Archive of SID

Physiology and Pharmacology, 13 (2), 209 - 215
Summer 2009 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Induction of experimental keratoconus in mice using collagenase

Farhad Adhamy Moghadam [1], Mahsa Hadipour Jahromy [2*], Simin Fazelipour [3], Shahrzad Khakpour [4], MohammadSadegh Younesian [5]

1. Ophthalmology Department, Faculty of Medicine, Tehran Medical Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Pharmacology Department, Faculty of Medicine, Tehran Medical Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Anatomy Department, Faculty of Medicine, Tehran Medical Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
4. Physiology Department, Faculty of Medicine, Tehran medical Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
5. Faculty of Medicine, Tehran Medical Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 19 April 2009 **Revised: 18 Jul 2009** **Accepted: 27 Jul 2009**

Abstract

Introduction: Keratoconus is a relatively common disease of cornea in which structural changes within the cornea cause its thinning, change of shape and scaring in the central portion. So far, few therapeutic methods and drug treatments are available for keratoconus due to both lack of established animal models and limitation of research in humans because of ethical issues. In the present study, keratoconus was experimentally induced in mice with special focus on the role of collagen in histopathological mechanisms of the disease.

Methods: Collagenase (1, 3 and 6 mg/ml) was injected into the cornea of male mice. Both macroscopic and microscopic evaluations were performed in short periods of 1, 3 and 5 days after injection. In macroscopic observations, eyes were graded according to the intensity of keratoconus. Microscopic observations consisted of cornea layers evaluations, presence of inflammation, changes of the cornea thickness, epithelium thickness and collagen and stroma changes.

Results: Most corneal damage and assuming of a more conical shape by cornea were observed after injection of 6 mg/ml collagenase. In fact, collagenase at 3 and 6 mg/ml dose dependently caused deformity and opacity of cornea. Severe damage to collagen fibers, thinness of cornea and epithelium and in some cases corneal rupture were observed with high dose of collagenase.

Conclusion: The results of the present study indicate that injection of 6 mg/ml of collagenase in the cornea of male mice induces keratoconus and this can be considered as a potential animal of the disease. Further investigations are needed to prove the validity of this animal model of keratoconus.

Keywords: Keratoconus, collagenase, experimental model, mice.

* Corresponding author e- mail: Jahromymh@yahoo. com
Available online @: www.phypha.ir/ppj

www.SID.ir

Archive of SID

فیزیولوژی و فارماکولوژی

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۳ (۲)، ۲۰۹ – ۲۱۵
تابستان ۱۳۸۸

ایجاد مدل تجربی کراتوکونوس در موش سوری با استفاده از کلاژناز

فرهاد ادهمی مقدم[۱]، مهسا هادی‌پور جهرمی[۲*]، سیمین فاضلی‌پور[۳]، شهرزاد خاکپور[۴]، محمد صادق یونسیان[۵]
۱. گروه چشم پزشکی دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران، ایران
۲. گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران، ایران
۳. گروه آناتومی دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران، ایران
۴. گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران، ایران
۵. دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران، ایران

دریافت: ۳۰ فروردین ۱۳۸۸ بازبینی: ۲۷ تیر ۱۳۸۸ پذیرش: ۵ مرداد ۱۳۸۸

چکیده

مقدمه: کراتوکونوس یا قوز قرنیه یک بیماری نسبتا شایع قرنیه است که تغییرات ساختاری آن منجر به نازکی پیش رونده قرنیه، مخروطی شدن و نهایتا ایجاد زخم در مرکز آن می‌گردد. با توجه به اندک بودن مطالعات در روند پیشرفت این بیماری در انسان بدلیل ملاحظات اخلاقی، و عدم وجود یک مدل حیوانی پذیرفته شده و سریع جهت ایجاد کراتوکونوس تجربی، امکان بررسی روش‌ها و درمان‌های دارویی موثر، تاکنون میسر نبوده است. لذا این تحقیق در جهت ایجاد مدل آزمایشگاهی کراتوکونوس با تمرکز بر نقش کلاژن در مکانیسم‌های هیستوپاتولوژیکی بر روی حیوانات آزمایشگاهی طراحی شده‌است.

