

# Kornea Neovaskularizasyonu ve Tedavisi

## Corneal Neovascularization and Treatment: Review

Kübra KÜÇÜKİBA,<sup>a</sup>  
Nilgün YILDIRIM<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Göz Hastalıkları AD,  
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi  
Tıp Fakültesi,  
Eskişehir

Geliş Tarihi/Received: 04.02.2016  
Kabul Tarihi/Accepted: 17.08.2016

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Nilgün YILDIRIM  
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi  
Tıp Fakültesi,  
Göz Hastalıkları AD, Eskişehir,  
TÜRKİYE/TURKEY  
nyyildirim@yahoo.com

**ÖZET** Kornea avasküler, saydam, optik kırıcılığı yüksek olan bir bağ dokudur. Fizyolojik koşullarda düşük anjiyojenik, yüksek antiangiyojenik faktörler korneanın avasküler yapısını korur. Korneal neovaskularizasyon (NV), anjiyojenik ve antiangiyojenik faktörler arasındaki dengenin anjiyojenik faktörler yönünde bozulmasıyla ortaya çıkar. Enfeksiyöz, inflamatuvar, dejeneratif, travmatik, iyatrojenik nedenlere bağlı olarak kollajen lamellerin sıkı diziliminin bozulması, inflamatuvar sitokinlerin artması ve hipoksi gibi faktörler korneada yeni damar gelişmesine zemin hazırlar. Anjiyojenik faktörler içinde en çok bilinen moleküller, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), anjiyopoetinler, fibroblast büyüme faktörü, matriks metalloproteinaz (MMP)'dir. Bu faktörler içerisinde vasküler endotelial büyüme faktörü en önemli olanıdır. VEGF, anjiyogenez basamaklarında erken vasküler gelişimden tüp formasyonu oluşumuna kadar etkili bir maddedir. Bu aşamadan sonra damar stabilizasyonu için anjiyopoetin, endotel ile ilişkiye girerek, periendothelial hücreleri toplar ve damar stabilizasyonu sağlar. Antiangiyojenik faktörlerden en çok bilinen moleküller ise endostatin, anjiyostatin, pigment epitel kaynaklı faktördür. Korneal NV'si olan hastalarda tedavi etiyo-lojiye yönelik ve/veya yeni oluşan damarları geriletmeye yönelik olacak şekilde planlanır. Bu aşamada anti-VEGF ajanları, steroidler, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, tirozin kinaz inhibitörleri, MMP inhibitörleri, siklosporin ve gen tedavisi uygulanabilmektedir. Bazı olgularda argon lazer, elektrokoagülasyon, limbal transplantasyon, amniyotik membran transplantasyonu gibi cerrahi tedavi de söz konusu olabilmektedir. Bu çalışmada, korneal NV'nin patofizyolojisi ve anjiyojenik faktörler tedavideki son gelişmeler ışığında anlatılacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Korneal yeniden damarlanma; neovaskularizasyon, patolojik

**ABSTRACT** The cornea is an avascular, transparent, connective tissue with a high optical refraction power. Under physiological conditions corneal avascular structure is preserved by low-angiogenic, high antiangiogenic factors. Corneal neovascularization will occur when the balance between angiogenic and antiangiogenic factors are disturbed in favor of angiogenic factors. Disruption of tight alignment of collagen lamellae, increased levels of inflammatory cytokines and hypoxia caused by infections, trauma, inflammatory and degenerative pathologies and iatrogenic pathologies can lead to corneal neovascularization. Best known angiogenic factors are vascular endothelial growth factor (VEGF), angiopoietin, fibroblast growth factor and matrix metalloproteinase (MMP). The most important one of these factors is VEGF. Vascular endothelial growth factor has important role in angiogenesis steps from early development to the vascular tube formation. After this stage, angiopoietin associates with endothelial cells and gathers periendothelial cells together for vascular stabilization. The most well known antiangiogenic factors are endostatin, angiostatin, pigment epithelium-derived factor. Treatment of corneal neovascularization is planned according to the etiology. At this stage anti-VEGF agents, steroids, non-steroidal anti-inflammatory agents, tyrosine kinase inhibitors, MMP inhibitors, cyclosporin, gene therapy are medical treatment options. In some patients surgical treatment such as argon laser, electrocoagulation, limbal transplantation, amniotic membrane transplantation may also be needed. In this review, corneal angiogenesis pathophysiology, angiogenic factors and treatment will be discussed in the light of recent studies.

**Keywords:** Corneal neovascularization; neovascularization, pathologic

**K**ornea avasküler; saydam, optik kırıcılığı yüksek olan bir bağ dokudur. Enfeksiyöz, inflamatuvar, dejeneratif, travmatik, iyatrojenik sebeplere bağlı olarak kollajen lamellerin sıkı diziliminin bozulması, inflamatuvar sitokinlerin artması ve hipoksi gibi faktörler korneada yeni damar oluşumuna zemin hazırlar.<sup>1</sup>

Fizyolojik koşullarda düşük anjiyojenik, yüksek antianjiyojenik faktörler korneanın avasküler yapısını korur. Neovaskülarizasyon (NV) genel anlamda önceden damarsız olan bir bölgede yeni damar yapılarının oluşmasıdır. Korneal NV, anjiyojenik ve antianjiyojenik faktörler arasındaki dengenin anjiyojenik faktörler yönünde bozulmasıyla ortaya çıkar.<sup>2</sup>

Damar oluşumunda iki mekanizma vardır:

### 1. VASKÜLOGENEZ

Vaskülogenez, primitif damar oluşumudur ve endotel hücre prekürsörleri olan anjiyoblastlardan farklılaşmaktadır. Anjiyoblastlar, ekstraembriyonik mezodermden gelişen mezenkimal hücre topluluğundan meydana gelmektedirler. Anjiyoblastlar çoğalıp birleşerek öncül damar yapıları olan primer kapiller pleksusu oluştururlar. Primer kapiller pleksustan yeni damar yapılarının filizlenip, dallanması ile vaskülogenez sonuçlanır.

### 2. ANJİYOGENEZ

Anjiyogenez, önceden var olan damar yapılarından yeni damarların oluşmasıdır. Anjiyogenez büyüme, gelişme ve yara iyileşmesi gibi süreçlerde fizyolojik olarak gerçekleşmektedir.<sup>3</sup> Bununla beraber bazı durumlarda patolojik de olabilmektedir.

Anjiyogenez genel olarak dört basamakta gerçekleşmektedir;

1. Bazal membranın ve ekstraselüler matrisin proteazlar tarafından yıkılması,
2. Anjiyojenik uyarıya doğru endotel hücrelerinin göçü,
3. Endotel hücrelerin proliferasyonu,
4. Kapiller tüp formasyonu ve endotel hücrelerin olgunlaşması.

Yeni oluşan damarların olgunlaşması ve yapılandırılması, mikrovasküler düzeyde proanjiyoje-

nik ve antianjiyojenik faktörler arasındaki dengeye bu faktörlerin ve koordinasyonuna bağlıdır.<sup>3</sup>

## ETİYOLOJİ VE PATOFİZYOLOJİ

Korneal NV her kornea patolojisi sonrası gelişmeyebilir. Korneal NV'ye yol açan patolojiler Tablo 1'de görülmektedir.<sup>4</sup>

Göz polikliniğine başvuran hasta popülasyonunun %4,14'ünde korneal NV olduğu yapılan bir çalışmada gösterilmiştir. İncelenen 835 hastanın 35'inde gözlenen korneal NV'nin etiolojisinde, kontakt lens (KL) kullanımı (14 hasta), kapak kenarı inflamasyonu (7 hasta), geçirilmiş ön segment cerrahisi (5 hasta), ön segment NV (2 hasta), travma (1 hasta), trikiyazis (14 hasta), herpes simpleks enfeksiyonu (1 hasta) saptanmıştır.<sup>5</sup>

KL'lere bağlı korneal NV gelişmesi, son 20 yılda sık karşılaşılan kornea sorunudur. Yumuşak hidrojel KL kullanımında, sert gaz geçirgen lenslere göre

