق دارد، هیچگونه سوبسترای شناخته شده‌ای ندارد اما اخیراً نقش آن در آنژیوزنز قرنیه به اثبات رسیده است. برداشت PEDF از عصاره‌های استرومایی انسانی، مهار مهاجرت سلولهای اندوتلیال عروقی القایی توسط این عصاره‌ها را سرکوب می‌کند. علاوه بر این، PEDF نو ترکیب سبب مهار نئوواسکولاریزاسیون قرنیه القاء شده توسط تأثیر دادن bFGF می‌شود. برای درک هر چه بیشتر نقش این مولکول در بیماریهای مربوط به قرنیه، تحقیقات بیشتری نیاز است (۲۶ و ۲۵).

درمانهای پزشکی مورد استفاده جهت نئوواسکولاریزاسیون قرنیه

کورتیکواستروئیدهای موضعی موجود، درمان اصلی برای سرکوب رگهای قرنیه دارای تکثیر فعال می‌باشند. این احتمال وجود دارد که تأثیر آنتی آنژیوژنیک استروئیدها ناشی از خواص ضد التهابی آنها همانند مهار کموتاکسی سلول التهابی و مهار سنتز سایتوکاین‌های التهابی توسط آنها باشد. استروئیدها همچنین بطور مستقیم سبب تکثیر و مهاجرت سلول اندوتلیال عروقی می‌شوند. پروستاگلاندین‌ها در بهبود زخم قرنیه و آنژیوزنز تولید می‌شوند. مهار سنتز آنها توسط مهار کننده‌های فسفولیپاز A2 یا سیکلواکسیژناز (COX) (به ترتیب عوامل ضد التهابی استروئیدی یا غیراستروئیدی) به میزان چشمگیری سبب کاهش آنژیوزنز قرنیه در مدل‌های حیوانی نئوواسکولاریزاسیون قرنیه می‌شود. عوامل ضد التهابی غیر استروئیدی عموماً در کنترل اختلالات سطحی چشم به کار می‌روند. دو نوع از آنزیمهای COX در قرنیه شامل COX-1

در ناحیه مذکور در نئوواسکولاریزاسیون از لحاظ بالینی و پس از PK وجود داشته است، نقش corneal laser photocoagulation برای درمان پیش از جراحی کراتوپلاستی پرخطر روشن نیست، و این تکنیک ظاهراً در نئوواسکولاریزاسیون پیشرفته قرنیه مفید نیست. تکنیک دیاترمی سوزن نازک از دیگر روشهای مورد استفاده در این موارد است. این تکنیک انسداد ۵۰ تا ۱۰۰ درصدی نئوواسکولاریزاسیون قرنیه را با بهبود متوسط میزان دید در ۱۴ بیمار امکان پذیر نمود بطوریکه، پس از پیگیری ۶ تا ۲۴ ماهه، هیچ کدام از بیماران تأثیرات جانبی مهمی را نشان ندادند (۳۰).

درمان فتودینامیک، روش دیگری است که در آن یک حساس کننده نوری در جریان خون سیستمیک تزریق یا بطور موضعی بر سطح چشم استفاده می شود. این حساس کننده نوری در رگهای جدید تجمع می یابد و متعاقباً توسط پرتو لیزر جهت انسداد انتخابی رگهای جدید فعال می گردد. این تکنیک که برای نئوواسکولاریزاسیون کوروئید بکار می رود، در مدل های حیوانی نئوواسکولاریزاسیون قرنیه هنوز تحت مطالعه و بررسی قرار دارد. تحقیقات بیشتری لازم است تا میزان خطر و فایده این فرایند ارزیابی گردد (۳۱).

ارزیابی های پیوند اتوگرافت و آلوگرافت در درمان اختلالات سطح چشمی یک جنبه و دو جنبه کاهش نئوواسکولاریزاسیون قرنیه را نشان داده است. علاوه بر این، نشان داده شده که پیوند غشای آمیوتیک خواص آنتی آنژیوژنیک دارد. همچنین، مولکول ها و پیش سازهای آنتی آنژیوژنیک (شامل TSP-1 و کلاژن نوع ۱۸) در غشاهای آمیوتیک تشخیص داده شده اند که ممکن است در این مکانیسم نقش ایفا کنند. درمان اختلالات شدید سطح چشم با زخمهای قرنیه،

نئوواسکولاریزاسیون و متاپلازی ملتحمه ممکن است نیاز به پیوند اتوگرافت لیمییک داشته باشد. این تکنیک بطور موفقیت آمیز در قرنیه های واسکولاریزه مورد استفاده قرار گرفته است. این تصور وجود دارد که این تکنیک از طریق مکانیسمی دوگانه عمل می کند: ۱- از طریق جبران کمبود سلولهای بنیادی و به این ترتیب درمان آنژیوژنیک زخم مزمن قرنیه ۲- توسط مهار مستقیم سلولهای اندوتلیال عروقی. با این حال، هر چند شواهد حاکی از مؤثر بودن این مولکول ها و درمانهای جراحی در درمان نئوواسکولاریزاسیون قرنیه بوده اند، اما تحقیقات بیشتر برای بکارگیری این درمانهای پزشکی و جراحی همراه با درمان نئوواسکولاریزاسیون قرنیه مورد نیاز است (۳۲).