روش‌ها: در این آزمایشات از تزریق داخل قرنیه‌ای کلاژناز با غلظت‌های ۱، ۳ و ۶ میلی‌گرم / میلی‌لیتر در موش‌های سفید آزمایشگاهی کوچک نر استفاده گردید. بررسی‌های ماکروسکپی و میکروسکپی در دوره‌های کوتاه مدت یک، سه و پنج روزه، طراحی گردید. در مشاهدات ماکروسکپی، چشم‌ها از نظر شدت کراتوکونوس، تحت عنوان امتیاز بالینی، درجه‌بندی شدند. مشاهدات میکروسکپی شامل بررسی کامل لایه‌های قرنیه، وجود التهاب، تغییر ضخامت کل قرنیه، ضخامت اپیتلیوم و تغییرات کلاژن و استروما می‌باشند.

یافته‌ها: بیشترین میزان آسیب به قرنیه و مخروطی شدن ظاهری آن با دوز ۶ میلی‌گرم / میلی‌لیتر مشاهده شد. در واقع، کلاژناز در غلظت‌های ۳ و ۶ میلی‌گرم / کیلوگرم بطور وابسته به دوز باعث تغییر شکل و کدورت قرنیه گردید، بطوری‌که بیشترین میزان آسیب به رشته‌های کلاژن، نازکی قرنیه و اپیتلیوم و پارگی قرنیه در برخی موارد، با دوز ۶ میلی‌گرم / میلی‌لیتر مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که کراتوکونوس ناشی از تزریق دوز ۶ میلی‌گرم / میلی‌لیتر کلاژناز در موش سوری نر می‌تواند بعنوان یک مدل حیوانی بالقوه برای مطالعات کراتوکونوس در نظر گرفته‌شود. برای اثبات جایگزینی آن برای کراتوکونوس انسانی مطالعات بیشتری پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: کراتوکونوس، کلاژناز، مدل آزمایشگاهی، موش سوری

مقدمه

قرنیه یک بافت فاقد عروق و شفاف است که در افراد بالغ به طور متوسط از ضخامت ۰/۵۲ میلی متر در مرکز و ۰/۶۵ میلی‌متر در پیرامون برخوردار است. از قدام به خلف، قرنیه دارای پنج لایه مجزای: ۱- اپی تلیوم ۲- لایه بومن (Bowman's layer) ۳- استروما ۴- غشای دسمه (Desemet's membrane) ۵- اندوتلیوم می‌باشد [۱و۲].

قوز قرنیه یا کراتوکونوس یک بیماری غیرالتهابی چشم است

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: Jahromymh@yahoo. com
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

www.SID.ir

Archive of SID

که به نام قرنیه مخروطی نیز خوانده می‌شود، زیرا در این بیماری، قرنیه در ناحیه مرکزی یا در اطراف مرکز دچار نازکی و برجستگی پیشرونده شده و قرنیه شکل مخروط را به خود می‌گیرد. این بیماری ممکن است ژنتیکی باشد، اما معمولاً در سنین بلوغ یا مدت کمی پس از آن تظاهر می‌کند و تا حدود ۸-۷ سال به طور آهسته پیشرفت می‌کند تا بیماری رشد کامل خود را به دست آورد و سپس در یک حالت ثابت باقی می‌ماند. تشخیص کراتوکونوس اغلب آسان نیست، ممکن است کاهش بینایی در یک چشم به ظاهر سالم وجود داشته باشد که معمولاً در زمان بلوغ اتفاق می‌افتد. احتمال افزایش نزدیک بینی و آستیگماتیسم وجود دارد و بیمار ممکن است از دیدن هاله اطراف منبع نور شکایت داشته باشد [۱و۲و۱۴].

در کراتوکونوس، تغییرات هیستوپاتولوژیک ابتدایی در مراحل اولیه بیماری به صورت گسیختگی و خرد شدن موضعی لایه بومن و اپی تلیوم لایه بازال در ناحیه مخروط می‌باشد. اپی تلیوم قرنیه ممکن است نامنظم بوده و در ناحیه مخروط نازک شده باشد و فیبریلاسیون قدام استروما دیده شود. سپس بتدریج لایه مرکزی قرنیه نازک شده و تخریب لایه بومن و زخم در استروما بارز گردد. از بین رفتن لایه نازک کلاژن Lamellae که توسط مواد گرانولی حاوی پلی ساکاریدها و گلیکوپروتئین‌ها احاطه شده، نیز اتفاق می‌افتد. در مراحل پیشرفته بیماری، بخش‌های مرکزی غشای دسمه پاره شده و این پارگی باعث ادم ناگهانی قرنیه و پارگی عمیق آن می‌شود [۱و ۲ و ۳ و۶].

