

Optik Sinir Başını Regüle Eden ve Neuroprotector İlaçlar İle Glokom Patogenezinde Nitrik Oksit ve Endotelin'in İncelenmesi

Ümit Ekşioğlu (*), Ilgaz Sağdıç Yalvaç (*), Sunay Duman (**)

ÖZET

Glokom, retinal ganglion hücrelerinin kaybolduğu bir optik sinir başı nöropatisidir. Glokomaun nörodejeneratif bir hastalık olmasına dayanılarak glokomatöz optik nöropati progresyonundan korunma yaklaşımlarına gittikçe artan bir ilgi oluşmuştur. Nitrik Oksit (NO) ve Endotelin hem intraoküler basıncın regülasyonunda hemde oküler kan akımının regülasyonunda rol oynayan selüler mediatörler olarak tanımlanmışlardır. Aynı zamanda NO apoptosis olarak isimlendirilen glokomda retinal ganglion hücre kaybına öncülük eden bir hücre ölümü mekanizmasında rol almaktadır. Bu derleme oküler ve optik sinir başı kanlanması otoregülasyonu, nöron korunması ve NO ile endotelin nöromediatörlerinin glokom patogenezindeki rollerinin ortaya konmasında son gelişmeleri aktarmak üzere hazırlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Glokom, optik sinir başı, nöron korunması, otoregülasyon, Nitrik Oksit, Endotelin, glokom patogenezi,.

SUMMARY

Investigation of Nitric Oxide and Endothelin in the Pathogenesis at Glaucoma With Neuroprotection and Autoregulation of the Optic Nerve Head

Glaucoma is an optic nerve head neuropathy in which retinal ganglion cells are lost Interest has been increasing in preventing progression of glaucomatous optic neuropathy using approaches based on the premise that glaucoma is a neurodegenerative disease. Nitric oxide (NO) and Endothelin, two recently identified cellular mediators, appear to be involved in the regulation of IOP as well as in the modulation of ocular blood flow. To some extent, NO is also involved in apoptosis, a mechanism of cell death that can lead to retinal ganglion cell loss in glaucoma. This article provides a short and simplified overview of optic nerve head blood flow autoregulation, neuroprotection and the biochemistry of NO and endothelin and highlights the potential role of these two mediators in certain important aspects related to the pathogenesis of glaucoma.

Key Words: Glaucoma, optic nerve head, neuroprotection, autoregulation, Nitric Oxide, Endothelin, pathogenesis of glaucoma

(*) S.B. Ankara Hastanesi Glokom Bölümü, Göz Kliniği Uzmanı
(**) S.B. Ankara Hastanesi Glokom Bölümü, Göz Kliniği Şefi

Mecmuaya Geliş Tarihi: 19.09.2000
Kabul Tarihi: 20.11.2000

GİRİŞ

Glokom; günümüzdeki en önemli körlük nedenlerinden birisidir (1). Glokomlu hastalarda görmenin kaybolmasının başlıca nedeni retina ganglion hücrelerinin ölümü bağlı olarak gelişen optik nöropatidir (2). Artmış göz içi basıncı (GİB) glokomdaki en önemli risk faktörüdür (3). Yapılan deneysel ve epidemiyolojik çalışmalarda artmış GİB ile glokomatöz harabiyetin orantılı olarak arttığı saptanmıştır (4,5). Artmış GİB aksonal transportun bozulmasına veya mikrovasküler iskemiye neden olarak optik atrofiye yol açmaktadır. Glokomatöz harabiyetin öncelikle üst ve alt kutuplardaki sinir liflerinden başlaması ise bu bölgede daha geniş M tipi sinir liflerinin geçmesi ve aynı bölgede lamina kribrosa düzeyinde kollagen desteğinin daha az olması distorsiyonu artırarak mekanik harabiyeti arttırdığı öne sürülmekte idi (6). Fakat GİB'nin tıbbi tedavi ile düşürülmesine rağmen glokomatöz optik nöropatinin devam etmesi (7) ve GİB yükselmeden de glokomatöz optik nöropatinin ortaya çıkması (8) ilave primer faktörler veya sekonder faktörlerin glokomatöz harabiyetin ortaya çıkmasında katkıda bulunduğunu göstermektedir.

OPTİK SİNİR BAŞININ KAN AKIM REGÜLASYONU

Retina ve optik sinir başında kan akımı sempatik aktivasyondan bağımsız olarak sabit bir hızla yapılır. Buna "otoregülasyon" denir. Bir başka deyişle otoregülasyon dokuların beslenmesi için gerekli perfüzyon basıncındaki değişikliklere karşı vasküler düz kasların verdiği cevaptır.

Otoregülasyonda kan akımı 2 yolla kontrol edilir (9).

1. Metabolik otoregülasyon: Dokulardaki artmış metabolik aktiviteye bağlı olarak dokunun kan akımını ayarlanmasıdır. Belli ünite zamanda dokuya giren ve çıkan kan miktarını ayarlar. Kuvvetli ışık stimulusu, hiperkapne, hipoksi gibi durumlarda devreye girer.

2. Miyojenik otoregülasyon: Artmış intraluminal basınca cevap olarak düz kas tonüsünde yapılan değişikliklerdir. Sıvı ve elektrolit değişimi, hidrostatik ve osmotik ilişki ile bağlantılıdır. İntرالuminal basınç çok yüksek olduğunda doku ödemi oluşur. Bu da endotelde bası yapılarak çeşitli vazoaaktif maddelerin salınımına neden olur.

Retina ve optik sinirde vazoaaktif sinirlerin ve prekapsüller sfinkterlerin olmaması burada lokal faktörlerin (nitrik oksit, endotelin, Prostaglandinler ve renin-angiotensin sistemi gibi) ön planda olduğunu göstermektedir.

Dokulardaki kan akımı perfüzyon basıncı (PP) ile doğru vasküler rezistans ile ters orantılıdır.

$$\text{Akım} = \text{Perfüzyon basıncı/Rezistans}$$

Perfüzyon basıncı, ortalama arteriyel basınç (OAB) ve venöz basınç farkından oluşur. Pratik olarak gözde venöz basınç GİB ile eşittir. Bu durumda

$$\text{PP} = \text{OAB} - \text{GİB} \text{ dir.}$$

$$[\text{OAB} = \text{Diastolik kan basıncı} + 1/3 (\text{Sistolik-Diastolik kan basıncı})]$$

Oküler kan akımındaki azalma ortalama arteriyel basınçtaki düşüş, GİB artışı ve periferik vasküler direnç artışına bağlı olarak ortaya çıkar.

Yapılan çalışmalarda Normotansif glokomlu (NTG) olgularda yüksek oranda sistemik kan basıncında düşüş olduğu saptanmıştır (10). Bunun yanı sıra hipertansif olgularda da kullanılan antihipertansif ilaçlara bağlı olarak gelişen nokturnal arteriyel hipotansiyon optik nöropatinin gelişmesinde önemli bir risk faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır. Uyku sırasında oluşan aşırı kan basıncı düşüşleri belli olgularda görme alanı kaybı ile orantılı olmaktadır (11). Sistemik olarak kullanılan potent Ca^{2+} kanal blokörleri sistemik vazodilatasyona yol açarak kan basıncında düşüşlere yol açmaktadır. Antihipertansif ilaçların akşam dozları uyku sırasında kan basıncını azaltarak anormal noturnal hipotansiyona neden olmaktadır. Yine topikal olarak kullanılan beta-blokörlerin akşam dozlarının uyku öncesi geç saatlerde alınması kan basıncında önemli düşüşlere yol açarak görme alanında progresyona neden olabilmektedir (12).