**TABLO 1:** Korneal neovaskülarizasyon ile ilişkili hastalıklar.

Inflamatuvar hastalıklar
Oküler pemfigoid
Atopik konjonktivit
Rozasea
Korneal doku reddi
Lyell sendromu
Stevens-Johnson sendromu
Graft versus host hastalığı
Enfeksiyöz keratitler
Viral: Herpes simpleks, herpes zoster
Bakteriyel: <i>Pseudomonas</i> , klamidy, sifiliz,
Fungal: Kandida, fusarium, aspergillus
Parazitik: Onkoserkiyazis
Dejeneratif-konjenital hastalıklar
Pterijiyum
Terrien'in marjinal dejenerasyonu
Aniridi
Travmatik-iyatrojenik hastalıklar
Kontakt lensler
Alkali yanık
Korneal ülserasyon
İyatrojenik
Limbal kök hücre yetmezliği

daha sık korneal NV görülmektedir.<sup>6</sup> KL kullanım süresinin uzaması ve KL'nin gece gözde kalması NV riskini artırmaktadır. KL tarafından oluşturulan korneal NV etiyojisi kesin olarak bilinmemekle birlikte, hipoksinin rol oynadığını destekleyen kanıtlar mevcuttur.<sup>6</sup> Bu hastalarda oksijen alımının KL nedeni ile azalması hipoksiyi indüklemektedir. İndüklenen hipoksi korneal hücrelerde metabolik aktivitede azalma, stromal ödem, kornea endotel hücre dansitesinde ve fonksiyonunda azalma gibi değişikliklere yol açmaktadır. Bunun yanı sıra uzun dönem hipoksi anjiyojenik faktörlerde upregülasyona neden olarak korneal NV'yi tetiklemektedir.<sup>6</sup>

Herpes simpleks keratiti (HSK) de sıklıkla korneal NV oluşumuna neden olur ve batı ülkelerinde korneal körlüğün en sık enfeksiyöz kaynaklı nedenidir.<sup>7</sup> Sıklıkla stromal herpes simpleks enfeksiyonuna bağlı olarak korneal NV gelişmektedir. HSK tedavisinde korneal NV, hastalık seyrinde önemli olup, antianjiyojenik ajanların kullanılması gerekebilir.<sup>7</sup>

Bakteriyel kornea enfeksiyonlarında da (*Staphylococcus*, *Streptococcus* ve *Pseudomonas* gibi) inflamasyona bağlı olarak korneal NV sıklıkla görülmektedir.<sup>7</sup>

Dünyada önlenebilir körlüğün önemli sebeplerinden biri konjonktivanın kronik enfeksiyonu olan trahomdur.<sup>8</sup> Tedavi edilmemiş trahomda kornea NV sonucu oluşan "pannus (fibrovasküler doku)" sık görülür. Kornea merkezine ilerleme gösteren "pannus" kornea saydamlığını bozarak görmeyi engeller.

## ANJİYOJENİK FAKTÖRLER

Damar oluşumunda yer alan anjiyojenik faktörler Tablo 2'de görülmektedir.<sup>9</sup>

En bilinen anjiyojenik faktörler vasküler endotelial büyüme faktörü [vascular endothelial growth factor (VEGF)], fibroblast büyüme faktörü [fibroblast growth factor (FGF) ve matris metalloproteinaz (MMP)]'dır.

### 1- VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ

VEGF en önemli anjiyojenik faktördür. İlk bulunduğu vasküler endotelial permeabilite faktörü

<b>TABLO 2: Anjiyojenik faktörler.</b>
Fibroblast büyüme faktörü
Vasküler endotelial büyüme faktörü
Plasental büyüme faktörü (PGF)
Transforme edici büyüme faktörü-alfa
Transforme edici büyüme faktörü-beta
İnsülin benzeri büyüme faktörü
Leptin
İntegrinler
Platelet kaynaklı büyüme faktörü
Matris metalloproteinaz
Anjiyogenin
Anjiyopietinler
Hepatosit büyüme faktörü-scatter faktör
Tümör nekrozis faktör- $\alpha$
Bağ doku büyüme faktörü
İnterlökin-8
Monosit kemoatraktan protein -1

(VEPF) olarak adlandırılan bu faktör, günümüzde VEGF olarak adlandırılmaktadır. VEGF, 46 kDa ağırlığında, homodimerik, heparine bağlı glikoprotein yapısında bir moleküldür. VEGF A, B, C, D, E, plasental büyüme faktörü [placental growth factor (PIGF)] ve VEGF-F adı verilen 7 alt grubu ve aminoasit sayılarına göre VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF183, VEGF189 ve VEGF206 olarak adlandırılan izoformları bulunmaktadır.<sup>10,11</sup>

VEGF-B etkisiz bir damar endotel hücre mitojenidir. Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü-1 [Vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1)]'e bağlanır iken, VEGFR-2 ve VEGFR-3 reseptörlerine bağlanmamaktadır. VEGF-C ve VEGF-D ise damar endotel hücreleri için güçlü mitojeniktir.<sup>12</sup>

VEGF'nin etkisini gösterebilmesi için endotel hücreleri ve lenf damarları üzerinde bulunan özgün transmembran tirozin kinaz reseptörlerine bağlanması gereklidir. Bağlanma sonucu aktifleşen VEGF reseptörleri hücre içerisinde sinyal iletimini uyararak bir dizi proteini fosforilize eder. Bu olay da ikincil habercilerin oluşmasına katkıda bulunarak, endotel hücrelerin çoğalmasını ve göçünü sağlar.

### Anjiyogenezde Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

1. Nitrik oksit salınımını indükleyerek damar permeabilitesini artırır,

2. Bazal membran ve matriks yıkımını artırır,

3. Anjiyopietin (Ang)'ler sayesinde endotel hücrelerin farklılaşmasında ve matürasyonunda rol oynar.<sup>13</sup>

VEGF, erken vasküler gelişimden tüp formasyonu oluşumuna kadar olan süreçte de etkili bir maddedir. Bu aşamadan sonraki dönemde damar stabilizasyonu için Ang endotel ile ilişkiye girerek, periendothelial hücreleri toplar ve damar stabilizasyonu sağlar.<sup>13</sup>

### 2- ANJİYOPOETİNLER

46 kDa ağırlığında, glikoprotein yapıda molekül olan Ang'ler, amino terminal ucunda Ang'e spesifik alan içeren glikoprotein yapıda moleküllerdir. Ang 1, 2, 3 ve 4 olmak üzere dört üyesi vardır. En iyi bilinen üyeler Ang 1 ve Ang 2 olup, Ang 3 (Ang 4'ün fare ortoloğu) ve Ang 4'ün etkileri tam olarak bilinmemektedir.<sup>14</sup>

Tie 1 ve Tie 2 reseptörleri immünglobulin (Ig) ve epidermal büyüme faktör homologu olan tirozin kinaz reseptörleridir. Anjiyopietinler endotele özgü tirozin kinaz üyesi Tie 2 reseptör üzerinden etkilerini gösterirler.<sup>14</sup> Anjiopietinler, Tie 2 reseptörüne bağlanarak reseptörde dimerizasyon, otofosforilasyon ve hücre içi sinyal iletim yollarını aktive eder.

Ang 1 aktiflenen hücre içi iletim sistemine bağlı damar stabilizasyonunu sağlayarak, endotel hücrelerinin kendi içerisindeki ve çevresindeki destek doku (düz kas ve ECM) ile ilişkisini güçlendirir. Ayrıca inflamasyonu azaltıcı etkisini VEGF ile ilişkili olarak, adezyon moleküllerinin salınımını inhibe ederek gösterir.<sup>15-17</sup>

Ang 2'nin anjiyogenezdeki rolü VEGF-A ile ilişkilidir. VEGF-A varlığında Ang 2 damar stabilizasyonunu sağlar ve vasküler filizlenmeyi destekler.<sup>18</sup> VEGF-A yokluğunda ise baskılayıcı bir rol oynayarak vasküler regresyonu hızlandırır. İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 [insulin-like growth factor (IGF-1)], platelet kaynaklı büyüme faktörü

[Platelet-derived growth factor (PDGF)], hipoksi Ang 2'yi uyaran başlıca diğer faktörlerdir. Normal bir dokuda Ang 1 salınımı daha ön planda iken, tümör dokusunda Ang 2 salınımı ön plandadır.<sup>19</sup>

### 3- FİBROBLAST BÜYÜME FAKTÖRÜ

Başka bir anjiyojenik faktör olan temel fibroblast büyüme faktörü [basic fibroblast growth factor (bFGF)], 23 adet yapısal olarak ilişkili heparin bağlayan peptidenden oluşmaktadır ve FGF ailesinin bir üyesidir. bFGF, gelişmekte olan ve olgun dokularda hücrel farklılaşma, anjiyogenez, mitogenez ve yara iyileşmesi sırasında yüksek oranda salınır.