تنوع زیادی از ناهنجاری‌های بیوشیمیایی در قرنیه‌های دارای کراتوکونوس گزارش شده است که در برخی مطالعات، کاهش اتصالات کلاژن و وجود ناهنجاری در پروتئوگلیکانها که خود باعث متابولیسم غیرطبیعی آن در کراتوسیت میگردد، گزارش شده است [۳و ۵و ۱۷]. فعالیت‌های کلاژنولیتیک محیط قرنیه انسان بسیار پیچیده بوده و مطالعات اخیر بدنبال بررسی نقش انواع ماتریکس متالوپروتئینازهای(Matrix Metalloproteinase; MMP) آندوژن، تغییرات ظاهری و غالب در قرنیه کراتوکونیک را بعلت افزایش فعالیت کلاژناز MMP-13 ،کاتپسین K و تریپسین -۲ ذکر نموده‌اند که بیانگر اهمیت تخریب داخل سلولی و خارج سلولی کلاژن در قرنیه می‌باشد. نهایتا از دست رفتن کلاژن عامل نازک شدن استروما در قرنیه و ایجاد کراتوکونوس است [۸]. اگرچه انواع دیگر آن نظیر MMP-2, MMP-8 ,MMP-9 در حفظ و نگهداری شکل ظاهری استروما در قرنیه و تغییر شکل مجدد آن نقش دارند [۱۰،۸].

کراتوکونوس تاکنون در حیواناتی نظیر میمون (بطور خودبخود) [۱۲] و موش صحرایی (بدنبال محرومیت از ویتامین آ) [۹] مشاهده شده است، لیکن احتمال بروز آن بسیار نادر و روند آن بسیار آهسته گزارش شده است. القای ژنتیکی کراتوکونوس نیز در برخی نژاد موشهای سوری گزارش شده است [۱۳، ۱۶] .

با توجه به اندک بودن مطالعات در روند پیشرفت این بیماری در انسان بدلیل ملاحظات اخلاقی، و عدم وجود یک مدل حیوانی پذیرفته شده و سریع جهت ایجاد کراتوکونوس تجربی، امکان بررسی روش‌ها و درمان‌های دارویی موثر، تاکنون میسر نبوده است. لذا این تحقیق در جهت ایجاد مدل آزمایشگاهی کراتوکونوس در کوتاه مدت با تمرکز بر نقش کلاژن در مکانیسم‌های هیستوپاتولوژیکی بر روی حیوانات آزمایشگاهی طراحی شده است.

مواد و روش‌ها

در این آزمایشات از موش‌های سفید آزمایشگاهی کوچک نر بالغ نژاد BALB/c استفاده گردید. آزمون در ۹ گروه از حیوانات انجام پذیرفت. تمامی مراحل آزمایشگاهی این مطالعه، مطابق با اظهارات AOVR (Use of Animals in Ophthalmic and Vision Research) در خصوص استفاده از حیوانات در تحقیقات بینایی و چشم پزشکی می‌باشد.

جهت تزریق داخل قرنیه از ماده شیمیایی کلاژناز (Sigma- Aldrich, Steinheim, Germany) با غلظت‌های ۱، ۳ و mg/ml۶ با سر سوزن دندانپزشکی (Germany) 30G و با حجم ۲۰ میکرو لیتر، استفاده شد. دوزهای مورد استفاده بر اساس نتایج حاصل از هر مرحله، تعیین و مورد آزمون قرار می‌گرفت. تمامی تزریقات زیر میکروسکپ لوپ با (بزرگ‌نمایی ۴۰) انجام پذیرفت. جهت بررسی تاثیر سوزن در نتایج، از چشم چپ هر حیوان بعنوان شاهد (تزریق آب مقطر) استفاده شد و چشم راست مورد تزریق کلاژناز قرار گرفت. بسته به نتایج