Çok eskiden beri pure O_2 inhalasyonunun retinal damarlarda vazokonstriksiyon yaptığı bilinmektedir. Buna ters olarak da CO_2 arter ve arterioller için kuvvetli bir vazodilatatördür. Ekstrasellüler CO_2 birikimi bölgesel Ph'nin düşmesine yol açar. Asidite, ekstrasellüler Ca^{2+} girişini azaltır. Bu da perisitlerden Nitrik oksit salınımını artırarak vazodilatasyon yapar. Ayrıca hipoksi; retinal laktat salınımına neden olur (13). Heidelberg Retinal Flowmeter ile yapılan çalışmalarda 100% O_2 ile soluk alıp verme, 5% Carbogen (5% CO_2 + 95% O_2) ile karşılaştırıldığında optik sinir başı kan akımında önemli oranda azalmaya neden olduğu saptanmıştır (14). CO_2 dokuda metabolize olarak kana diffüze olur. Sistemik olarak kullanılan Karbonik Anhidraz inhibitörlerinden Asetozolamid PCO_2 artışına neden olur. Bu da Ph da azalmaya yani asidosise neden olur ve vazodilatasyon gelişir. Asetozolamid bu yolla oküler kan akımını artırır.

VAZOSPASM VE ENDOTELYAL VAZOAKTİF MADDELER

Otonomik sinir sistemi yolu ile; vazomotor sinir lifi ağı norepinefrin, asetilkolin, substance P, nitrik oksit (NO) gibi maddeleri salarlar. Uvea, posterior silier arterler ve santral retinal arterin ekstraoküler kısmı otonomik sinirlerden zengindir. Retina ve optik sinirin prelaminar kısmında bu innervasyon yoktur. Bu nedenle sempatik sistemin stimülasyonu retina ve optik siniri indirekt olarak etkiler (15).

Dolaşan kan elemanları çok sayıda vazoaaktif hormonlar içerir. Bunlar endotel hücrelerini etkileyerek vasküler tonüsü değiştirirler. Retina ve optik siniri besleyen damarlarda bol miktarda perisitler vardır. Bunlar kontraktıl mural hücrelerdir. Vasküler düz kasları etkileyen hormonal stimulusa cevap verirler. Optik sinir başındaki kan damarlarının boyutları lokal veya genel vazospasmdan etkilenir. End-arteriyel sistemler ile beslenen organlarda iki end-arterin dağılım alanı arasında kalan bölüme "**watershed zon**" denir. Bu bölgenin damarsal yapısı zayıftır ve iskemiye karşı dayanıksızdır. Posterior siliyer arterler de end-arterlerdir ve watershed zonları vardır. Optik sinirde bu watershed zonlar medial ve lateral posterior siliyer arterler arasında %60 hafif temporalde, %16 santralde, %24 nazaldedir.

NTG'li ogularda migren ve Raynaud fenomeni gibi olguların sık olarak görüldüğü bildirilmiştir (16). Yine aynı grup hastada parmak ucu kapiller kan akımında ciddi azalmalar saptanmıştır (17). Lokal stimülasyon sonucu endotel hücreleri vazoaaktif maddeler salarlar. Oto-regülasyon lokal olarak salınan vazoaaktif maddeler tarafından kontrol edilir. Endotelin-1 (ET-1) vasküler endotel hücreler tarafından salınan kuvvetli bir vazokonstriktördür. Bu etki voltaja bağımlı Ca^{2+} kanallarını açarak hücre içine Ca^{2+} girişini sağlar. İntrasellüler Ca^{2+} kas kontraksiyonu, nörotransmitter salınımı, enzimatik aktivasyon ve hücre sel sekresyon salınımı gibi işlemlerde rol oynar. NTG li hastaların periferik kanında yüksek düzeyde ET-1 konsantrasyonu saptanmıştır (18). Bu hastalar ET-1 e karşı süpersensitivite oluştururlar. Oku ve ark. tavşanlara intravitreal olarak enjekte edilen ET-1 in optik sinir başında çukurlaşmada artışa yol açtığını saptamışlardır (19).

ET-1 bilinen en potent fizyolojik vasokonstriktördür (20) ve endotel hücreleri tarafından üretilir. ET_A ve ET_B olmak üzere başlıca iki endotelin reseptörü mevcuttur. Vasküler düz kas hücrelerinde ET_A reseptörlerinin stimülasyonu hücre içi $[Ca^{++}]$ artışına ve vasokonstriksiyona neden olur. Endotel hücrelerinde ET_B reseptörleri de mevcuttur. Bazı damarlardaki endotel hücrelerinde ET_B reseptörlerinin stimülasyonu kalsiyum kanal-

larını açabilir ve buda nitrik oksit sentazın (NOS) nitrik oksit (NO) üretimisine ve geçici vasodilatasyona neden olur (20,21,22).

Kornea, iris, silier cisim ve retina mikrovasküler perisitlerinde ET-1'in bağlandığı saptanmıştır. Deney havvanlarında ET-1'in intravitreal enjeksiyonu retina damarların daralmasına neden olur (22).

Ca^{2+} kanal blokürleri sistemik hipertansiyon, koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalıklar, aritmiler, migren ve Raynaud fenomeni gibi olgularda geniş kullanım alanı bulmuş ilaçlardır. Voltaja bağımlı Ca^{2+} kanallarına bağlanarak etki eder ve ekstrasellüler Ca^{2+} un hücre içine girişine (sitoplazma membranındaki Ca^{2+} kanal proteini veya oligomerik kompleksi üzerindeki özel bağlanma yerlerine veya reseptörlerine yüksek afiniteli bir şekilde bağlanarak) engel olurlar. Voltaja bağımlı Ca^{2+} kanalları 4 alt gruba ayrılır. Bunlar T, L, N ve P tipidir. Günümüzde kullanılan Ca^{2+} kanal blokürleri genellikle L tipidir. N ve P tipi kanallar başlıca nöronlarda bulunur ve nörotransmitter salınımında rol oynar. T tipi kanallar kardiak SA nodda, nöronlarda ve endokrin hücrelerinde bulunur.

Spesifik antagonistler

1. Papaverin (Fenilalkilamin) türevleri

Verapamil, Gallopamil, Tiapamil

2. Dihidropiridinler

Nifedipine, Nitrendipine, Felodipine, Amlodipine, Nicardipine, Nisoldipine, Nimodipine, Niludipine, Isradipine.

3. Benzothiazepin türevleri

Diltiazem, TA 3090

Az spesifik antagonistler

I. Piperazin derivelere

Lidoflazin, Cinnarazine, Flunarazine

II. Düşük antagonizma

Bepridil, Prenylamine, Fendiline

NTG tedavisinde kullanılacak Ca^{2+} kanal blokürlerinin bu vazospazmı azaltıp hastalığın ilerlemesini azaltacağı konusunda çeşitli çalışmalar vardır. Kitazawa ve ark 6 aylık sürede oral Nifedipine uygulamasının %24 olguda görme alanı parametrelerinde olumlu gelişmeye yol açtığını bildirmiştir (23). Netland ve ark. sistemik hastalıklar nedeni ile Ca^{2+} kanal blokürleri kullanan 56 NTG ve primer açık açılı (PAAG) olgusunda 3.4 yıl içinde kullanmayanlara göre görme alanı parametrelerinde daha olumlu gelişmeler saptamışlardır (24). Bir

başka çalışmada ise aynı grup hastalarda oral Nifedipin ile oküler kan akımında önemli bir artış gözlenmemiştir (25). Yine NTG li hastalarda 3 hafta süre ile Nifedipine uygulamasının sadece vazospastik reaksiyon gösterenlerde oküler pulse amplitüdünde artışa yol açtığı saptanmıştır (26).