FGF, fibroblast büyüme faktörü reseptörleri-1 [fibroblast growth factor receptor-1 (FGFR-1)], -2, -3, -4 reseptörlerine bağlanarak etki etmektedir. FGF-1 normal korneal epitelde üretilmektedir. Keratosit-damar endotel ortak hücre kültürü çalışmasında hasar sonrası FGF-2'nin üretimini artırdığı gösterilmiştir.<sup>20</sup>

İlginç olarak bFGF normal kornealarda Bowman ve Descemet membranlarına bağlanır iken damarlı kornealarda damar bazal membranlarına bağlanmaktadır. Oluşan damarların matürasyon derecesine bağlı olarak bağlanma gücü farklılık göstermektedir.<sup>21</sup>

### 4- MATRİKS METALLOPROTEİNAZLARI

MMP'ler, ekstraselüler matriksin yeniden yapılmasında ve anjiyogenezde rol alan bir grup çinko bağlayan proteolitik enzimlerdir.<sup>22</sup> Bunlar proenzimler olarak salınır ve ekstraselüler matrikste bazı proteinazlar tarafından aktive edilir. Yirmi dört bilinen MMPs arasından 8 tanesi korneada tanımlanmıştır. Bunlar kollajenaz 1 ve 3 (MMP-1 ve -13), jelatinaz A ve B (MMP-2 ve -9), stromelizin (MMP-3), matrilizin (MMP-7) ve membran tipi MMP (MMP-14)'dir.<sup>23,24</sup>

Korneal anjiyogenez sırasında seviyelerinin yükseldiği gösterilmiş olmasına rağmen anjiyogenez regülasyonundaki rolü şüphelidir, aynı molekül pro- veya antianjiyojenik olarak davranabilmektedir. Buna bağlı olarak MMP-2 (jelatinaz A)'nin aktivasyonu antianjiyojenik fragmanlar salılabilmekte, potansiyel anjiyostatik faktörlerin üre-

**TABLO 3:** Antianjiyojenik faktörler.

Endostatin
Anjiyostatin
Prolaktin
Matriks metalloproteinaz
Matriks metalloproteinaz doku inhibitörü
Trombospondin
Arresten
Canstatin
Tumstatin
Pigment epitelinden elde edilen faktör
Tümör nekrozis faktör alfa
İnterlökin-4
İnterlökin-13
Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü-1
Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü-2
Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü-3

tilmesine sebep olabilmekte veya anjiyogenezi aktive edebilmektedir.<sup>25,26</sup>

## ANTIANJİYOJENİK FAKTÖRLER

Bilinen antianjiyojenik faktörler Tablo 3'te görülmektedir.<sup>27-29</sup>

Antianjiyojenik faktörlerden en çok araştırılan ve hakkında en çok bilgi sahibi olunanları ise endostatin, anjiyostatin ve pigment epitelinden elde edilen faktör (PEDF)'dür.

### 1- ENDOSTATİN

Endostatin kollajen 18'in proteolitik fragmanlarından elde edilen bir diğer antianjiyojenik faktördür. İn vitro olarak FGF-2 ve VEGF'nin indüklediği damar endotel hücre proliferasyonu ve migrasyonunu inhibe ettiği ve farelerde tümör progresyonunu azalttığı gösterilmiştir.<sup>30</sup> Kollajen Tip 13 ağırlıklı olarak vasküler ve epitelial bazal membranda yer alan bir nonfibriler kollajendir. Gözde retina (iç limitan membran ve pigment epiteli), lens kapsülü ve korneada bulunmaktadır.<sup>31,32</sup> Kollajen 13'ün proteazlar tarafından parçalanmasıyla antianjiyojenik özellikler gösterebilen endostatin-benzeri fragmanlar (MMPs, katepsin L ve elastaz) ortaya çıkmaktadır.<sup>33</sup>

### 2- ANJİYOSTATİN

Plazminojenin proteolitik bir fragmanı olan anjiyostatin, güçlü bir antianjiyojenik faktördür. İlk olarak Lewis tarafından akciğer kanser hücrelerinden izole edilmiş ve damar endotel hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir.<sup>34</sup> Gözde anjiyostatin ve ona benzeyen fragmanların implantasyonu sonrasında FGF veya anjiyojenin ile oluşturulmuş korneal NV'nin inhibe olduğu gösterilmiştir.<sup>35,36</sup>

### 3- PİGMENT EPİTELİNDEN ELDE EDİLEN FAKTÖR

Güçlü bir antianjiyojenik ve nörotrofik faktör olan PEDF, ilk olarak retinoblastom hücresinden izole edilmiş ve daha sonra retina pigment epiteli, iris, gözyaşı ve korneada tanımlanmıştır.<sup>37</sup> PEDF bir majör NV inhibitörü olup korneayı, vitreusu ve retinayı invaze etmeye çalışan damarların uzaklaştırılmasından sorumludur.<sup>38</sup> İnsan korneasında epitel ve endotelde varlığı gösterilmiştir. Beynin hemen hemen bütün bölgeleri de dâhil olmak üzere birçok fetal ve erişkin insan dokularında üretilmektedir. PEDF serin proteaz inhibitör ailesine ait olup korneaya PEDF bloke eden implantlar yerleştirildiğinde korneal NV'nin gelişimi kolaylaşmaktadır. Ayrıca, rekombinant PEDF, bFGF tarafından indüklenmiş korneal NV'yi inhibe etmektedir.

PEDF, gözde damar olmaması gereken üç bölgenin (vitreus, ön kamarayı dolduran aköz humor ve kornea) damarsız durumlarının devamı için gerekli bir faktördür.

### KORNEA HÜCRELERİNİN ANJİYOSTATİK ETKİSİ

Korneal epitelial bazal membran (EBM), antianjiyojenik uyarı oluşturmada önemli bir role sahiptir. Endostatin gibi potent antianjiyojenik faktörler korneal EBM'nin ekstraselüler matriks komponenti tarafından salınır.<sup>39</sup> Endostatin endotelial hücrelerin hücre siklusunda G 1'de duraksamasına sebep olur. VEGF'nin vasküler endotel hücrelerinde reseptörü olan KDR/Flk 1'e bağlanmalarını engeller.<sup>40</sup> Anjiyoinhibitör faktör olan trombospondin ve MMP 3 de EBM'de depolanırlar. Trombospondin-1 makrofaj yüzeyindeki CD 36'ya bağlanarak üretilimi TGF-B tarafından indüklenen VEGF-C ve

**TABLO 4:** Korneal neovaskülarizasyon tedavisinde medikal ve cerrahi tedavi.

Steroidler
Nonsteroid antiinflatuar ilaçlar
1-25(OH) D3
Anti-VEGF
Çözünbilir VEGFR-1
VEGF-trap
Si-RNA
Platelet aktive edici faktör
Siklosporin A
FK506
Talidomid
Prolaktin
Curcumin
Ras farnesiltransferaz inhibitörleri
Metotreksat
Gen tedavisi
Argon lazer
Elektrokoagülasyon
Fotodinamik tedavi
Limbal transplantasyon
Amniyotik membran transplantasyonu
Konjonktival transplantasyon

VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü;

VEGFR: Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü-1.