www.SID.ir

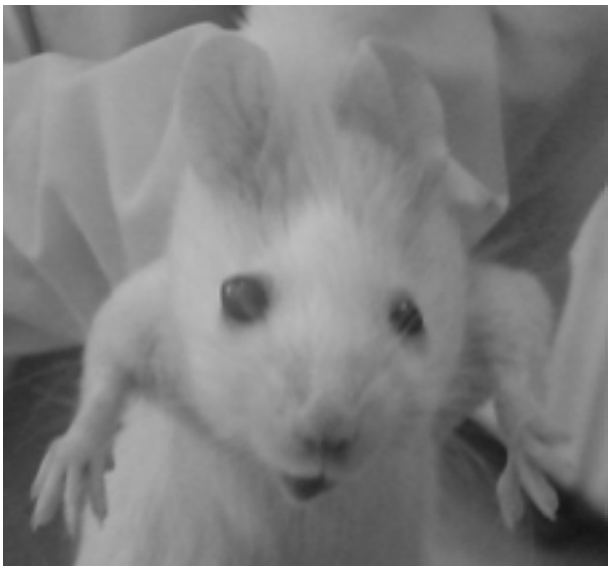
Archive of SID

جدول۱- امتیازات بالینی در مشاهده ماکروسکپی قرنیه پس از تزریق آب مقطر و ماده کلاژناز در دوزهای مختلف و دوره‌های زمانی متفاوت

تغییرات شکل و کدورت قرنیه	امتیاز بالینی	کنترل (آب مقطر)	کلاژناز ۱mg/ml	کلاژناز ۳ mg/ml	کلاژناز ۶mg/ml
پس از یک روز	+	۱/۷	۲/۷	۴/۷	۳/۷
	++	۰	۰	۳/۷	۴/۷
	+++	۰	۰	۰	۰
میانگین امتیاز بالینی		۰/۱۴	۰/۳	۱/۴	۱/۵
پس از سه روز	+	۱/۷	۵/۷	۱/۷	۰
	++	۱/۷	۲/۷	۵/۷	۳/۷
	+++	۰	۰	۱/۷	۴/۷
میانگین امتیاز بالینی		۰/۴۲	۱/۳	۲	۲/۸
پس از پنج روز	+	۱/۷	۴/۷	۰	۰
	++	۰	۳/۷	۴/۷	۱/۷
	+++	۰	۰	۳/۷	۶/۷
میانگین امتیاز بالینی		۰/۱۴	۱/۴	۲/۶	۳

مشاهده شده‌ی ماکروسکپی، آزمون در دوره‌های کوتاه مدت یک، سه و پنج روزه، طراحی گردید.

در مشاهدات ماکروسکپی، چشم‌ها از نظر شدت کراتوکونوس، تحت عنوان امتیاز بالینی، درجه‌بندی شدند [۱۶]. به قرنیه‌هایی که هیچ نوع تغییر شکل ظاهری در آنها مشاهده نشد (در مقایسه با چشم سالم) از نظر کلینیکی امتیاز صفر (Clinical Score: CS)، قرنیه هایی که کدر بوده ولی هیچ نوع تغییر شکل ظاهری در آنها مشاهده نشد، از نظر کلینیکی امتیاز ۱+، قرنیه هایی که دچار کمی تغییر شکل و دفورمیتی شده بودند، امتیاز ۲+ و قرنیه هایی که دچار پارگی شدند و یا شدیدا دفورمه شده بودند، امتیاز ۳+ داده شد. مشاهدات با



شکل۱

استفاده از میکروسکپ لوپ با بزرگنمایی ۴۰ انجام پذیرفت.