Nimodipin, nifedipine göre daha lipofilik bir ajandır. Kan-beyin bariyerini daha iyi aştığı ve oküler sirkülasyonda daha etkili olduğu bildirilmiştir. Bose ve ark. akut oral doz olarak verilen nimodipinin NTG li hastalarda 2 saat sonra yapılan kontrast duyarlılık eşiğinde kontrol grubuna göre önemli oranda artışa yol açtığını göstermişlerdir (27). Bir Vincamine derivativesi olan ve intrakranial selektivitesi daha fazla olan Brovincamine ile NTG li hastalarda yapılan çalışmalarda başarılı sonuçlar bildirilmiştir (28).

Ca²⁺ kanal blokerlerinin kullanımı sırasında şiddetli baş ağrısı, periferik ödem, kardiak aritmi, hipotansiyon, konjestif kalp yetmezliği, ve sistemik hipotansiyon gibi yan etkileri mevcuttur. Özellikle oluşturduğu sistemik hipotansiyon oküler kan akımını olumsuz olarak etkilemektedir. Bu nedenle periferik vazospastik hadise saptanamamış NTG li olgularda etkinliği şüphelidir. Noktürnal hipotansiyonu olan olgularda kullanılmamalıdır. Sistemik hipertansiyon + NTG li olgularda kullanılması daha uygundur. Uygulamada minimal sistemik doz ile tedaviye başlanmalı ve akşam dozu uygulanmamalıdır.

Magnesium (Mg²⁺), doğal Ca²⁺ kanal blokeri olup, kan düzeyi migrende az olarak bulunmuştur. Düşük iyonize serum Mg²⁺ değeri ve iyonize Ca²⁺ /iyonize Mg²⁺ oranısındaki artış serebral vazospasm ve kan akımında azalmaya yol açar. Mg²⁺ seviyesinde azalma serotonine bağlı olarak gelişen serebral vazokonstriksiyonu artırır (29). Yapılan klinik çalışmalarda da Mg²⁺ un vazospazmı açıcı ve görme alanı üzerine olumlu etkileri saptanmıştır (30).

Renin böbrekte jukstaklomerular aparatustan salınan proteolitik bir enzimdir. Angiotensinogeni Angiotensin I'e çevirir. Angiotensin-converting enzim (ACE) ise bunu Angiotensin II'ye çevirir. Angiotensin II çok kuvvetli bir vazokonstriktör olup optik sinir başı perfüzyonunu ciddi olarak azaltır. Adenilat siklazı azaltıp, selülüler cAMP düzeyini artırırlar. ACE inhibitörlerinden lisinopril'in NTG lu olgularda kullanımı ile ilgili çalışmalarda önemli bir etki saptanamamıştır (31).

Angiotensinogen → Angiotensin I → Angiotensin II

Renin ACE

Serotonin, ince barsaktaki enterokromafin hücrelerinden üretilir ve portal ven tarafından salınır. Serotonin

ayrıca santral sinir sistemi tarafından da üretilir. Dolaşan serotonin trombositler tarafından absorbe edilir. Vasküler endotel hücreleri tarafından ortadan kaldırılır. İki tip reseptörü vardır.

S₁ → Vasküler endotelde bulunur.

S₂ → Plateletler ve vasküler duvarın düz kas hücrelerinde bulunur.

Platelet hücreleri Ca²⁺, tromboxan A₂ veya Adenozin difosfat ile karşılaştıklarında serotonini salarlar. Normal şartlar altında serotonin, damar duvarı ve plateletler birbirleri ile orantılı olarak çalışırlar ve serotonin molekülleri S₂ reseptörleri ile bağlantı kuramazlar. Bu durumda serotonin sadece vasküler endoteldeki reseptörler ile bağlantı kurar ve prostasiklin salarak vazodilatasyona yol açarlar. S₁ reseptörlerine bağlanan serotonin monoamin oksidaz inhibitörleri ile inhibe olur. Vasküler endotelin tahrip olduğu (Hipertansiyon, Arterioskleroz vs) durumlarda serotonin katabolizması artar. Plateletlerden serotonin salınımında artış olur. Bu şartlarda S₂ reseptörlerine ulaşılır ve aktivasyonu ile vazokonstriksiyon oluşur. Serebral ve kardiak arterler serotoninin vazokonstriktör etkisine en duyarlı damarlardır. S₂ reseptörleri ayrıca kapiller permeabiliteyi de arttırarak mikrosirkülasyon üzerine de etkili olurlar. Serotonin platelet agregasyonunu arttırır ve daha fazla serotonin salınımına etkili olur. Bu da trombüs ve vazokonstriksiyonu arttırır. Naftidrofuryl, spesifik olarak S₂ reseptörlerini bloke eder. 3 etkisi vardır.

1. Düz kaslarda vazodilatasyon

2. İskemik dokularda ADP ve ATP artışı ve laktatta azalma.

3. Platelet antiagregasyonu

Antiserotoninerjik ajanlar periferik damarlarda ve kapillerlerde dilatasyon yaparlar. Bunu yaparken sistolik kan basıncını azaltmazlar. Bu NTG için bir avantajdır. Mermoud ve ark Naftidrofuryl ün NTG li olgularda 2x200mg/gün olarak 6 hafta kullanılması ile başarılı sonuçlar elde etmişlerdir (32).

NÖRON KORUNMASI VE İLAÇLAR

Santral sinir sistemi veya retina ganglion hücrelerinin ölüm şekli diğer dokuların nekrozundan daha farklı olup "apoptosis" olarak adlandırılır (33, 34, 35, 36, 37, 38). Nekrozdan farklı olarak apoptosis isole hücrelerde ortaya çıkar, genetik olarak kontrol edilir, internükleosomal DNA yarılmaması ve inflamasyon ile beraber olmayan hücre ölümü şeklindedir. Apoptotik hücreler makrofajlar

tarafından fagosite edilir. Programlanmış hücre ölümü olarak adlandırılan bu mekanizma normal gelişim sırasında ortaya çıkan bir fizyolojik mekanizmadır. Apoptosis yol açan olaylar kompleks olup N-methyl-D-aspartate (NMDA) reseptörleri de dahil olmak üzere çeşitli başlatıcı mekanizmalar ile ortaya çıkar (39). Bu reseptörler gangliyon hücre tabakasındaki tüm hücrelerde ve iç nükleer tabakadaki amakrin hücrelerinde saptanmıştır. Glutamat, santral sinir sistemi ve retinada bulunan eksitatuvar nörotransmitterdir. Normal şartlar altında sinapslardan salınır ve reuptake sistemi normal olarak çalıştığı sürece toksik değildir. Özellikle travma ve iskemi ekstrasellüler glutamat artışına neden olur. Glutamat NMDA reseptörüne bağlandığı zaman Ca^{2+} kanallarını açarak intrasellüler Ca^{2+} artışına neden olur. Yapılan çalışmalarda iskemik veya eksitotoksik gangliyon hücre kaybının NMDA reseptörleri yolu ile olduğu bildirilmiştir (40). M tipi gangliyon hücrelerinin NMDA veya glutamat toksitesine daha duyarlıdır (41). Bu hücreler glokomun harabiyetine öncelikle uğrayan hücrelerdir. Glokomlu olguların vitreusunda yüksek oranda glutamat düzeyleri saptanmıştır (42,43). Yine deneysel olarak yapılan optik sinir harabiyetinde de aköz hümördeki glutamat ve aspartat düzeyleri yüksek olarak saptanmıştır (44). Optik sinir başında oluşan travmaya bağlı oluşan nörotoksitate bir NMDA reseptör antagonisti olan MK-801 ile engellenebilmektedir (45). Yine bir trisiklik anti-depresan olan Flupirtine bir NMDA reseptör antagonistidir (46). Bunların dışında ketamin, melatonin, memantine gibi ilaçların da NMDA reseptör antagonisti olduğu bildirilmiştir.