VEGF-D'yi baskılar.<sup>41</sup> Trombospondin-1, kornea epitelinde bulunan VEGFR3, VEGF-C ve D gibi büyüme faktörlerini bağlayarak vasküler endotelial hücrelerin göçünü engeller, apoptozunu indükler ve böylece etkilerini nötralize etmiş olur. Ayrıca EBM'deki heparan sülfat, VEGF ve FGF 2'yi bağlayarak bu faktörlerin proinflatuar ve anjiyojenik etkilerini baskılar. Hipoksi varlığında HIF 1- $\alpha$  salınımı uyarılır. Artan hipoksi-indüklenebilir faktör 1-alfa [hypoxia-inducible factor 1-alpha (HIF 1- $\alpha$ )], VEGF transkripsiyonunu uyarır.<sup>42</sup>

## TEDAVİ

Korneal NV'si olan hastalarda tedavi, etiyolojiye yönelik ve/veya yeni oluşan damarları geriletmeye yönelik olacak şekilde planlanır. Tedavi sıklıkla medikal olmakla birlikte, bazı hastalarda cerrahi gereksinim de söz konusu olabilmektedir. Tablo 4'te insan çalışmalarında ve hayvan modellerinde

kullanılan ajanlar ve tedavi yaklaşımları görülmektedir.<sup>43</sup>

## 1-MEDİKAL

### 1.1. Topikal Antiinflatuar

Korneal NV tedavisinde ilk basamak topikal steroid ve/veya nonsteroid antiinflatuar ilaçlar [nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)]'dir. Konvansiyonel tedavide hidrokortizon, deksame-tazon, prednizolon ve triamsinolon asetonid gibi steroidler kullanılmaktadır. Kortikosteroidler mak-rofajların, mast hücrelerinin ve inflamasyonda rol alan diğer hücrelerin migrasyon ve aktivasyonunu engeller. Anjiyogenezi uyaran interlökin-1 (IL-1), IL-6 gibi proinflatuar sitokinlerin ve arasıdonik asidin oluşumunu baskılayarak etki gösterir. Bu tedavilerin inflamasyon sonucu gelişen NV üzerine etkili olduğu görülür iken, kronik dönemde etkisiz olduğu görülmüştür. Topikal steroidler enfeksiyon, glokom, katarakt ve herpes simpleks görülme sıklığını artırabilirler.<sup>44</sup>

NSAID'ler oküler yüzey hastalıklarında sıklıkla kullanılmaktadır. Korneada iki tip siklooksijenaz [cyclooxygenase (COX)] enzimi bulunmuştur: COX-1 ve COX-2. COX-2 enziminin VEGF ligand ve reseptörlerinin ekspresyonunu düzenlediği, insanda ve deneysel olarak kanserlerde önemli bir proanjiyojenik protein olduğu gösterilmiştir.<sup>45,46</sup> Seçici enzim inhibitörlerinin korneal anjiyogeneze etkileri değişkenlik göstermektedir. COX-2 enziminin seçici inhibisyonu prostaglandin E2'nin korneadaki bazal sentezini %20 oranında azaltmakta ve bu etki yara iyileşmesi sırasında %80'e çıkmaktadır.<sup>47</sup> COX-1 ve COX-2 enzimlerinin seçici olmayan inhibisyonunun (indometazin), COX-2 enziminin seçici inhibisyonu ile benzer etki gösterdiği ve NV'yi kısmi olarak engellediği gösterilmiştir.<sup>48</sup>

### 1.2. Anti Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü Ajanları

NV'de etkin rolü belirgin şekilde ortaya konulan ve sıklıkla tümör tedavisinde kullanılmakta olan anti-VEGF ajanlar, son yıllarda oftalmolojide önce retina sonra ön segment NV hastalıklarında da kullanılmaya başlanmıştır.<sup>49</sup> Endikasyon dışı yapılan

çalışmalarda anti-VEGF antikorların kornea NV'yi durdurmakta etkili oldukları görülmüştür. Halen yeni anti-VEGF ajanlar geliştirilmeye devam edilmektedir.<sup>50</sup>

#### *Anti-vasküler endotelial büyüme faktörü antikorları*

Bevacizumab metastatik kolon kanseri tedavisi için geliştirilen insanlaştırılmış murin monoklonal antikorudur ve VEGF-A'nın tüm izoformlarına bağlanır.<sup>51</sup> Topikal (%1'lik) ve subkonjonktival (2,5 mg/0,1 mL) uygulamaların korneal NV'nin gerilemesi ve korneal greftin devamlılığı üzerine etkili oldukları gösterilmiştir.<sup>52</sup> Bu etki artan doz ile artmaktadır (5 mg/0,2 mL subkonjonktival).<sup>53</sup> Lokal olarak daha konsantre olmasını sağlayan intrastromal enjeksiyonunda özellikle derin korneal vaskülarizasyonu geriletmede başarılı olduğu saptanmıştır.<sup>54</sup>

Ranibizumab VEGF-A'ya karşı üretilen antikorun Fab kısmından oluşmaktadır ve bevacizumaba göre VEGF-A afinitesi daha yüksektir. Ranibizumab ile yapılan çalışmalarda da topikal ve subkonjonktival uygulamaların korneal NV'yi engellemede etkili olduğu görülmüştür.<sup>55,56</sup> Yapılan çalışmalarda ranibizumab'ın bevacizumab ile benzer etkinlikleri olduğu saptanmış olmakla beraber bir çalışmada topikal uygulamada ranibizumabın daha başarılı olduğu belirtilmiştir.<sup>57</sup> Etkinlik farkları muhtemelen moleküllerin büyüklükleri ve korneadan geçebilme özelliklerinden kaynaklanmaktadır.

FD006 VEGF-A afinitesi bevacizumab'tan daha fazla olan yeni bir moleküldür ve korneal NV'yi durdurmakta bevacizumab'a göre etkinliği az da olsa daha iyi bulunmuştur.<sup>58</sup>

Anti-VEGF antikorları ile yapılan hayvan çalışmalarında özellikle hasarın ilk 2 haftasında başlanan anti-VEGF-A tedavisinin, geç başlamaya göre daha etkili olduğu gösterilmiştir.<sup>59,60</sup> NV oluşumunda yeni damar lümenlerini oluşturan endotel hücreleri ilk iki haftanın sonunda %80 oranında perisitlerle kaplanmakta ve matürasyonu tamamlanmaktadır. Bundan sonra VEGF'ye bağlı gelişim sürecinin azalması ve perisitlerin üzerinde anti-VEGF antikorların etkinliğinin azalmasına neden

olmaktadır.<sup>61</sup> Anti-VEGF-A antikorları, VEGF-B, C, D, E ailesini ve VEGF dışı anjiyojenik faktörleri etkilemediğinden etkinliği sınırlıdır.

#### *Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptör antikorları*

Retina hastalıklarında kullanım onayı alan aflibercept (VEGF-Trap R1R2), rekombinant füzyon proteindir.<sup>62</sup> VEGFR-1 ve VEGFR-2'nin ekstraselüler kısımlarının insan Ig'sinin Fc parçası ile birleştirilmesi sonucunda aflibercept oluşmaktadır. Anti-VEGF antikorlarından farklı olarak bu antikor VEGF-A, VEGF-B ve plasental büyüme faktörünü de bağlar.<sup>62</sup>

Hayvan çalışmalarında intraperitoneal ve topikal uygulamalarda afliberceptin korneal NV'yi azalttığı gösterilmiştir.<sup>63</sup> Dohlman ve ark.nın çalışmasında yüksek riskli korneal greftlerde belirgin derecede başarıyı artırmıştır.<sup>64</sup>

#### *Çözünmüş vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörleri*

Ambati ve ark. 2006'da yaptıkları çalışmada, korneanın avasküler halini korumada kornea epitelinden salgılanan çözünmüş (ç) VEGFR-1'in etkili olduğunu göstermişlerdir.<sup>65</sup> çVEGF reseptörleri ortamdaki VEGF'in hücre membranındaki reseptörlere bağlanmasını engellemektedir. Yapılan çalışmalarda çVEGFR-2 ve çVEGFR-3'ün de kornea kaynaklı olduğu ve avasküler korneaya katkıda buldukları gösterilmiştir.<sup>66,67</sup>

#### **1.3. Tirozin Kinaz İnhibitörleri**

Küçük molekül tirozin kinaz inhibitörleri olarak da adlandırılmaktadırlar. Bu moleküller VEGFR-1 VEGFR-2, FLT-3, platelet kaynaklı büyüme faktörü reseptörü [platelet-derived growth factor receptor (PDGFR)], FGF inhibisyonu yaparak etki göstermektedir. VEGF ve PDGF'yi birlikte inhibe eden ajanlar anjiyogenez inhibisyonunda daha etkili olmaktadır.