جهت مشاهدات میکروسکپی، پس از سپری شدن دوره معین یک، سه و پنج روزه، حیوانات با دوز بالای بیهوشی (کلروفرم) کشته شده و بلافاصله کره چشم‌ها خارج گردیده و در محلول بافر فرمالین ۱۰٪ در یخچال نگهداری شدند. جهت مطالعات پاتولوژی، مقاطع چشمی با قطر ۰/۱ میلیمتر تهیه و رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین انجام گرفت. مشاهدات میکروسکپی با میکروسکپ نوری انجام پذیرفت،که شامل بررسی کامل لایه‌های قرنیه، وجود التهاب، تغییر ضخامت کل قرنیه، ضخامت اپیتلیوم و تغییرات کلاژن و استروما می‌باشد. اندازه‌گیری ضخامت قرنیه و اپیتلوم بروش هیستومورفومتری انجام پذیرفت. پس از تهیه مقاطع چشمی، در زیر میکروسکپ نوری متصل به کامپیوتر، تصاویر در کامپیوتر اسکن شده و با یک نرم افزار آنالیز تصویری (Analyze Image Software: DinoCapture)، ضخامت‌های مورد نظر توسط متخصص بافت شناسی مورد اندازه‌گیری دقیق قرار گرفت. تمامی داده‌ها بصورت میانگین ± انحراف از معیار، بیان شده اند. تحلیل آماری از طریق آزمون آنالیز واریانس یکطرفه با استفاده از Anova – Oneway و Student's t-test و مقایسه میانگین‌های گروه‌های متفاوت با $P<0.01$* مورد بررسی قرارگرفت و جهت بررسی‌های مذکور از نرم افزار آماری Origin VI استفاده گردید. تعداد حیوانات مورد آزمایش در هر گروه هفت سر می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

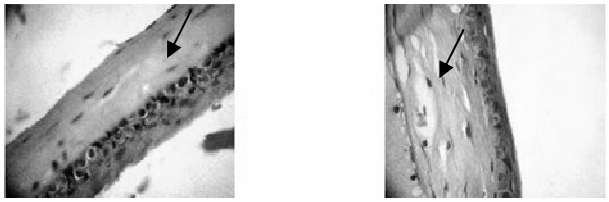
جدول۲- امتیازات و مشاهدات میکروسکپی قرنیه پس از تزریق آب مقطر و ماده کلاژناز در دوزهای متفاوت، مقایسه گروه‌های تجربی با گروه شاهد در $p<0.01$*

	میانگین ضخامت قرنیه (میکرون)	میانگین ضخامت اپی تلیوم (میکرون)	تغییرات کلاژن	سایر موارد
گروه کنترل	۱۳۱±۴	۴۳±۳	رشته های کلاژن منظم	اندوتلیوم واضح، استروما شفاف و صاف
گروه شاهد تزریق آب مقطر	۱۲۷±۶	۳۹±۴	لایه کلاژن مشخص و مواج، صاف و بدون التهاب	لایه‌های قرنیه سالم و مشخص
گروه تجربی کلاژناز پنج روزه ۳mg/ml	*۹۳±۱۰	* ۳۰±۳	رشته های کلاژن فاصله‌دار، کلاژن استروما مواج و دندانه‌دار	قرنیه و اپی تلیوم نازک، مخروطی شدن قرنیه
گروه تجربی کلاژناز پنج روزه ۶mg/ml	*۸۴± ۸	* ۲۸± ۵	کلاژن به هم ریخته، رشته‌ای شدن استروما	لایه‌ی قاعده‌ای گسسته، قرنیه مخروطی و پاره شده بعلت نازکی

یافته‌ها

تغییرات شکل و کدورت قرنیه بر اساس روش ذکر شده مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۱ قابل مشاهده میباشد. تزریق کلاژناز در دوزهای ۱، ۳ و ۶ میلی‌گرم / میلی لیتر بطور وابسته به دوز باعث تغییر شکل و کدورت قرنیه گردید، بطوری‌که بیشترین میزان آسیب به قرنیه و مخروطی شدن ظاهر آن با دوز ۶ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر مشاهده شد. در شکل ۱، چشم راست حیوان تزریق شده با کلاژناز ۶ میلیگرم / میلی‌لیتر پس از ۵ روز، قابل مشاهده است، مخروطی شدن قرنیه چشم راست حیوان کاملا مشخص می‌باشد (در چشم چپ حیوان بعنوان شاهد تنها آب مقطر تزریق شده است).