Platelet activating factor (PAF), alki-fosfolipid olup eritrositler, platelet hücreleri ve endotel tarafından üretilir. PAF, Ca^{2+} un hücre içine girişini modüle eden bir maddedir. Bir PAF reseptör antagonisti olan Ginkgo Biloba extractı NTG lu olgularda kullanılmıştır.

Son yıllarda topikal olarak kullanılan bir beta-2 selektif bloker olan betaksolol ün hücre içine Ca^{2+} girişini engelleyerek NMDA reseptör aktivasyonunu azalttığı ve nöroprotektör olarak rol oynadığı bazı çalışmalarda bildirilmiştir (47).

Nitrik oksit (NO) vasküler endotel hücreleri tarafından salınan çok kuvvetli bir vazodilatatördür. Glutamat ile aktive olan NMDA reseptörleri, postsinaptik hücrelerde Ca^{2+} girişini sağlarken bu iyon calmoudine ile beraber NO sentetaz (NOS) enzimini aktive ederek L-arginin'den NO oluşumunu sağlar. NO glutamat reseptörlerine bağlı toksik etkilerin intrasellüler mediatörüdür. Bu toksik etkilere bağlı olarak serbest radikaller ortaya çıkar (48,49,50,51,52,53,54,55). NOS inhibitörlerinden olan N-nitro-L-arginine ve aminoguanitidine ile ilgili olarak çalışmalar yapılmaktadır.

Apoptotik hücre ölümünde ilk olay DNA yapısının degradasyonudur. Bu dönemde mitokondrilerden reaktif O_2 çeşitleri salınır. Bu ilk başlangıç sensor protein denen özel yapılar ile başlatılır. Bu proteinler tümör supresor protein p53 ü aktive ederler. Bu proteinin aktivasyonu da bcl-2 gen ailesi tarafından kontrol edilir. Bu proteinler mitokondrial membranlardan Cytochrome c geçişine neden olur. Cytochrome c başta caspases olmak üzere çeşitli proteazları aktive ederek hücre içi disintegrasyonu başlatırlar. Deneysel çalışmalarda retina ganglion hücrelerinde p53 ve bcl-2 gen yapısı saptanmıştır. Deneysel axotomi çalışmalarında bu genin overekspresyonu ile hücre ölümünün önlenilebileceği saptanmıştır. İleride bu gen üzerine yapılacak genetik çalışmalar apoptotik hücre ölümünün seyrini değiştirebilecektir (56).

Sonuç olarak, günümüzde glokom tedavisinde kullanılan ilaçların başlıcaları GIB nı regüle eden ilaçlardır. Gelecekte glokomun tedavisine optik sinir perfüzyonunu regüle eden ve neroprotector ilaçla da dahil olabilecektir.

NİTRİK OKSİT

NO bir çok hücre tipi tarafından sıkı bir regülasyonla üretildiği bilinen, atmosferik bir gazdır. NO, dokularda çözünebilir ve membranlarda serbestçe diffüze olur (57). NO, hem intrasellüler olarak plazma membran reseptörlerinin aktivasyonundan sorumlu second messenger, hem de ekstrasellüler olarak hücreler arasında bilgi taşıyan parakrin faktörü olarak geniş fonksiyonlara sahiptir (57). Bu serbest radikalın vasküler tonus üzerinde etkili olduğu, nörotransmisyonunda görev aldığı (58) ve immün sitotoksitede (59,60) rolü olduğu gösterilmiştir.

Nitrik Oksit Biyosentezi

NO, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi tarafından guanidino nitrogenin substratı L-arginine'nin oksidasyonu ile L-Citrulline'nin stoichiometric formasyonu ile meydana gelmektedir (61,62,63). NO' in biyosentezinin regülasyonu diğer nörotransmitterlerin aksine çok önemlidir çünkü NO depolanamaz ve diğer konvansiyonel regülatuvar mekanizmalarla salınmaz. Bu yüzden NO tek bir endotel hücresinden salınır ve hızla diffüze olarak çevresindeki hücrelere penetre olur (64). NOS'ın üç izoformu belirgin gen ürünleri ile klonlanmıştır. Enzimin iki tipi devamlı olarak bulunur ve constitutive NOS olarak terimlendirilir. NOS-I özellikle santral ve periferik sinir sisteminde bulunur (58) NOS-III ise vasküler endotel tarafından sentezlenir (65,67). NOS-II veya inducible NOS bir çok hücre tipi tarafından immünolojik veya inflamatuvar uyaranlarla salınmaktadır (59,60). Bu izoform,

kalsiyumdan bağımsız olarak, genellikle uzun periyotlarda uyarının varlığına bağımlı olarak, büyük miktarlarda NO oluşturur. NO sentezi, NG-mono-methyl-L-arginine (L-NMMA), NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), NG-nitro-L-arginine (L-NA) (66,67) gibi çeşitli L-arginin analogları tarafından inhibe edilebilir. NOS'un bu substraklarla inhibisyonu yoğun arginine uygulaması ile tersine çevrilebilir. NOS inhibitörlerinin aminoguanidine, nitroindazol ve isothioureas gibi sınıfları da bulunmuştur (68-77).

Nitrik Oksit Sentaz İzofomlarının Gözdeki Lokalizasyonları

Constitutives NOS (NOS-I ve NOS-III)

NOS enzimatik aktivitesi işlenmemiş retina ekstraktlarında ve izole dış rod segmentlerinde gösterilmiştir (78,79,80,81). NADPH-Diaphorase çalışmalarında retinada NOS varlığını göstermektedir (83,84). İmmünohisto-kimyasal yöntemlerle değişik türlerin retinalarında ki amakrin hücrelerde, iç nükleer katmanda ve fotoreseptörlerde NOS izofomları açık olarak ortaya çıkarılmıştır (80,83,84). NOS-I az gelişmiş vertebratların retinalarında tanımlanmış (85) ve insan retinasından klonlanmıştır (86). NOS-III varlığı direkt olarak immünohisto-kimyasal olarak gösterilmemiş ancak ön segment vasküler endotelinde, koroid ve retinada bu izofomla ilişkilendirilebilecek NADPH-diaphorase boyanma gözlenmiştir (82,83). Retinal vasküler endotelial hücrelerde de NOS-III mRNA varlığı gösterilmiştir (87).

Ayrıca, NOS ön segment dokularında kan damarlarının dışındaki sinir uçlarında gözlenmiştir (83). Normal insan gözü siliyer kası ve dışa akım yolunun (trabeküler ağ ve Schlemm's kanalı) NADPH-diaphorase boyanmasıyla zenginleştiği ve immünolojik analizlerde NOS-III içerdiği bulunmuştur (88).

İnducible NOS (NOS-II)

Retinada endotoksin ve sitokinlerin stimülasyonu ile retinal Müller glial hücreleri NOS II izofomu ortaya çıkartabilir (89). İnek (90), insan (91) ve sıçan (92,93) retina pigment epitel (RPE) hücreleri de NOS-II içermektedir. Sıçan ve inek RPE hücrelerinde NOS-II mRNA ve enzim aktivitesi (interferon ve lipopolisakkaridin sinerjistik koperasyonu ile indüklenmekte ve tümör nekrozis faktör (ile potansiyalize olmaktadır. İnsan RPE hücrelerinde NO üretimi için interferon γ ve interleukin-1 β esansiyeldir. Retinal perisitlerde ve kapiller endotelial hücrelerde NOS-II izofomları tespit edilmiştir (87).