Küçük molekül multikinaz tirozin inhibitörü midostaurin (PKC412) ile yapılan çalışmada, bu molekülün VEGFR ve PDGF'nin intraselüler enzimatik aktif bölgesine bağlanıp fosforilasyonu artırarak VEGF kaskadını inhibe ettiği gösterilmiştir.<sup>68</sup>

Ruboksistaurin ile yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda, molekülün ERK1/2'yi baskılayarak

retina ve korneada antianjiyojenik aktivite gösterdiği kanıtlanmıştır.<sup>69</sup>

#### 1.4. Matris Metalloproteinaz İnhibitörleri

MMP (kollojenaz, jelatinaz, stromelizin gibi) çinko bağlayan Ca<sup>2+</sup>-bağımlı nötral endopeptidazlardır. Yapılan çalışmalarda MMP-2 (jelatinaz A), MMP-9 (jelatinaz B) ya da MMP-14 enzimi olmayan farelerde NV gelişiminin artmış olduğu gözlenmiştir.<sup>70,71</sup>

Anjiyojenik uyarı oluşumunda jelatinaz B (MMP-9) enziminin ekstraselüler matriksten VEGF salınımını uyararak etki gösterdiği düşünülmektedir. Bazı in vitro çalışmalarda VEGF'nin anjiyojenik etkisini, MMP üretiminin artışı ile sağladığından bahsedilmiştir.<sup>72</sup>

Cox ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, oral doksisisiklin verilmiş olan tavşanlarda lazer ile indüklenmiş korneal NV'nin gerilediği gösterilmiştir.<sup>73</sup>

#### 1.5. Siklosporin

Siklosporinin korneal NV'yi azalttığı hayvan modelleriyle yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Yüksek riskli penetran keratoplasti sonrası subkonjonktival yüksek doz siklosporin implant (LX 201)'in etkinliğini görmek amacı ile planlanmış randomize, çift kör, çok merkezli çalışma faz 3 aşamasındadır.<sup>74</sup>

#### 1.6. VEGF Dışındaki Anjiyogenez Stratejileri

VEGF inhibitörlerinin kullanılması sonrası bazı hastalarda bu ajanlara karşı direnç gelişmesi NV tedavisinde başka yöntem arayışlarına yol açmıştır. Endotelial tip hücreler, HIFs, talidomid, anjiyostatin, endostatin, fumagillin, COX-2 inhibitörleri, Fc endotelin enjeksiyonu, si-RNA bu nedenle araştırılan moleküllerden bazıları olup, gen tedavisinde geliştirilmektedir.<sup>75-77</sup>

Günümüzde anjiyogenezde rol alan faktörlerin sentezine gen tedavisi ile müdahale mümkün hâle gelmiştir. Gen transferi için replikasyon özelliği olmayan viral ve nonviral taşıyıcılar kullanılmaktadır. Adenovirüs taşıyıcı ile sağlanan çVEGFR-1 ve çVEGFR-3 salınımındaki artışın hayvan korneasında NV'yi engellediği gösterilmiştir.<sup>73</sup> Nonviral yöntemler daha güvenlidir, ancak daha kısa etki süreleri vardır. Çift sarmallı small interfe-

ring RNA (siRNA), plazmidlerden daha küçük olup, subkonjonktival enjeksiyon sonrası korneal hücrelerin içine girerek mRNA'lara spesifik olarak bağlanır.<sup>78,79</sup> Anti-VEGF antikollarından farklı olarak siRNA hem ekstraselüler hem intraselüler VEGF hem de VEGF reseptörlerinin etkilerini inhibe etmektedir. Farelerde kornea alkali yanık sonrası subkonjonktival uygulanan siRNA'nın VEGF salınımını azalttığı ve korneal vaskülarizasyon alanını geriletmediği gösterilmiştir.<sup>80</sup>

Anjiyogenezde ana faktör VEGF olsa da tek faktör değildir ve anti-VEGF tedavinin etkinliğini artırmak amacıyla kombine tedavinin faydası olur mu sorusuna yanıt aranmıştır. Jo ve ark., VEGF-A<sub>165</sub>'e karşı geliştirilen bir aptamer olan pegaptanib ile PDGF reseptör-B'ye karşı antikoru birlikte kullanmış ve NV'de monoterapiye göre ciddi azalma göstermişlerdir.<sup>81</sup> PDGF-B hücre büyümesi, bölünmesi ve anjiyogenezde rol alan bir proteindir. Perisitlerin gelişimini destekleyerek vasküler matürasyonun tamamlanmasına katkı sağlayan PDGF-B böylece VEGF'ye yanıtı da azaltmaktadır.<sup>82,83</sup> PDGF-B veya reseptörünün engellendiği deneysel çalışmalarda perisitlerin ve korneal vaskülarizasyonun azaldığı saptanmıştır.<sup>84,85</sup> Renal ve gastrointestinal tümörlerde kullanım endikasyonu olan sunitinib, tirozin kinaz reseptör inhibitörüdür ve VEGFR-1, VEGFR-2 ve PDGF-B'nin hücre içi sinyal yollarını engeller. Pérez-Santonja ve ark., topikal bevacizumab ve sunitinibi karşılaştırmış ve sunitinibin korneal NV'yi durdurmakta yaklaşık 3 kat fazla etkili olduğunu saptamışlardır.<sup>86</sup>

Netrin-1 ve 4 ile SERPINA3K'de kombine etkili tedavi sağlayan yeni ajanlardandır.<sup>87,88</sup> Doğal bir antianjiyojenik faktör olan PEDF sekresyonunu artırır ve VEGF sekresyonunu baskılar.<sup>89</sup> Han ve ark.nın çalışmasında, alkali yanık modelinde 10 gün sonra başlanan netrin-1'in korneal NV'yi engellediği, antiapoptotik, antiinflamatuvar etkilerinin olduğu ve epitel iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiştir.<sup>87</sup>

Ambati ve ark.nın çalışmasında, korneanın avasküler fenotipinin korunmasında çözünebilir VEGF reseptör-1 (sVEGFR-1) veya sflt-1'in rolü vurgulanmıştır. PAX6 mutasyonu olan aniridili

hastalarda Sflt-1'in olmadığı ve buna bağlı olarak hastalarda spontan korneal NV geliştiği gösterilmiştir. Sflt-1 ile yapılacak gen tedavisinin bu hastalarda fayda sağlayabileceği söylenmiştir.<sup>65</sup> Beş yıl önce Lai ve ark., tavşan modelinde rekombinan adenovirüs aracılı sflt-1 aktarımı ile korneal NV'nin gerilediğini göstermişlerdir.<sup>90</sup>

Yapılan gen tedavisi çalışmalarında; dekorin, anjiyostatin, PEDF, vazohibin-1 ve VEGF reseptörleri Flt-1 ve Flk-1 gibi VEGF'yi hedef alan transgenler kullanılmıştır.<sup>91-93</sup>

## 2. CERRAHI

### 2.1. Lazer Ablasyon

Argon veya YAG lazer kullanılarak kan damarları koagüle edilir, doku ablasyonu yapılarak kan damarları tıkanır. Bu işlem yapılırken doku hasarı yapmaktan kaçınılmalıdır. Korneal hemoraji ve doku incelmeye sebep olabilir. Afferent damarların oklüde edilmesi damarların dokudaki seyri, boyutu ve debisine bağlı olarak her zaman başarılı olmayabilir. Paradoksal olarak termal hasar inflamatuvar yanıtı tetikleyerek NV'yi artırabilir. Damar lümeninin rekanalize olması sık rastlanan bir durum olup yeni şantlar oluşabilir.<sup>94</sup>

Fotodinamik tedavide, fotosensitiv madde enjeksiyonu sonrası kornea damarları lazer ışını ile aktive edilir, damar lümeninde oluşan reaktif oksijen molekülleri endotel ve bazal membranda apoptozu ve nekrozu indükleyerek etki eder. Etkili olmasına rağmen potansiyel komplikasyonları ve yüksek maliyeti sebebiyle kısıtlı klinik kullanıma sahiptir.<sup>95,96</sup>

### 2.2. Diyatermi, Koterizasyon

Limbusu besleyen damara ince bir iğne ile ulaşarak unipolar diyatermi ya da elektrokoter kullanılarak damar oklüzyonu sağlanır. Stromal opasite ve intrastromal hemoraji bildirilmiş komplikasyonlarıdır. Kollateral damar oluşumu ve rekanalizasyon olabileceği için işlemi tekrar etmek gerekebilmektedir.<sup>94</sup>

### 2.3. Oküler Yüzey Rekonstrüksiyonu

Tedaviye yanıtı olmayan hastalarda anjiyojenik uyarıyı azaltmak için konjonktival, limbal greft veya

amniyotik membran transplantasyonu ile oküler yüzeyi düzeltme yöntemi de araştırılmaktadır.