نتایج مشاهدات میکروسکپی که شامل بررسی کامل لایه‌های قرنیه، وجود التهاب، اندازه‌گیری ضخامت کل قرنیه و ضخامت اپیتلیوم، تغییرات کلاژن و استروما می‌باشد در جدول ۲ قابل مشاهده است. کلاژناز در غلظت‌های ۳ و ۶ میلی‌گرم / کیلوگرم بطور وابسته به دوز باعث تغییر شکل و کدورت قرنیه گردید، بطوری‌که بیشترین میزان آسیب به رشته‌های کلاژن، نازکی قرنیه و اپیتلیوم و پارگی قرنیه در برخی موارد با دوز ۶ میلی‌گرم/کیلوگرم مشاهده شد.



شکل۲- نمای میکروسکپی قرنیه سالم در گروه شاهد با بزرگ‌نمایی ۱۰ (چپ) و ۴۰ (راست): فلش نشان‌دهنده رشته‌های کلاژن منظم است.

بحث

کراتوکونوس یا قوز قرنیه یک بیماری نسبتا شایع قرنیه است که مشخصه بارز آن تخریب و نازکی پیش رونده قرنیه و نهایتا ایجاد زخم در مرکز قرنیه می‌باشد. عوامل متعددی در بروز این بیماری نقش دارند از جمله می‌توان به عوامل ژنتیکی، استفاده مکرر از لنزهای تماسی بخصوص از نوع سخت، مالیدن شدید و مکرر چشم اشاره کرد [۱،۲،۱۴].

کراتوکونوس بجز در یک گونه میمون رزوس [۱۲] و انسان تاکنون در گونه‌های پستانداران بطور خودبخود، مشاهده نشده‌است و لذا عدم وجود مدل حیوانی مناسب که دقیقا روند پاتولوژیکی بیماری را سریع و دقیق ایجاد نماید، منجر به عدم شناسایی بیماری و عدم پیشرفت دارو درمانی مناسب آن شده است.

از طرفی، مطالعاتی که تاکنون از نظر ژنتیکی بر روی این بیماری انجام شده است، مناسب بودن مدل‌های حیوانی موش سوری را جهت انجام تحقیقات در زمینه کراتوکونوس مناسب اعلام نموده‌اند [۱۶] لیکن احتمال بروز آن بسیار نادر و روند آن بسیار آهسته گزارش شده است. در این تحقیق، به بررسی روند ایجاد آسیب و قوز قرنیه از نظر هیستوپاتولوژیکی با استفاده از تزریق غلظت‌های مختلف کلاژناز، در دوره‌های مطالعاتی متفاوت، پرداخته شده است.

کراتوکونوس بواسطه کلاژناز در حیوانات، از نظر ماکروسکپی و الگوی پاتولوژیکی، الگویی مشابه با کراتوکونوس انسانی در آزمایشات حاضر نشان داده است. در کراتوکونوس انسانی، تغییرات

www.SID.ir

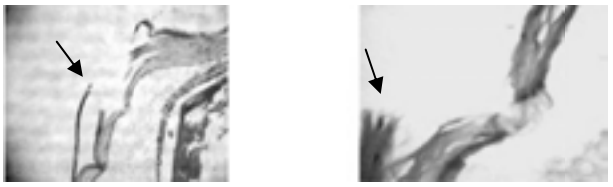
Archive of SID

شکل۳- نمای میکروسکپی قرنیه تزریق شده با کلاژناز mg/ml ۳ پس از ۵ روز با بزرگنمایی ۱۰ (چپ) و ۴۰ (راست): فلش نشان‌دهنده رشته‌های کلاژن فاصله‌دار، کلاژن استروما مواج و دندانه‌دار می‌باشد.

هیستوپاتولوژیک ابتدایی به صورت گسیختگی و خرد شدن موضعی لایه بومن و اپی تلیوم لایه بازال در ناحیه مخروط می‌باشد. پارگی غشای بازال شایع است و بافت اسکار وکراتوسیت‌های فعال شده در این ناحیه ملاحظه می‌شوند. اپی تلیوم قرنیه ممکن است نامنظم بوده و در ناحیه مخروط نازک شده باشد [۱، ۵، ۱۴، ۱۵]. در این تحقیق، کاهش ضخامت قرنیه و اپیتلیوم و بی‌نظمی در اپیتلیوم، در قرنیه موش‌هایی که کلاژناز دریافت نموده بودند، بطور وابسته به دوز مشاهده شده است.