Sitokinler ve büyüme faktörleri NOS-II indüksiyonunda anahtar elementlerdir (94,95). NO üretimi regülasyonunda transforming growth faktör β ve fibroblast growth faktörlerin zıt etkileri vardır (96). İnek RPE hücrelerinde fibroblast growth faktör-1 ve fibroblast growth faktör-2, transkripsiyonel seviyede NOS indüksiyonunu inhibe etmesine rağmen (97) insan ve sıçan RPE hücreleri ve Müller glial hücrelerinde inhibe etmemektedir (98). Hücreler yüksek miktarda NO formasyonunu sıkı bir şekilde kontrol etmek zorundadır (95-100).

Trabeküler Ağ ve Siliyer Kasta Nitrik Oksit'in Rolü

Birçok çalışmada hem oküler hipertonus hem de hipotonusun, sistemik nitrovazodilatörlerin uygulanması ile indüklendiği bildirilmiştir. Bu çalışmalarda vazodilatörlerin, intraoküler basınç üzerine gözlenen etkilerin sistemik vazodilatör etkilerine veya bölgesel kan akımı üzerine olan etkilerine bağlı olduğu gözlenmiştir (100). Bazı çalışmalarda atriyal natriüretik peptitlerle veya nitrovazodilatörlerle (101,102,103,104,105) aktive edilen guanylate cyclase'in intraoküler basınç üzerindeki etkileri olduğu bildirilmiştir (106,107,108,109). Nitrovazodilatörlerin veya nitrik oksit donorlerinin gözdeki etki bölgeleri, siliyer kas, trabeküler ağ, ve aköz drenaj sistemindeki endotelial ve vasküler düz kas hücreleridir. Bu çeşitli etki alanlarının varlığı anatomik çalışmalarda gösterilmiştir (83,88). Bir çalışmada NOS-I dağılımının siliyer proseslerde sınırlı olduğu ve dışa akım yolunda pterigopalatin ve muhtemelen diğer parasempatik gangliyonlardan gelen bazı sinir uçlarında bulunduğu gösterilmiştir (83). Normal insan gözünde siliyer kasın (özellikle ön longitüdinal parçası) ve dışa akım yolunun (trabeküler ağ, Schlemm's kanalı ve toplayıcı kanallar) NOS-1'den çok NOS-III'ce zengin olduğu gösterilmiştir (88). Diğer çalışmalar nitrovazodilatörler ve cGMP analoglarının in vitro olarak siliyer kas ve trabeküler ağ üzerindeki gevşetici etkileriyle dışa akımı değiştirerek intraoküler basıncı düşürdüklerini bildirmiştir (102, 103,105,106,110,111). Dışa akım direncinde en büyük alanın trabeküler ağ ve Schlemm's kanalı olduğu ve trabeküler ağ direncinin siliyer kas tarafından regüle edildiği bildirilmiştir (112,113,114,115). Bu bulgular siliyer kası, dışa akım yolunu ya da her ikisini birden etkileyen NO'in insanlarda aköz humör dinamiklerini regüle ettiğini düşündürmektedir. Siliyer kas liflerinin kontraksiyonları dışa akım direncinde bir azalmaya yol açmaktadır (113,114). Nitrovazodilatörlerin retinal kan akımını artırıcı ve glokomda hasarlanmış retina hücrelerinin üzerinde faydalı etkileri de bulunmaktadır (117,118).

GLOKOMDA NİTRİK OKSİT ve ENDOTELİN

Glokom göz içi basıncının (GİB) yüksek seviyelerde olması veya vasospastik reaksiyonlarda olduğu gibi kan akımındaki disregulasyon gibi farklı risk faktörleri ile birlikte olan bir optik sinir başının nöropatisidir (119). Endotelial hücrelerden NO üretiminin olmadığı durumlarda vasospastik reaksiyonlar oluşabilmektedir. Membran reseptörünün endotelial aktivasyonu (asetil kolin) hücre içi $[Ca^{++}]$ konsantrasyonunu artırabilir, buda NOS'u aktive eder ve NO üretimi uyarılır, vasodilatasyona neden olur. Normal şartlar altında NO'in hevesetici etkisi asetil kolinin düz kas hücrelerindeki direkt kontrakte edici etkisinin üstündedir. Endotelial hasar hallerinde, NO'in olmayışı lokalize bir vasospastik reaksiyona neden olabilir. NTG li bireylerde plasma ET-1 seviyesi primer açık açılı glokomlu (PAAG) olgulardan ve normal bireylerden daha fazla bulunmuştur (120). Endotelialin lokal üretimi vasospastik cevaba neden olabilir. Kontraksiyonlar ya endotel hücrelerinin kaldırılması ile ya da ETA reseptör agonistleriyle azaltılabilir. Normo tansif glokomda olduğu gibi oftalmik mikrosirkülasyonda artan vasokonstriksiyon kısmen oftalmik akımın endotel bağımlı oftalmik dolaşımdaki endotelialin vasokonstriksiyon etkisini inhibe ederek glokomatoz harabiyeti engelleyebilir (121).

Aköz damar dışı akımın düzenlenmesinde yer alan trabeküler ağın NO veya endotelial ile gevşeyen ya da kontrakte olan intrinsik kontraktıl elementlerinin mevcuttur. Bu nedenle NO aköz humor dışı akımını artırabildiği ve böylece, GİB'ını düşürdüğü fakat endotelialin GİB'ının artmasında neden olacak dışı akımı azalttığı tahmin edilmektedir (121,122).

Glokomlu hastaların aköz humorlarında endotelialin düzeyi belirgin bir şekilde daha yüksek olduğu, diğer yandan glokom hastalarının gözlerinde NO üretiminde sorumlu enzim NOS' un belirgin bir şekilde azaldığı histolojik olarak gösterilmiştir. (123,124). Bundan dolayı, NO ve endotelial glokomda gözlenen GİB' ının yükselmesinde ya NO üretiminde düşüşle ya da endotelial sekresyonunda aşırı bir artışla direkt olarak bağlantılı olabilir (21).

Immunohistolojik çalışmalarda normal gözlerin optik sinir başındaki astrositlerde nNOS az miktarda mevcutken PAAG 'lu gözlerde nNOS prelaminar bölge ve lamina kribrosada yıpranık sinir liflerinin hemen tüm astrositlerinde yoğun olarak saptanmıştır. eNOS normal bireylerin prelaminar bölgedeki küçük damarlarında bulunurken, glokomlu dokuda astrositler ve büyük ve küçük çaplı damarlarda mevcuttur. Normal dokuda bulunmayan iNOS'un glokomlu gözlerin lamina kribrosasında

izlenmesi glokomlu gözlerin aşırı miktarda NO ile karşılaştığını bununda retina ganglion hücrelerine nörotoksik etkisi olduğu düşünülmektedir. Diğer yandan vaskular endotelde eNOS'nin varlığında vasodilatasyona ve dokuya olan kan akımını artırarak nöral koruyuculuğa neden olmaktadır (20).

Glokomda gözlenen geri dönüşsüz fonksiyonel görme kaybı, retina ganglion hücrelerinin muhtemelen apoptozisi nedeniyle (119). Apoptozis fazla miktardaki NO'in üretimini stimule eden N-metil-D-aspartat (NMDA) membran reseptörlerinin glutamat ile aktivasyonu ile indüklendiği gibi mitokondri de serbest radikal üretimi ile de indüklenebilir.

Glokom hastalarının vitreuslarında artmış miktarlarda glutamat ölçülmüştür. Büyük retina ganglion hücrelerinin NMDA - media nörotoksitesite'e daha hassas olduğu da gösterilmiştir (22).