مدل آنژیوژنز قرنیه

یک مدل *in vivo* دیگر است که هنوز بعنوان یکی از مناسب ترین نوع مدل ها جهت مطالعه آنژیوژنز قرنیه مطرح می باشد. قرنیه بطور طبیعی فاقد عروق قابل مشاهده است، به همین دلیل، هر یک از رگها در قرنیه پس از تحریک توسط بافت ها یا فاکتورهای القاء کننده آنژیوژنز، جزو رگهای جدید محسوب می شوند. مدل اولیه این روش بر روی چشم خرگوش انجام گردید (۸۱)، اما اکنون این مدل بر روی چشم موش نیز انجام می گردد به طور خلاصه در این روش، یک پاکت در قرنیه ایجاد می شود و بافت ها یا تومورهای آزمایشی، هنگامیکه به این پاکت معرفی می گردند، موجب رشد درونی عروق جدید از رگ عضو پیرامونی می گردند. علاوه بر این، می توان اثر مهار کننده های آنژیوژنز را نیز بر روی واکنش مشاهده کرد (شکل ۱) (۳۳).

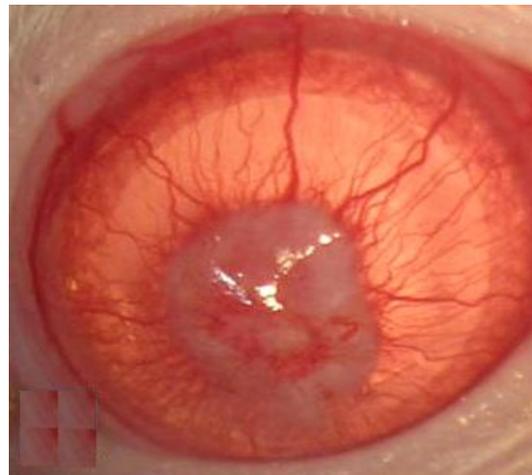
استراتژی جهت درمان انواع بسیاری از بیماریهای وابسته به آنژیوژنز می‌باشد. بر این اساس، توسعه و استفاده از مدل‌های مختلف آنژیوژنز برای این منظور بیش از پیش اهمیت پیدا می‌کند، تا جاییکه محققان بسیاری در سراسر جهان از مدل‌های مختلف آنژیوژنز جهت مطالعه این پدیده مهم و عوامل تأثیرگذار بر آن سود می‌برند. در این زمینه، محققان در کشورمان نیز همچون دیگر محققان در سراسر دنیا با بهره‌گیری از مدل‌های آنژیوژنز (۳۶-۳۴)، موفق به مطالعه، شناسایی و بررسی انواعی از ترکیبات مهارکننده آنژیوژنز همچون شناسایی پپتید ضد آنژیوژنری از غضروف کوسه ماهی (۳۷)، آنتی بادی مونوکلونال ضد پلاسمینوژن (۳۸)، مهارکننده تریپسین کونیتراز دانه سویا (۳۹)، مطالعه خواص و مکانیسم‌های ضد رگ زایی گیاه موسیر (۴۱ و ۴۰)، همچنین مطالعه اثر ضد آنژیوژنز چای سبز (۴۲) و عصاره موم عسل (۴۳) شده‌اند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و امتنان خود را از همکاری سرکار خانم‌ها: مریم چلبی، سارا کیانی، دکتر میترا بختیاری و آقای شهرام پروانه اعلام می‌دارند.

References

1. Hosseini H, Nejabat M. A potential therapeutic strategy for inhibition of corneal neovascularization with new anti-VEGF agents. *Med Hypotheses* 2007; 68: 799-801.
2. Zhang SX, Ma JX. Ocular neovascularization: Implication of endogenous angiogenic inhibitors and potential therapy. *Prog RetinEye Res* 2007; 26: 1-37.
3. West SK. Trachoma: New assault on an ancient disease. *Prog Retin Eye Res* 2004; 23: 381-401.
4. Zhen M, Schwarz MA, Lee S. Control of stromal keratitis by inhibition of neovascularization. *Am J Pathol* 2001; 159: 1021-1029.
5. Dana MR, Schaumberg DA, Kowal VO. Corneal neovascularization after penetrating keratoplasty. *Cornea* 1995; 14: 604-609.