در نمونه‌های انسانی، در هیدروپس قرنیه گسیختگی و پارگی در غشای دسمه اتفاق می‌افتد که به اندوتلیوم مجاور و استروما نیز گسترش می‌یابد. این پارگی باعث ادم ناگهانی و عمیق قرنیه می‌شود. اندوتلیوم شکاف ایجاد شده را در طول ۸-۶ هفته پر می‌کند و التهاب استروما از بین می‌رود و اسکار استرومایی با شدت مختلف به جا می‌گذارد. استروما نازک شده و تعداد لایه‌های قرنیه کاهش می‌یابد [۱۵،۱۷]. در آزمون حاضر، کلاژن به هم ریخته، رشته‌ای شدن استروما، لایه ی قاعده‌ای گسسته، قرنیه مخروطی و پاره مشاهده شده است. در نمونه‌های انسانی نیز در برخی موارد، تغییر قطر فیبریل‌های کلاژن و همین طور فاصله بین فیبریل‌ها گزارش شده است. البته، گاهی مقدار و توزیع انواع مختلف کلاژن نیز طبیعی بوده است [۱۵].

تنوع زیادی از ناهنجاری‌های بیوشیمیایی نیز، در قرنیه‌های دارای کراتوکونوس گزارش شده است [۳ و۵ و ۱۴] که تعدادی از آنها تأیید نشده و با مطالعات دیگر تناقض دارد [۸، ۱۴]. در یک مطالعه تغییرات اتصالات کلاژن گزارش شده [۱۱]. که در مطالعات دیگر تأیید نشده است. در کشت کراتوسیت‌ها، نقص در ترجمه RNA سلول‌ها دیده شده که باعث کاهش سنتز پروتئین می‌شود [۴]. در کراتوکونوس فعالیت کلاژنولیتیک بیش از حد نرمال گزارش شده است [۶]. چندین مطالعه متابولیسم غیرطبیعی پروتئوگلیکان‌ها در کراتوسیت‌ها و همچنین ناهنجاری‌هایی در



شکل۴- نمای میکروسکپی قرنیه تزریق شده با کلاژناز mg/ml ۶ پس از ۵ روز با بزرگ‌نمایی ۱۰ (چپ) و ۴۰ (راست): فلش نشان‌دهنده لایه قاعده‌ای گسسته، قرنیه مخروطی و پاره شده بعلت نازکی می‌باشد.

پروتئوگلیکان‌های سطح کراتوسیت‌ها را گزارش نموده‌اند. کل مقدار پروتئوگلیکان افزایش یافته و اجزاء غیرکلاژنی غیرطبیعی در استروما گزارش شده است. موقعیت پروتئوگلیکان نسبت به فیبریل‌های کلاژن طبیعی نیست. واکنش بین پروتئوگلیکان‌ها و فیبریل‌های کلاژن ممکن است در نگهداری استحکام طبیعی قرنیه مهم باشد. بنابراین ناهنجاری‌ها می‌توانند باعث اتساع و نازکی استروما شوند [۱۷، ۱۳، ۸]. با توجه به تغییرات پروتئوگلیکان‌ها، پیشنهاد میشود در مطالعات بیوشیمیایی، این نوع تغییرات نیز مورد ارزیابی دقیق قرار گیرد.

در کراتوکونوس انسانی، بیان برخی پروتئین‌ها، نظیر کلاژنازها و فاکتورهای نسخه‌بردار نظیر c-fos افزایش می‌یابد. در یک مطالعه، پدیده‌های فوق در موش‌های جنس نر که به روش ژنتیکی دچار کراتوکونوس شده بودند، گزارش شده است [۱۶،۱۰]. اثبات تشابه مدل القایی با کراتوکونوس انسانی علاوه بر بررسی‌های ماکروسکپی و میکروسکپی نیازمند بررسی بیان فاکتورهای نسخه برداری و بررسی فرایند آپوپتوز سلول‌های استرومال می‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌گردد از بلوک‌های بافتی موجود، مسیرهای آپوپتوز بررسی گردد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان میدهد که کراتوکونوس ناشی از تزریق دوز ۶ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر کلاژناز در موش سوری نر می‌تواند بعنوان یک مدل حیوانی بالقوه برای مطالعات کراتوکونوس در نظر گرفته شود. برای اثبات جایگزینی آن برای کراتوکونوس انسانی مطالعات بیشتری پیشنهاد می‌گردد.