Sonuç olarak, NO ve endotelialin glokomda rol oynayan, özellikle GİB'ının regülasyonunda, oküler kan akımında, ve apoptozis ile retinal ganglion hücre ölümünde anahtar rolü üstlenen iki mediatördür (22,121). eNOS'a karşı selektif olarak nNOS, iNOS'u inhibe edebilecek ajanların üretilmesi glokom tedavisinde yararlı olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Leske MC: The epidemiology of open-angle glaucoma: a review. *Am J Epidemiol.* 1983; 118: 166-191.
2. Quigley HA, Addicks EM, Green WR, Maumenee AE: Optic nerve damage in human glaucoma, II: the site of injury and susceptibility to damage. *Am J Ophthalmol.* 1981; 99: 635-49.
3. Quigley HA, Tielsch JM, Katz J, Sommer A: The rate of progression in open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol.* 1996; 122: 355-363.
4. Davanger M, Ringvold A, Blika S: The probability of having glaucoma at different IOP levels. *Acta Ophthalmol.* 1991; 69: 565-568.
5. Tielsch JM, Sommer A, Katz J, Royall RM, Quigley HA, Javitt J: Racial variations in the prevalence of primary open angle glaucoma: The Baltimore eye survey. *JAMA.* 1991; 266: 369-374.
6. Stamer RL: Psychophysical changes in glaucoma. *Surv Ophthalmol.* 1989; 33 (Suppl): 309-18.
7. Brubaker RF: Delayed functional loss in glaucoma: LII Edward Jackson memorial lecture. *Am J Ophthalmol.* 1996; 121: 473-83.
8. Schumer RA, Podos SM: The nerve of glaucoma. *Arc Ophthalmol.* 1994; 112: 37-44.
9. Harris A, Ciulla TA, Chung HS, Martin B: Regulation of retinal and optic nerve blood flow. *Arc Ophthalmol* 1998; 116: 1491-1495.

10. Hayreh SS, Zimmerman B, Podhajsky P: Nocturnal arterial hypotension and its role in optic nerve head and ocular ischemic disorders *Am J Ophthalmol.* 1994; 117: 603-624.
11. Graham SL, Drance SM, Wijsman K: Ambulatory blood pressure monitoring in glaucoma: The nocturnal dip. *Ophthalmology* 1995; 102: 61-69.
12. Hayreh SS, Podhajsky P, Zimmerman B: Beta-blocker eye drops and nocturnal arterial hypotension. *Am J Ophthalmol.* 1999; 128: 301-309.
13. Orgül S, Gugleta K, Flammer J: Physiology of perfusion as it relates to the optic nerve head. *Surv Ophthalmol* 43 (Suppl 1): 1999; S17-S26.
14. Langhans M, Michelson G, Groh MJM: Effect of breathing 100% oxygen on retinal and optic nerve head capillary blood flow in smokers and non-smokers. *Br J Ophthalmol* 1997; 81: 365-369.
15. Haeflinger IO, Lietz A, Griesser SM, Ulrich A, Schötzau A, Hendrickson P, Flammer J: Modulation of Heidelberg Retinal Flowmeter parameter flow at the papilla of healthy subjects: Effect of carbogen, oxygen, high intraocular pressure and β -blockers. *Surv Ophthalmol* 43 (Suppl 1): 1999; S59-S65.
16. Phelps CD, Corbett JJ: Migraine and low-tension glaucoma. A case-control study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985; 26: 1105-8.
17. Drance SM, Douglas GR, Wijsman K: Response of blood flow to warm and cold in normal and low tension glaucoma. *Am J Ophthalmol.* 1988; 105: 35-9.
18. Kaiser HJ, Flammer J, Wenk M, Lüscher T: Endothelin-1 plasma levels in normal-tension glaucoma: abnormal response to postural changes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1995; 233: 484-8.
19. Oku H, Sugiyama T, Kojima S, Watanabe T, Azuma I: Experimental optic cup enlargement caused by Endothelin-1-induced chronic optic nerve head ischemia. *Surv Ophthalmol* 1999; 44 (Suppl 1): S74-S84.
20. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S et al: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 411-415
21. Ivan O, Haeflinger ve Eike S: Dettmann. Nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma: An overview. In *Nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma*, Haeflinger IO, Flammer J eds. New York: Lippincott-Raven 1997; 22-33.
22. Dreyer EB, Zurakowski D, Schumer RA, Podos SM, Lipton SA: Elevated levels in the vitreous body of human and monkey with glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1996; 114: 299-305.
23. Kitazawa Y, Shirai H, Go FJ: The effect of Ca^{2+} -antagonist on visual field in low-tension glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1989; 227: 408-412.
24. Netland PA, Chaturverdi N, Dreyer EB: Calcium channel blockers in the management of low-tension and open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1993; 115: 608-613.
25. Geyer A: *Br J Ophthalmol* 1996; 80: 1060-1062.
26. Schmidt A: *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1996; 234: 5 27-532.
27. Bose S, Piltz JR, Breton ME: Nimodipine, a centrally active calcium antagonist, exerts a beneficial effect on contrast sensitivity in patients with normal-tension glaucoma and in control subjects. *Ophthalmology* 1995; 102: 1236-1241.
28. Sawada A, Kitazawa Y, Yamamoto T, Okabe I, Ichien K: Prevention of visual field defect progression with Brevin-camine in eyes with normal-tension glaucoma. *Ophthalmology* 1996; 103: 283-288.
29. Dettmann ES, Flammer J, Haeflinger I: Magnesium and vascular tone modulation. In: Drance SM, ed. *Glaucoma acular blood flow and drug treatment*. Amsterdam, New York: Kugler Publications, 1997; 79-86.
30. Gaspar AZ, Gasser P, Flammer J: The influence of magnesium on visual field and peripheral vasospasm in glaucoma. *Ophthalmologica* 1995; 209: 11-3.
31. Kamal D, Hitchings R: Normal pressure glaucoma-a practical approach. *Br J Ophthalmol* 1998; 82: 835-840.
32. Mermoud A: *Ophthalmologica* 1990; 201: 145-151.
33. Shields MB: *Optic nerve head and peripapillary retina*, in textbook of glaucoma. Baltimore, Williams & Wilkins, 1998, ed 4, pp 72-107.
34. Garcia-Valenzuela E, Shareef S, Walsh J, et al: Programmed cell death of retinal ganglion cells during experimental glaucoma. *Exp Eye Res* 1995; 61: 33-44.
35. Kerrigan LA, Zack DJ, Quigley HA, et al: TUNEL-positive ganglion cells in human primary-open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1997; 115: 1031-1035.
36. Nickells RW: retinal ganglion cell death in glaucoma: the how, the why, and the maybe. *J Glaucoma* 5:345-356, 1996
37. Nickells RW, Zack DJ: Apoptosis in ocular disease: a molecular overview. *Ophthalmic Genet* 1996; 17: 145-165.
38. Okisaka S, Murakami A, Ito J: Apoptosis in retinal ganglion cell decrease in human glaucomatous eyes. *Jpn J Ophthalmol* 1997; 41: 84-88.
39. Vorwerk CK, Hyman BT, Miller JW, et al: the role of neuronal and endothelial nitric oxide synthase in retinal excitotoxicity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38: 2038-2044.
40. Siliprandi R, Canelle R, Carmignoto G: N-methyl-D-aspartate-induced neurotoxicity in the adult rat retina. *Vis Neurosci* 1992; 8: 567-573.
41. Dreyer EB, Pan ZH, Storm S, Lipton SA: Greater sensitivity of larger retinal ganglion cells to NMDA-mediated cell death. *Neuroreport* 1995; 6: 942-944.
42. Dreyer EB, Zurakowski D, Schumer RA, Podos SM, Lipton S: Elevated glutamate levels in the vitreous body of humans and monkeys with glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1996; 114: 299-305.
43. Richter C: Nitric oxide and its congeners in mitochondria: implications for apoptosis. *Environ Health Perspect* 1998; 106 (Suppl 5): 1125-1130.
44. Yoles E, Schwartz M: Elevation of intraocular glutamate levels in rats with partial lesion of the optic nerve. *Arch Ophthalmol* 1998; 116: 906-910.