شکل ۱. تحریک آنژیوژنز در قرنيه موش پس از تیمار با مواد آزمایش (مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی کرمانشاه، اطلاعات منتشر نشده).

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به اهمیت آنژیوژنز در تحقیقات مربوط به کشف و شناسایی فاکتورهای آنژیوژنیک و عوامل مهارکننده آنژیوژنز جهت درمان بیماری نئوواسکولاریزاسیون چشمی که با آنژیوژنز ارتباط تنگاتنگی داشته و به آن وابسته هستند، روش‌های مهار آنژیوژنز که به هدف تداخل با این فرآیند مهم جهت‌گیری نموده‌اند، مسیر امیدوارکننده‌ای برای درمان این بیماری محسوب می‌گردند. از جمله مزایای بالقوه این نوع درمان که می‌توان ذکر کرد شامل دسترسی آسان به اهداف داخل عروقی، عدم وجود مشکل مقاومت سلولی و همچنین کاربرد گسترده این نوع

6. Li X, Eriksson U. Novel VEGF family members: VEGF-B, VEGFC and VEGF-D. *Int J Biochem Cell Biol* 2001; 33: 421-426.
7. Robinson CJ, Stringer SE. The splice variants of vascular endothelial growth factor (VEGF) and their receptors. *J Cell Sci* 2001; 114: 853-865.
8. Gan L, Fagerholm P, Palmblad J. Expression of basic fibroblast growth factor in rabbit corneal alkali wounds in the presence and absence of granulocytes. *Acta Ophthalmol Scand* 2005; 83: 374-378.
9. Rogers MS, Birsner AE, D'Amato RJ. The mouse cornea micropocket angiogenesis assay. *Nat Protoc* 2007; 2: 2545-2550.
10. Kojima T, Chang JH, Azar DT. Proangiogenic role of ephrinB1/EphB1 in basic fibroblast growth factor induced corneal angiogenesis. *Am J Pathol* 2007; 170: 764-773.
11. Kurokawa M, Doctrow SR, Klagsbrun M. Neutralizing antibodies inhibit the binding of basic fibroblast growth factor to its receptor but not to heparin. *J Biol Chem* 1989; 264: 7686-7691.
12. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: Structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 2003; 928: 827-839.
13. Pepper MS. Role of the matrix metalloproteinase and plasminogen activator-plasmin systems in angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 217: 1104-1117.
14. Zhang H, Li C, Baciuc PC. Expression of integrins and MMPs during alkaline-burn-induced corneal angiogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 434: 955-962.
15. Samolov B, Steen B, Seregard S, van der Ploeg I, Montan P, Kvanta A. Delayed inflammation-associated corneal neovascularization in MMP-2-deficient mice. *Exp Eye Res* 2005; 80: 159-166.
16. Sakimoto T, Shoji J, Yamada A, Sawa M. Upregulation of matrix metalloproteinase in tear fluid of patients with recurrent corneal erosion. *Jpn J Ophthalmol* 2007; 51: 343-346.
17. Shin SH, Kim JC, Chang SI, Chung SI. Recombinant kringle 1-3 of plasminogen inhibits rabbit corneal angiogenesis induced by angiogenin. *Cornea* 2000; 19: 212-217.
18. Gabison E, Chang JH, Hernandez-Quintela E, Javier J, Lu PC, Ye H, et al. Antiangiogenic role of angiostatin during corneal wound healing. *Exp Eye Res* 2004; 78: 579-558.
19. Kim YM, Hwang S, Pyun BJ, Kim TY, Lee ST, et al. Endostatin blocks vascular endothelial growth factor-mediated signaling via direct interaction with KDR/Flk-1. *J Biol Chem* 2002; 277: 27872-27879.
20. Hanai J, Dhanabal M, Karumanchi SA, Albanese C, Waterman M, Chan B, et al. Endostatin causes G1 arrest of endothelial cells through inhibition of cyclin D1. *J Biol Chem* 2002; 277: 16464-16469.
21. Urbich C, Reissner A, Chavakis E, Dernbach E, Haendeler J, Fleming I, et al. Dephosphorylation of endothelial nitric oxide synthase contributes to the antiangiogenic effects of endostatin. *FASEB J* 2002; 16: 706-708.
22. Abdollahi A, Hahnfeldt P, Maercker C, Gröne HJ, Debus J, Ansorge W, et al. Endostatin's antiangiogenic signaling network. *Mol Cell* 2004; 13: 649-663.
23. Lai LJ, Xiao X, Wu JH. Inhibition of corneal neovascularization with endostatin delivered by adeno-associated viral (AAV) vector in a mouse corneal injury model. *J Biomed Sci* 2007; 14: 313-322.
24. Niu XG, Wang W, Shi WY, Xie LX. Inhibition of corneal neovascularization by liposomes mediated plasmid encoding human endostatin. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 2005; 41: 260-264.
25. Notari L, Miller A, Martinez A, Amaral J, Ju M, Robinson G, et al. Pigment epithelium-derived factor is a substrate for matrix metalloproteinase type 2 and type 9: Implications for downregulation in hypoxia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46: 2736-2747.
26. Abe R, Fujita Y, Yamagishi S, Shimizu H. Pigment epithelium-derived factor prevents melanoma growth via angiogenesis inhibition. *Curr Pharm Des* 2008; 14: 3802-3809.
27. Hong JW, Liu JJ, Lee JS, Mohan RR, Mohan RR, Woods DJ, et al. Proinflammatory chemokine induction in keratocytes and inflammatory cell infiltration into the cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 2795-2803