سپاسگزاری

تحقیق حاضر در قالب طرح پژوهشی، با حمایت مالی معاونت پژوهشی واحد پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی انجام شده است، که بدینوسیله قدردانی می‌گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

References

[1] American Academy of ophthalmology, Basic & Clinical Science course, External Disease and Cornea, Section 8, 2005.

[2] Fink BA, Wagner H, Steger May K, Collaborative longitudinal evaluation of keratoconus, difference in keratoconus as a function of gender. ***American journal of Ophthalmology*** 140 (2005) 459.

[3] Gordon M, May S, Joslin Ch, Weissman B, Afink B, Edrington T, Olafsson H, Zadnik K, Baseline factors predictive of incident penetrating keratoplasty in keratoconus. ***American journal of Ophthalmology*** 142 (2006) 923-930

[4] Gupta, SK, Hodge, WG, A new clinical perspective of corneal dystrophies through molecular genetics. ***Curr Opin Ophthalmol*** 10 (1999) 234-241.

[5] Inhalainen, A, Clinical and epidemiological features of the keratoconus: genetic and experimental factors in the pathogenesis of the disease. ***Acta Ophthalmol Suppl*** 178 (1986) 1-64.

[6] Kao, WW, Vergnes, JP, Ebert, J, Sundar-Raj, CV, Brown, SJ, Increased collagenase and gelatynolytic activities in keratoconus. ***Biochem Biophys Res Commun*** 107 (1982) 929-936.

[7] Kremer I, Eagle RC, Rapuano CJ, Laibson PR, Histologic evidence of recurrent keratoconus seven years after keratoplasty. ***American journal of ophthalmology*** 119 (1995) 511-512.

[8] Mackiewicz Z, Määttä M, Stenman M, Konttinen L, Tervo T, Konttinen YT. Collagenolytic proteinases in keratoconus. ***Cornea*** 25 (2006) 603-10.

[9] Mutch JR, Richards MB, Keratokonus experimentally produced in the rat by vitamin A defficiency. ***Br J Ophthalmol*** 23 (1939) 381–387.

[10] Ollivier FJ, Gilger BC, Barrie KP, Kallberg ME, Plummer CE, O'Reilly S, Gelatt K N, Brooks D E. Proteinases of the cornea and preocular tear film. ***Veterinary Ophthalmology*** 10 (2007) 199–206.

[11] Owens H, Gamble GA, Profile of keratoconus in New Zealand. ***Cornea*** 22 (2003) 122-125.

[12] Peiffer RL, Werblin TP, Patel AS, Keratoconus in a rhesus monkey. ***J Med Primatol*** 16 (1987) 403-406.

[13] Tachibana M, Okamoto M, Sakamoto M, Matsushima Y. Hereditary keratoconus-like keratopathy in Japanese wild mice mapped to mouse Chromosome 13. ***Mammalian Genome*** 13 (2002) 692–695.

[14] Rabinowitz, YS, Keratoconus. ***Surv Ophthalmol*** 42 (1998) 297-319.

[15] Sawaguchi Sh, Fukuchi T, Abe H, Kaiya T, Sugar J, Yue B, Three-Dimensional Scanning Electron Microscopic Study of Keratoconus Corneas. ***Arch Ophthalmol.*** 116 (1998) 62-68.

[16] Tachibana M, Adachi W, Kinoshita Sh, Kobayashi Y, Honma Y, Hiai H, Matsushima Y, Androgen-Dependent Hereditary Mouse Keratoconus: Linkage to an MHC Region. ***Investigative Ophthalmology and Visual Science*** 43 (2002) 51-57.

[17] Yue, BJT, Sugar, J, Benveniste, K. Heterogeneity in keratoconus: possible biochemical basis. ***Proc Soc Exp Biol Med*** 175 (1984) 336-341.

www.SID.ir