Amniyotik membran kornea epiteli bazal membranına benzer şekilde Tip 4 ve Tip 7 kollajen, fibronektin, laminin, fibroblast ve diğer büyüme faktörlerini içermektedir. Kim ve ark.nın çalışmasında, hasarlanmış tavşan kornealarında amniyotik membran transplantasyonun korneal NV gelişme sıklığını azalttığı gösterilmiştir.<sup>97</sup>

Tek taraflı veya iki taraflı oküler yüzey hastalıklarında otogreft ve allogreft limbal konjonktival transplantasyonun korneal NV'yi azalttığı gösterilmiştir.<sup>98</sup> Ayrıca amniyotik membran transplantasyonun da antianjiyojenik özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir.<sup>99</sup> Zakaria ve ark.nın çalışmasında, bilateral korneal NV'si olan hastalarda kadavra ya da donörden elde edilerek kültüre edilmiş limbal epitelium transplantasyonu [cultured limbal epithelial transplantation (CLET)], tek taraflı korneal NV'si olan hastalarda otolog CLET yapılmış, 1 yıllık izlemde epitelizasyonun arttığı, vaskülarizasyon ve konjonktivalizasyonun azaldığı gösterilmiştir.<sup>100</sup>

### Çıkar Çatışması

*Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması veya finansal destek bildirmemiştir.*

### Yazar Katkıları

**Fikir/Kavram:** *Araştırma ve/veya makalenin hipotezini veya fikrini oluşturmak:* Nilgün Yıldırım, **Tasarım:** *Sonuçlara ulaşılmasını sağlayacak yöntemi tasarlamak:* Nilgün Yıldırım, **Denetleme/Danışmanlık:** *Araştırmanın/çalışmanın yürütülmesini organize etmek, ilerlemesini gözetmek ve sorumluluğunu almak:* Nilgün Yıldırım, Kübra Küçükiba, **Veri Toplama ve/veya İşleme:** *Hastaların takibi, ilgili biyolojik materyallerin toplanması, verilerin düzenlenmesi ve raporlanması, deneylerin yapılması için sorumluluk almak:* Kübra Küçükiba, **Analiz ve/veya Yorum:** *Bulguların mantıklı bir şekilde değerlendirilerek sonuçlandırılmasında sorumluluk almak:* Nilgün Yıldırım, Kübra Küçükiba, **Kaynak Taraması:** *Çalışma için gerekli kaynak taramasında sorumluluk almak:* Kübra Küçükiba, **Makalenin Yazımı:** *Çalışmanın tamamının ya da önemli bölümlerinin yazılmasında sorumluluk almak:* Nilgün Yıldırım, Kübra Küçükiba.

## KAYNAKLAR

- Hsu CC, Chang HM, Lin TC, Hung KH, Chien KH, Chen SY, et al. Corneal neovascularization and contemporary antiangiogenic therapeutics. *J Chin Med Assoc* 2015;78(6):323-30.
- Benayoun Y, Petellat F, Leclerc O, Dost L, Dallaudière B, Reddy C, et al. [Current treatments for corneal neovascularization]. *J Fr Ophthalmol* 2015;38(10):996-1008.
- Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med* 2003;9(6):653-60.
- Ellenberg D, Azar DT, Hallak JA, Tobaigy F, Han KY, Jain S, et al. Novel aspects of corneal angiogenic and lymphangiogenic privilege. *Prog Retin Eye* 2010;29(3):208-48.
- Colby KA, Adamis AP. Prevalence of corneal neovascularization in a general eye service population. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:S593.
- Liesegang TJ. Physiologic changes of the cornea with contact lens wear. *CLAO J* 2002;28(1):12-27.
- Benayoun Y, Casse G, Forte R, Dallaudière B, Adenis JP, Robert PY. [Corneal neovascularization: epidemiological, physiopathological, and clinical features]. *J Fr Ophthalmol* 2013;36(7):627-39.
- Lockwood C, Stern C. Interventions for the treatment of trachoma: an overview of Cochrane systematic reviews. *Int J Nurs Pract* 2014;20(6):709-21.
- Erdem F, Gündoğdu M. [Angiogenesis and antiangiogenic therapy]. *AÜTD* 2005;37(1):1-6.
- Clauss M. Molecular biology of the VEGF and the VEGF receptor family. *Semin Thromb Hemost* 2000;26(5):561-9.
- Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9(6):669-76.
- Zhang HT, Scott PA, Morbidelli L, Peak S, Moore J, Turley H, et al. The 121 amino acid isoform of vascular endothelial growth factor is more strongly tumorigenic than other splice variants in vivo. *Br J Cancer* 2000;83(1):63-8.
- Saaristo A, Karpanen T, Alitalo K. Mechanisms of angiogenesis and their use in the inhibition of tumor growth and metastasis. *Oncogene* 2000;19(53):6122-9.
- van Meurs M, Kumpers P, Ligtenberg JJ, Meertens JH, Molema G, Zijlstra JG. Bench-to-bedside review: Angiopoietin signalling in critical illness - a future target? *Crit Care* 2009;13(2):207.
- Yuan HT, Venkatesha S, Chan B, Deutsch U, Mammoto T, Sukhatme VP, et al. Activation of the orphan endothelial receptor Tie1 modifies Tie2-mediated intra-cellular signaling and cell survival. *FASEB J* 2007;21(12):3171-83.
- Sundberg C, Kowanetz M, Brown LF, Detmar M, Dvorak HF. Stable expression of angiopoietin-1 and other markers by cultured pericytes: phenotypic similarities to a subpopulation of cells in maturing vessels during later stages of angiogenesis in vivo. *Lab Invest* 2002;82(4):387-401.
- Gamble JR, Drew J, Trezise L, Underwood A, Parsons M, Kasminkas L, et al. Angiopoietin-1 is an antipermeability and anti-inflammatory agent in vitro and targets cell junctions. *Circ Res* 2000;87(7):603-7.
- Tait CR, Jones PF. Angiopoietins in tumours: the angiogenic switch. *J Pathol* 2004;204(1):1-10.
- Cao Y, Sonveaux P, Liu S, Zhao Y, Mi J, Clary BM, et al. Systemic overexpression of angiopoietin-2 promotes tumor microvessel regression and inhibits angiogenesis and tumor growth. *Cancer Res* 2007;67(8):3835-44.
- Binétruy-Tournaire R, Demangel C, Malavaud B, Vassy R, Rouyre S, Kraemer M, et al. Identification of a peptide blocking vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated angiogenesis. *EMBO J* 2000;19(7):1525-33.
- Yan L, Wu W, Wang Z, Li C, Lu X, Duan H, et al. Comparative study of the effects of recombinant human epidermal growth factor and basic fibroblast growth factor on corneal epithelial wound healing and neovascularization in vivo and in vitro. *Ophthalmic Res* 2013;49(3):150-60.
- Chang JH, Gabison EE, Kato T, Azar DT. Corneal neovascularization. *Curr Opin Ophthalmol* 2001;12(4):242-9.
- Lu PC, Ye H, Maeda M, Azar DT. Immunolocalization and gene expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in inflammation-associated cornea neovascularization. *Exp Eye Res* 2000;70(4):419-28.
- Mohan R, Sivak J, Ashton P, Russo LA, Pham BQ, Kasahara N, et al. Curcuminoids inhibit the angiogenic response stimulated by fibroblast growth factor-2, including expression of matrix metalloproteinase gelatinase B. *J Biol Chem* 2000;275(14):10405-12.
- Singh N, Amin S, Richter E, Rashid S, Scoglietti V, Jani PD, et al. Flt-1 intraceptors inhibit hypoxia-induced VEGF expression in vitro and corneal neovascularization in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(5):1647-52.
- Uehara H, Cho Y, Simonis J, Cahoon J, Archer B, Luo L, et al. Dual suppression of hemangiogenesis and lymphangiogenesis by splice-shifting morpholinos targeting vascular endothelial growth factor receptor 2 (KDR). *FASEB J* 2013;27(1):76-85.
- Singh N, Tiem M, Watkins R, Cho YK, Wang Y, Olsen T, et al. Soluble vascular endothelial growth factor receptor 3 is essential for corneal alymphaticity. *Blood* 2013;121(20):4242-9.
- Ma DH, Chen HC, Lai JY, Sun CC, Wang SF, Lin KK, et al. Matrix revolution: molecular mechanism for inflammatory corneal neovascularization and restoration of corneal avascularity by epithelial stem cell transplantation. *Ocul Surf* 2009;7(3):128-44.
- Kameishi S, Sugiyama H, Yamato M, Sado Y, Namiki H, Kato T, et al. Remodeling of epithelial cells and basement membranes in a corneal deficiency model with long-term follow-up. *Lab Invest* 2015;95(2):168-79.
- Chang JH, Azar DT, Hernandez-Quintela HC, Lin T, Kato T, Kure T et al. [Characterization of angiostatin in the mouse cornea]. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: S832.
- Ferreras M, Felbor U, Lenhard T, Olsen BR, Delaissé J. Generation and degradation of human endostatin proteins by various proteins by various proteinases. *FEBS Lett* 2000; 486(3):247-51.
- Shin SH, Kim JC, Chang SI, Lee H, Chung SI. Recombinant kringle 1-3 of plasminogen inhibits rabbit corneal angiogenesis induced by angiogenin. *Cornea* 2000;19(2):212-7.
- Gabison E, Chang JH, Hernández-Quintela E, Javier J, Lu PC, Ye H, et al. Anti-angiogenic role of angiostatin during corneal wound healing. *Exp Eye Res* 2004;78(3):579-89.
- Ambati BK, Jousen AM, Ambati J, Moromizato Y, Guha C, Javaherian K, et al. Angiostatin inhibits and regresses corneal neovascularization. *Arch Ophthalmol* 2002; 120(8):1063-8.
- Abdiu O, Van Setten G. Antiangiogenic activity in tears: presence of pigment-epithelium-derived factor. New insights and preliminary results. *Ophthalmic Res* 2008;40(1):16-8.
- Meyer C, Notari L, Becerra SP. Mapping the type 1 collagen-binding site on pigment epithelium-derived factor. Implications for its antiangiogenic activity. *J Biol Chem* 2002; 277(47):45400-7.