28. Nakao S, Hata Y, Miura M, Noda k, Kimura Yusuke N, Kawahara S, et al. Dexamethasone inhibits interleukin-1-induced corneal neovascularization role of nuclear factor-B-activated stromal cells in inflammatory angiogenesis. *Am J Pathol* 2007; 171: 1058-1065.
29. Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, Hori M, DuBois RN. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell* 1998; 93: 705-716.
30. Baer JC, Foster CS. Corneal laser photocoagulation for treatment of neovascularization. Efficacy of 577 nm yellow dye laser. *Ophthalmology* 1992; 99: 173-179.
31. Yoon KC, You IC, Kang IS, Im SK, Ahn JK, Park YG, et al. Photodynamic therapy with verteporfin for corneal neovascularization. *Am J Ophthalmol* 2007; 144: 390-395.
32. Pleyer U, Dannowski H, Volk HD, Ritter T. Corneal allograft rejection: Current understanding. I. Immunobiology and basic mechanisms. *Ophthalmologica* 2001; 215: 254-262.
33. Muthukkaruppan VR, Kubai L, Auerbach R. Tumor-induced neovascularization in the mouse eye. *J Natl Cancer Inst* 1982; 69: 699-708.
34. Mansouri K, Mostafaei A, Mirshahi M, Mohammadi Motlagh HR, Ali Maleki A and Keshavarz M. Human coagulated plasma as a natural and low cost matrix for in vitro angiogenesis. *Iran Biomed J* 2009; 13: 179-183
35. Mansouri K, Sheikh Aleslami A, Bahrami GH, Mostafaie A. Isolation of human umbilical vein endothelial cells and development of an angiogenesis model in fibrin matrix. *J Zanjan Univ Med Sci & Health Serv.* 2006; 14: 17-23.
36. Mansouri K, Mirshahi M, Pourfathelah AA and Hasan ZM. Development of an experimental model of angiogenesis in 3-dimensional fibrin matrix for screening of angiogenesis agents. *Behbood Sci J Kermanshah* 2005; 9: 27-35.
37. Hasan ZM, Feyzi R, Sheikhan A, Shahrokh S, Shahabian F, Bargahi A, and et al. Low molecular weight fraction of shark cartilage can modulate immune responses and abolish angiogenesis. *Int J Immunopharmaco* 2005; 4: 961-970
38. Mansouri K, Maleki A, Mirshahi M, Pourfathelah AA, Hasan ZM, Taheripak R. Anti-plasminogen monoclonal antibody (MC2B8) inhibits angiogenesis. *Pakistan J Biol Sci* 2007; 10: 3450-3453.
39. Shakiba Y, Mansouri K, Mostafaie A. Anti-angiogenic effect of soybean kunitz trypsin inhibitor on human umbilical vein endothelial cells. *Fitoterapia* 2007; 78: 587-589.
40. Mohammadi Motlagh HR, Mansouri K, Shakiba Y, Keshevarz M, Khodarahmi R, Siami A, and et al. Anti-angiogenic effect of aqueous extract of shallot (*Allium ascalonicum*) bulbs in rat aorta ring model. *Yakhteh Med J* 2009; 11: 184-189
41. Mohammadi Motlagh HR. The study of anti-angiogenic effects of shallot (*Allium hirtifolium*) extract and isolation of effective fraction. MS Thesis. Tabriz, Iran. Azarbayjan University of Tarbiat Moallem. 2008.
42. Keshavarz M, Mostafaie A, Mansouri K, Shakiba Y, Mohammadi Motlagh HR. Inhibition of corneal neovascularization with propolis extract. *Arch Med Res* 2009; 40: 59-61
43. Shakiba Y, Mostafaie A. Inhibition of corneal neovascularization with a nutrient mixture containing Lysine, proline, ascorbic acid, and green tea extract. *Arch Med Res* 2007; 38: 789-791.