45. Yoles E, Nuller S, Schwartz M: NMDA-receptor antagonist protects neurons from secondary degeneration after partial optic nerve axotomy. *J Neurotrauma*. 1996; 13: 49-57.
46. Schwartz M, Block F, Pergande G: N-methyl-D-aspartate (NMDA)-mediated muscle relaxant action of flupirtine in rats. *Neuroreport* 1994; 5: 1981-1984.
47. Osborne NN, De Santis L, Bae JH, Ugarte M, Wood JPM, Nash MS, Chidlow G: Topically applied betaxolol attenuates NMDA-induced toxicity to ganglion cells and the effects of ischemia to the retina. *Exp eye Res* 1999; 69: 331-342.
48. Neufeld A: Nitric Oxide: A potential mediator of retinal ganglion cell damage in glaucoma. *Surv Ophthalmol* 43 (Suppl 1); 1999: S129-S 135.
49. Bonfoco E, Krainc D, Ankarcrona M, et al: Apoptosis and necrosis: two distinct events induced, respectively, by mild and intense insults with NMDA or NO superoxide in cortical cell cultures. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 7162-7166.
50. Brune B, von Knethen A, Sandau KB: Nitric oxide and its role in apoptosis. *Eur J Pharmacol* 1998; 35: 261-272.
51. Brune B, von Knethen A, Sandau KB: Apoptotic cell death and nitric oxide: activating and antagonistic transducing pathways. *Biochemistry* 1998; 63: 817-825.
52. Lopez farre A, Rodriquez Feo JA, Sanches de Mguel, et al: Role nitric oxide in the control of apoptosis in the microvasculature. *Int J Biochem Cell Biol* 1998; 30: 1095-1106.
53. Pai N, Zdanski CJ, Gregory CW, et al: Sodium nitroprusside / nitric oxide causes apoptosis in spiral ganglion cells. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 119: 323-330.
54. Richter C: Nitric oxide and its congeners in mitochondria: implications for apoptosis. *Environ Health Perspect* 1998; 106 (Suppl 5): 1125-1130.
55. Roth S: Role of nitric oxide in retinal cell death. *Clin Neurosci* 1997; 4: 216-223.
56. Levin LA, Schlamp CL, Spieldoch RL: Identification of bcl-2 family genes in the rat retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 38: 2545-2553.
57. Becquet F, Courtois Y, Goureau O: Nitric oxide in the eye: Multifaceted roles and diverse outcomes. *Sur Ophthalmol* 1997; 42: 71-82.
58. Bredt DS, Snyder SH: Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. *Ann Rev Biochem* 1994; 63: 175-195.
59. Kröncke KD, Fehsel K, KolbBachofen V: Inducible nitric oxide synthase and its product nitric oxide, a small molecule which complex biological activities. *Biol Chem Hoppe-Seyler* 1995; 376: 327-343.
60. Nussler AK, Billiar TR: Inflammation, immunoregulation, and inducible nitric oxide synthase. *J Leuko Biol* 1993; 54: 171- 178.
61. Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1998; 333: 664-666.
62. Marletta MA: Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J Biol Chem* 1993; 268: 12231-12234.
63. Nathan CF: Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J* 1992; 6: 3051-3064.
64. Stamler JS, Feelisch M: Biochemistry of NO and redox-related species, in Feelisch M, Stamler JS (eds): *Methods of nitric oxide research*. New York, John Wiley&Sons, 1996, pp 19-27.
65. Förstermann U, Kleinert H: Nitric oxide synthase: expression and expressional control of the three isoforms. *Naturyn- Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1995; 1352: 351-364.
66. Knowles RG, Moncada S: Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 1994; 298: 249-258.
67. Kerwin JF Jr, Lancaster JR, Feldman PL: Nitric oxide: a new paradigm for second messengers. *J Med Chem* 1995; 38: 4343-4362.
68. Stamler JS: Redox signaling: nitrosylation and related target interactions of nitric oxide. *Cell* 78:931-936,1994
69. Stamler JS, Simon DI, Osborne JA, et al: S-nitrosylation of proteins with nitric oxide: synthesis and characterization of biologically active compounds. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 444-448.
70. Stamler JS, Singel JS, Loscalzo J: BiochemisW, of nitric oxide and its redox-activated forms. *Science* 1992; 258: 1898-1902.
71. Schmidt HHHW, Lohmann SM, Walter U: The nitric oxide and cGMP signal transduction system: regulation and mechanism of action. *Biochim Biophys Acta* 1993; 1178: 153-175.
72. Henry Y, Lepoivre M, Drapier JC, et al: EPR characterization of molecular targets for nitric oxide in mammalian cells and organelles. *FASEB J* 1993; 7: 1124-1134.
73. Beckman JS, Crow JP: Pathological implications of nitric oxide, superoxide and peroxynitrite formation. *Biochem Soc Trans* 1993; 21: 330-334.
74. Ischiropoulos H, Zhu L, Chen J et al: Peroxynitrite-mediated tyrosine nitration catalysed by superoxide dismutase. *Arch Biochem Biophys* 1992; 298: 431-437.
75. Radi R, Beckman JS, Bush M, Freeman BA: Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J Biol Chem* 1991; 266: 4244-4250.
76. Radons J, Heller B, Bürkle A, et al: Nitric oxide toxicity in islet cells involves poly (ADP-ribose) polymerase activation and concomitant NAD⁺ depletion. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 199:1270-1277.
77. Zhang J, Dawson VI, Dawson TM, Snyder SH: Nitric oxide activity of poly(ADP-ribose) synthetase in neurotoxicity. *Science* 1994; 263: 687-689.
78. Goureau O, Lepoivre M, Mascarelli F, Courtois Y: Nitric oxide synthase activity in bovine retina, in Rigaud JL and INSERM (eds): *Structures and Functions of Retinal Proteins*, voll. 221. London, J Libbey Eurotext Ltd, 1992, pp 395-398
79. Venturini CM, Knowles RG, Palmer RMJ, Moncada S: Synthesis of nitric oxide in the bovine retina. *Biochem Biophys Res Comm* 1991; 180: 920-925.