39. Lin HC, Chang JH, Jain S, Gabison EE, Kure T, Kato T, et al. Matrilysin cleavage of corneal collagen type XVIII NC1 domain and generation of a 28-kDa fragment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(11):2517-24.
40. Kim YM, Hwang S, Kim YM, 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(31):27872-9.
41. Cursiefen C, Maruyama K, Bock F, Saban D, Sadrai Z, Lawler J, et al. Thrombospondin 1 inhibits inflammatory lymphangiogenesis by CD36 ligation on monocytes. *J Exp Med* 2011;208(5):1083-92.
42. Makino Y, Cao R, Svensson K, Bertilsson G, Asman M, Tanaka H, et al. Inhibitory PAS domain protein is a negative regulator of hypoxia-inducible gene expression. *Nature* 2001;414(6863):550-4.
43. Maddula S, Davis DK, Maddula S, Burrow MK, Ambati BK. Horizons in therapy for corneal angiogenesis. *Ophthalmology* 2011;118(3):591-9.
44. Gillies MC, Kuzniarz M, Craig J, Ball M, Luo W, Simpson JM. Intravitreal triamcinolone-induced elevated intraocular pressure is associated with the development of posterior subcapsular cataract. *Ophthalmology* 2005;112(1):139-43.
45. Dempke W, Rie C, Grothey A, Schmoll HJ. Cyclooxygenase-2: a novel target for cancer chemotherapy? *J Cancer Res Clin Oncol* 2001;127(7):411-7.
46. Fosslien E. Review: molecular pathology of cyclooxygenase-2 in cancer induced angiogenesis. *Ann Clin Lab Sci* 2001;31(4):325-48.
47. Takahashi K, Saishin Y, Saishin Y, Mori K, Ando A, Yamamoto S, et al. Topical nepafenac inhibits ocular neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(1):409-15.
48. Edelman JL, Castro MR, Wen Y. Correlation of VEGF expression by leukocytes with growth and regression of blood vessels in the rat cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(6):1112-23.
49. Tufail A, Patel PJ, Egan C, Hykin P, da Cruz L, Gregor Z, et al. Bevacizumab for neovascular age related macular degeneration (ABC Trial): multicentre randomised double masked study. *BMJ* 2010;340:c2459.
50. Dastjerdi MH, Al-Arfaj KM, Nallasamy N, Hamrah P, Jurkunas UV, Pineda R 2nd, et al. Topical bevacizumab in the treatment of corneal neovascularization: results of a prospective, open-label, noncomparative study. *Arch Ophthalmol* 2009;127(4):381-9.
51. Ferrara N, Hillan KJ, Novotny W. Bevacizumab (Avastin), a humanized anti-VEGF monoclonal antibody for cancer therapy. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;333(2):328-35.
52. Dastjerdi MH, Saban DR, Okanobo A, Nallasamy N, Sadrai Z, Chauhan SK, et al. Effects of topical and subconjunctival bevacizumab in high-risk corneal transplant survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(5):2411-7.
53. Chu HS, Hu FR, Yang CM, Yeh PT, Chen YM, Hou YC, et al. Subconjunctival injection of bevacizumab in the treatment of corneal neovascularization associated with lipid deposition. *Cornea* 2011;30(1):60-6.
54. Hashemian MN, Zare MA, Rahimi F, Mohammadpour M. Deep intrastromal bevacizumab injection for management of corneal stromal vascularization after deep anterior lamellar keratoplasty, a novel technique. *Cornea* 2011;30(2):215-8.
55. Türkcü FM, Cinar Y, Türkcü G, Sahin A, Cingü AK, Yüksel H, et al. Topical and subconjunctival ranibizumab (lucentis) for corneal neovascularization in experimental rat model. *Cutan Ocul Toxicol* 2014;33(2):138-44.
56. Dursun A, Arici MK, Dursun F, Ozec AV, Toker MI, Erdogan H, et al. Comparison of the effects of bevacizumab and ranibizumab injection on corneal angiogenesis in an alkali burn induced model. *Int J Ophthalmol* 2012;5(4):448-51.
57. Stevenson W, Cheng SF, Dastjerdi MH, Ferrari G, Dana R. Corneal neovascularization and the utility of topical VEGF inhibition: ranibizumab (Lucentis) vs bevacizumab (Avastin). *Ocul Surf* 2012;10(2):67-83.
58. Wang Q, Yang J, Tang K, Luo L, Wang L, Tian L, et al. Pharmacological characteristics and efficacy of a novel anti-angiogenic antibody FD006 in corneal neovascularization. *BMC Biotechnol* 2014;14:17.
59. Ko BY, Kim YS, Baek SG, Lee GW, Kim JM, Jean WS, et al. Inhibition of corneal neovascularization by subconjunctival and topical bevacizumab and sunitinib in a rabbit model. *Cornea* 2013;32(5):689-95.
60. Lin CT, Hu FR, Kuo KT, Chen YM, Chu HS, Lin YH, et al. The different effects of early and late bevacizumab (Avastin) injection on inhibiting corneal neovascularization and conjunctivalization in rabbit limbal insufficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(12):6277-85.
61. Cursiefen C, Hofmann-Rummelt C, Küchle M, Schlötzer-Schrehardt U. Pericyte recruitment in human corneal angiogenesis: an ultrastructural study with clinicopathological correlation. *Br J Ophthalmol* 2003;87(1):101-6.
62. Verner-Cole EA, Davis SJ, Lauer AK. Aflibercept for the treatment of neovascular age-related macular degeneration. *Drugs Today (Barc)* 2012;48(5):317-29.
63. Park YR, Chung SK. Inhibitory effect of topical aflibercept on corneal neovascularization in rabbits. *Cornea* 2015;34(10):1303-7.
64. Dohlman TH, Omoto M, Hua J, Stevenson W, Lee SM, Chauhan SK, et al. VEGF-trap aflibercept significantly improves long-term graft survival in high-risk corneal transplantation. *Transplantation* 2015;99(4):678-86.
65. Ambati BK, Nozaki M, Singh N, Takeda A, Jani PD, Suthar T, et al. Corneal avascularity is due to soluble VEGF receptor-1. *Nature* 2006;443(7114):993-7.
66. Pavlakovic H, Becker J, Albuquerque R, Witting J, Ambati J. Soluble VEGFR-2: an anti-lymphangiogenic variant of VEGF receptors. *Ann N Y Acad Sci* 2010;1207 Suppl 1:E7-15.
67. Singh N, Tiem M, Watkins R, Cho YK, Wang Y, Olsen T, et al. Soluble vascular endothelial growth factor receptor 3 is essential for corneal alymphaticity. *Blood* 2013;121(20):4242-9.
68. Saishin Y, Silva RL, Saishin Y, Callahan K, Schoch C, Ahlheim M, et al. Periocular injection of microspheres containing PKC412 inhibits choroidal neovascularization in a porcine model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(11):4989-93.
69. Nakamura S, Chikaraishi Y, Tsuruma K, Shimazawa M, Hara H. Ruboxistaurin, a PKCbeta inhibitor, inhibits retinal neovascularization via suppression of phosphorylation of ERK1/2 and Akt. *Exp Eye Res* 2009;90(1):137-45.
70. Qi JH, Ebrahim Q, Moore N, Murphy G, Claesson-Welsh L, Bond M, et al. A novel function for tissue inhibitor of metalloproteinases-3 (TIMP3): inhibition of angiogenesis by blockage of VEGF binding to VEGF receptor-2. *Nat Med* 2003;9(4):407-15.
71. Seo DW, Li H, Guedez L, Wingfield PT, Diaz T, Salloum R, et al. TIMP-2 mediated inhibition of angiogenesis: an MMP-independent mechanism. *Cell* 2003;114(2):171-80.
72. Lamoreaux WJ, Fitzgerald ME, Reiner A, Hasty KA, Charles ST. Vascular endothelial growth factor increases release of gelatinase A and decreases release of tissue inhibitor of metalloproteinases by microvascular endothelial cells in vitro. *Microvasc Res* 1998;55(1):29-42.
73. Cox CA, Amaral J, Salloum R, Guedez L, Reid TW, Jaworski C, et al. Doxycycline's effect on ocular angiogenesis: an in vivo analysis. *Ophthalmology* 2010;117(9):1782-91.
74. Bock F, Matthaer M, Reinhard T, Böhringer D, Christoph J, Ganslandt T, et al. High-dose subconjunctival cyclosporine a implants do not affect corneal neovascularization after high-risk keratoplasty. *Ophthalmology* 2014;121(9):1677-82.
75. Abdullah SE, Perez-Soler R. Mechanisms of resistance to vascular endothelial growth factor blockade. *Cancer* 2012;118(14):3455-67.

76. Yoshida J, Wicks RT, Zambrano AI, Tyler BM, Javaherian K, Grossman R, et al. Inhibition of Corneal Neovascularization by Subconjunctival Injection of Fc-Endostatin, a Novel Inhibitor of Angiogenesis. *J Ophthalmol* 2015;2015:137136.
77. Guzman-Aranguéz A, Loma P, Pintor J. Small-interfering RNAs (siRNAs) as a promising tool for ocular therapy. *Br J Pharmacol* 2013;170(4):730-47.
78. Iriyama A, Usui T, Yanagi Y, Amano S, Oba M, Miyata K, et al. Gene transfer using micellar nanovectors inhibits corneal neovascularization in vivo. *Cornea* 2011;30(12):1423-7.
79. Fattal E, Bochot A. Ocular delivery of nucleic acids: antisense oligonucleotides, aptamers and siRNA. *Adv Drug Deliv Rev* 2006;58(11):1203-23.
80. Kim B, Tang Q, Biswas PS, Xu J, Schiffelers RM, Xie FY, et al. Inhibition of ocular angiogenesis by siRNA targeting vascular endothelial growth factor pathway genes: therapeutic strategy for herpetic stromal keratitis. *Am J Pathol* 2004;165(6):2177-85.
81. Zuo L, Fan Y, Wang F, Gu Q, Xu X. A siRNA targeting vascular endothelial growth factor-A inhibiting experimental corneal neovascularization. *Curr Eye Res* 2010;35(5):375-84.
82. Jo N, Mailhos C, Ju M, Cheung E, Bradley J, Nishijima K, et al. Inhibition of platelet-derived growth factor B signaling enhances the efficacy of anti-vascular endothelial growth factor therapy in multiple models of ocular neovascularization. *Am J Pathol* 2006;168(6):2036-53.
83. Singh V, Barbosa FL, Torricelli AA, Santhiago MR, Wilson SE. Transforming growth factor  $\beta$  and platelet-derived growth factor modulation of myofibroblast development from corneal fibroblasts in vitro. *Exp Eye Res* 2014;120:152-60.
84. Chaoran Z, Zhirong L, Gezhi X. Combination of vascular endothelial growth factor receptor/platelet-derived growth factor receptor inhibition markedly improves the antiangiogenic efficacy for advanced stage mouse corneal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2011;249(10):1493-501.
85. Dell S, Peters S, Mütter P, Kociok N, Jousen AM. The role of PDGF receptor inhibitors and PI3-kinase signaling in the pathogenesis of corneal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(5):1928-37.
86. Pérez-Santonja JJ, Campos-Mollo E, Lledó-Riquelme M, Javaloy J, Alió JL. Inhibition of corneal neovascularization by topical bevacizumab (Anti-VEGF) and Sunitinib (Anti-VEGF and Anti-PDGF) in an animal model. *Am J Ophthalmol* 2010;150(4):519-28.e1.
87. Han Y, Shao Y, Lin Z, Qu YL, Wang H, Zhou Y, et al. Netrin-1 simultaneously suppresses corneal inflammation and neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(3):1285-95.
88. Liu X, Lin Z, Zhou T, Zong R, He H, Liu Z, et al. Anti-angiogenic and anti-inflammatory effects of SERPINA3K on corneal injury. *PLoS One* 2011;6(1):e16712.
89. Duh EJ, Yang HS, Suzuma I, Miyagi M, Youngman E, Mori K, et al. Pigment epithelium-derived factor suppresses ischemia-induced retinal neovascularization and VEGF-induced migration and growth. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(3):821-9.
90. Lai CM, Brankov M, Zaknich T, Lai YK, Shen WY, Constable IJ, et al. Inhibition of angiogenesis by adenovirus-mediated sFlt-1 expression in a rat model of corneal neovascularization. *Hum Gene Ther* 2001;12(10):1299-310.
91. Cheng HC, Yeh SI, Tsao YP, Kuo PC. Subconjunctival injection of recombinant AAV-angiostatin ameliorates alkali burn induced corneal angiogenesis. *Mol Vis* 2007;13:2344-52.
92. Jani PD, Singh N, Jenkins C, Raghava S, Mo Y, Amin S, et al. Nanoparticles sustain expression of Flt intraceptors in the cornea and inhibit injury-induced corneal angiogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(5):2030-6.
93. Yu H, Wu J, Li H, Wang Z, Chen X, Tian Y, et al. Inhibition of corneal neovascularization by recombinant adenovirus-mediated sFlk-1 expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;361(4):946-52.
94. Faraj LA, Elalfy MS, Said DG, Dua HS. Fine needle diathermy occlusion of corneal vessels. *Br J Ophthalmol* 2014;98(9):1287-90.
95. Díaz-Dávalos CD, Carrasco-Quiroz A, Rivera-Díez D. [Neovascularization corneal regression in patients treated with photodynamic therapy with verteporfin]. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2016;54(2):164-9.
96. Gohto Y, Obana A, Kanai M, Nagata S, Nakajima S, Miki T. Treatment parameters for selective occlusion of experimental corneal neovascularization by photodynamic therapy using a water soluble photosensitizer, ATX-S1(Na). *Exp Eye Res* 2001;72(1):13-22.
97. Kim JC, Tseng SC. The effects on inhibition of corneal neovascularization after human amniotic membrane transplantation in severely damaged rabbit corneas. *Korean J Ophthalmol* 1995;9(1):32-46.
98. Scocco C, Kwitko S, Rymer S, Marinho D, Bocaccio F, Lindenmeyer R. HLA-matched living-related conjunctival limbal allograft for bilateral ocular surface disorders: long-term results. *Arq Bras Oftalmol* 2008;71(6):781-7.
99. Kotomin I, Valtink M, Hofmann K, Frenzel A, Morawietz H, Werner C, et al. Sutureless fixation of amniotic membrane for therapy of ocular surface disorders. *PLoS One* 2015;10(5):e0125035.
100. Zakaria N. Cultivated stem cell transplantation for the treatment of limbal stem cell deficiency (LECT). *Clin Ophthalmol* 2008;2(3):489-502.