80. Koch K, Lambrecht H, Haberecht M, et al: Functional coupling of a calcium/calmodulin-dependent nitric oxide synthase and a soluble guanyl cyclase in vertebrate photoreceptor cells. *EMBO J* 1994; 13: 3312-3320.
81. Yoshida A, Pozdnyakov N, Dang L, et al: Nitric oxide synthesis in retinal photoreceptor cells. *Vis Neurosci* 1995; 12: 493-500.
82. Osborne NN, Barnett NL, Herrera AJ: NADPH diaphorase Localization and nitric oxide synthetase activity in the retina and anterior uvea of the rabbit eye. *Brain Res* 1993; 610: 194-198.
83. Yamamoto R, Bredt DS, Snyder SH, Stone RA: The localization of nitric oxide synthase in the eye and related cranial ganglia. *Neurosci* 1993; 54: 189-200.
84. Perez MTR, Larsson B, Alm P, et al: Localization of neuronal nitric oxide synthase-immunoreaction in rat and rabbit retinas. *Brain Res* 1995; 104: 207-217.
85. Lieppe BA, Stone C, Koistinaho J, Copenhagen DR: Nitric oxide synthase in Müller cells and neurons of salamander and fish retina. *J Neurosci* 1994; 14: 7641-7654.
86. Park C, Pardhasaradhi K, Gianotti C, et al: Human retina expresses both constitutive and inducible isoforms of nitric oxide synthase mRNA. *Biochem Biophys Res Comm* 1994; 205: 85-91.
87. Chakravarthy U, Stitt AW, McNally J et al: Nitric oxide synthase activity and expression in retinal capillary endothelial cells and pericytes. *Curr Eye Res* 1995; 14: 285-294.
88. Nathanson JA, McKee M: Identification of an extensive system of nitric oxide-producing cells in the ciliary muscle and outflow pathway of the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36: 1765-1773.
89. Goureau O, Hicks D, Courtois Y, de Kozak Y: Induction and regulation of nitric oxide synthase in retinal Müller glial cells. *J Neurochem* 1994; 63: 310-7.
90. Goureau O, Lepoivre M, Courtois Y: Lipopolysaccharide and cytokines induce a macrophage-type of nitric oxide synthase in bovine retinal pigmented epithelial cells. *Biochem Biophys Res Comm* 1992; 186: 854-859.
91. Goureau O, Hicks D, Courtois Y: Human retinal pigmented epithelial cells produce nitric oxide in response to cytokines. *Biochem Biophys Res Comm* 1994; 198: 120-126.
92. Liversidge J, Grabowski P, Ralston S, et al: Rat retinal pigment epithelial cells express an inducible form of nitric oxide synthase and produce nitric oxide in response to inflammatory cytokines and activated T cells. *Immunology* 1994; 83: 404-409.
93. Sparrow JR, Vathan CF, Vodovoti Y: Cytokine regulation of nitric oxide synthase in mouse retinal pigment epithelial cells in culture. *Exp Eye Res* 1994; 59: 129-139.
94. Nussler AK, Billiar TR: Inflammation, immunoregulation, and inducible nitric oxide synthase. *J Leuko Biol* 1993; 54: 171-178.
95. Nathan CF, Xie Q: Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. *Cell* 1994; 78:915-918.
96. Goureau O, Lepoivre M, Becquet F, Courtois Y: Differential regulation of inducible nitric oxide synthase by basic fibroblast growth factors and transforming growth factor B in bovine retinal pigmented epithelial cells: inverse correlation with cellular proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 4276-4280.
97. Goureau O, Faure V, Courtois Y: Fibroblast growth factors decrease inducible nitric oxide synthase mRNA accumulation in bovine retinal pigmented epithelial cells. *Eur J Biochem* 1995; 230: 1046-1052.
98. Hicks D, Bugra K, Fauchoux B, et al: Fibroblast growth factors in the retina. *Prog Ret Res* 1991; 11: 333-374.
99. Meijer F, Van Delft JL, Garrelds IM, et al: Nitric oxide plays a role as a mediator of conjunctival edema in experimental allergic conjunctivitis. *Exp Eye Res* 1996; 62: 359-365.
100. Whitworth CG, Grant WM: Use of nitrate and nitrite vasodilators in glaucomatous patients. *Arch Ophthalmol* 1964; 71: 492-496.
101. Erickson-Lamy K, Vathanson J: The effects of endothelin, atrial natriuretic factor and nitroglycerine on outflow facility in the primate eye, in Lutjen-Drecoll E (ed): *Basic Aspects of Glaucoma Research III*. Mainz, Schattauer Verlag, 1993, pp 275-285.
102. Nathanson JA: Direct application of a guanylate cyclase activator lowers intraocular pressure. *Eur J Pharmacol* 1998; 147: 155-156.
103. Nathanson JA: Nitrovasodilators as a new class of ocular hypotensive agents. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 260: 956-965.
104. Nathanson JA, Bartels S, Krug J: Ocular actions of atrial natriuretic peptides and guanylate cyclase activators, in Drance S, Neufeld J, Van Buskirk E (eds): *Applied Pharmacology of the Glaucomas*. Baltimore, Williams and Wilkins, 1992, pp 158-174.
105. Schuman J, Erickson K, Nathanson JA: Nitrovasodilator effects on intraocular pressure and outflow facility in monkeys. *Exp Eye Res* 1994; 58: 99-105.
106. Becker B: Topical 8-bromo-cyclic GMP lowers intraocular Pressure in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 31: 1647-1649.
107. Korenfeld MS, Becker B: Atrial natriuretic peptides: effects on intraocular pressure, cGMP and aqueous flow. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30: 2385-2392.
108. Mittag TW, Tormav A, Ortega M, Severin C: Atrial natriuretic peptide (AhP), guanylate cyclase, and intraocular pressure. *Curr Eye Res* 1987; 6: 1189-1196.
109. Nathanson JA: Atriopeptin-activated guanylate cyclase in the anterior segment. Identification, localization and effects of atriopeptins on IOP. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1987; 28: 1357-1364.
110. Wiederholt M, Sturn A, Leppe-Weinhues A: Relaxation of trabecular meshwork and ciliary muscle by release of nitric oxide. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35: 1515-1520.
111. Neufeld AH: Influences of cyclic nucleotides on outflow facility in the vervet monkey. *Exp Eye Res* 1978; 27: 387-397.

112. Flugel C, Barany EH, Lütjen-Drecoll E: Histochemical differences within the ciliary muscle and its function in accommodation. *Exp Eye Res* 1990; 50:219-26.
113. Kaufman PL, Gabelt BT: Cholinergic mechanisms and aqueous humor dynamics, in Drance S, Veufeld A, Van Buskirk E (eds): *Applied Pharmacology of the Glaucoma's*. Baltimore, Williams and Wilkins, 1992, pp 64-92.
114. Kaufman PL, Gabelt BT: Cholinergic mechanisms and aqueous humor dynamics, in Drance S, Veufeld A, Van Buskirk E (eds): *Applied Pharmacology of the Glaucoma's*. Baltimore, Williams and Wilkins, 1992, pp 64-92.
115. Rohen JW, Lutjen-Drecoll E: Morphology of aqueous outflow pathways in normal and glaucomatous eyes, in Ritch R, Shield M, Krupin T (ed): *The Glaucomas*. Philadelphia, CV Mosby, 1989, pp 41-74.
116. Nathanson JA, McKee M: Alterations of ocular nitric oxide synthase in human glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36: 1774-1784.
117. Haefliger IO, Meyer P, Flammer J, Lüscher TF: The vascular endothelium as a regulator of the ocular circulation: a new concept in ophthalmology. *Surv Ophthalmol* 1994; 39: 123-132.
118. Lipton SA, Choi YB, Pan ZH, et al: A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature* 1993; 364: 626-632.
119. Flammer J: To what extent are risk factors involved in the pathogenesis of glaucoma. In *Ocular Blood Flow* Kaiser HJ, Flammer J, Hendrickson Ph eds. Basel. Karger 1996: 12-39.
120. Kaiser HJ, Flammer J, Wenk M, Lüscher T: Endothelin-1 plasma levels in normal-tension glaucoma: abnormal response to postural changes. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 1995; 233: 484-488.
121. Meyer P, Flammer J, Lüscher TF: Endothelium-dependent regulation of the ophthalmic microcirculation in the perfused porcine eye: role of nitric oxide and endothelins. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993; 34: 3614-3621.
122. Behar-Cohen FF, Goureau O, O'Hermis F, Counois Y: Decreased intraocular pressure induced by nitric oxide donors is correlated to nitrite production in the rabbit eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37: 1711-1715.
123. Noske W, Hensen J, Wiederholt M: Endothelin-like immunoreactivity in aqueous humor of primary open angle glaucoma and cataract patients. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 1997; 235: 551-552.
124. Nathanson JA, McKee M: Alteration of ocular nitric oxide synthase in human glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36: 1774-1784.