

İskemi Reperfüzyon Modelinde Pentoksifilin'in Retina Nitrik Oksit Düzeyine Etkisi

EFFECT OF PENTOXIFYLLINE ON NITRIC OXIDE LEVEL IN RETINAL ISCHEMIA/ REPERFUSION INJURY

Tamer DEMİR*, Burak TURGUT**, Nevin İLHAN***, Fatih ULAŞ****

* Yrd.Doç.Dr., Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hast.AD, FTM,

** Uz.Dr., Elazığ Devlet Hastanesi Göz Kliniği,

*** Yrd.Doç.Dr., Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD, FTM,

****Arş.Gör.Dr., Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hast.AD, FTM, ELAZIĞ

Özet

Amaç: Bu çalışmada retina iskemisi/ reperfüzyon (İ/R) hasarında retina nitrik oksit seviyesine pentoksifilin'in etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada 15 adet kobay, kontrol, tedavinin kontrolü ve tedavi (Pentoksifilin) grubu olmak üzere üç eşit gruba ayrıldı. Tedavinin kontrolü ve tedavi gruplarına 90 dk süreyle, basınçla indüklenen iskemisi uygulandıktan sonra tedavinin kontrolü grubunda serum fizyolojik, tedavi grubunda ise 45mg/kg pentoksifilin sekiz saat ara ile üç defa intraperitoneal olarak uygulanarak 24 saat süreyle reperfüzyona devam edildi. Reperfüzyonun ardından tüm gruplardaki hayvanların her iki gözleri enükle edilip retina dokuları ayrılarak biyokimyasal çalışma yapıldı. Retinada nitrat seviyeleri ölçüldü ve tüm grupların retina nitrat seviyelerinin ortalamaları ve standard deviasyon (SD) hesaplandı. Değerler Mann Whitney U testi ile değerlendirildi ve $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Nitrat seviyeleri kontrol grubunda 153.4 ± 23.13 $\mu\text{mol/gr}$ yaş doku, tedavinin kontrolü grubunda 112.6 ± 17.03 $\mu\text{mol/gr}$ yaş doku, tedavi grubunda ise 137.8 ± 16.49 $\mu\text{mol/gr}$ yaş doku olarak belirlendi. Tedavinin kontrolü grubunda nitrat seviyesinin kontrol ve tedavi grubuna göre belirgin olarak düşük olduğu ($p<0.01$, $p<0.05$), tedavi grubu ile kontrol grubunun nitrat seviyeleri arasındaki farkın anlamlı olmadığı belirlendi ($p>0.05$).

Sonuç: Çalışmamızda iskemisi/ reperfüzyon hasarında nitrik oksit seviyesini koruduğu belirlenen pentoksifilin'in, retina İ/R hasarının engellenmesinde kullanılabilecek bir tedavi seçeneği olabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Pentoksifilin, Nitrik-oksit, Retinal iskemisi, Reperfüzyon

T Klin Oftalmoloji 2004, 13:31-35

Summary

Objective: This experimental study was performed to investigate the effect of pentoxifylline on retinal nitric oxide levels in the ischemia/reperfusion injury in a guinea pig model.

Materials and Methods: In this study, three groups of five pigmented guinea pigs were formed; control, sham and the treatment (Pentoxifylline) groups. Pressure induced 90 minutes of retinal ischemia and 24 hours of reperfusion were established in the sham and treatment groups. Saline for sham group and 45 mg/kg of Pentoxifylline for treatment group were administered intraperitoneally in three times with eight hours intervals. At the end of the reperfusion period both eyes of the animals of all groups were enucleated. One eye of each animal was randomly selected for biochemical assay and retinal nitrate levels were measured and we calculated the arithmetical averages and SD for each group. Statistical analysis was performed with Mann-Whitney U test, p values < 0.05 were considered significant.

Results: The mean retinal nitrate levels of the control, sham and treatment groups were 153.4 ± 23.13 $\mu\text{mol/gr}$ wet tissue, 112.6 ± 17.03 $\mu\text{mol/gr}$ wet tissue and 137.8 ± 16.49 $\mu\text{mol/gr}$ wet tissue respectively. Nitrate levels decreased significantly in sham group than control and treatment groups ($p<0.01$, $p<0.05$). Nitrate levels of treatment group and control group were found similar ($p>0.05$).

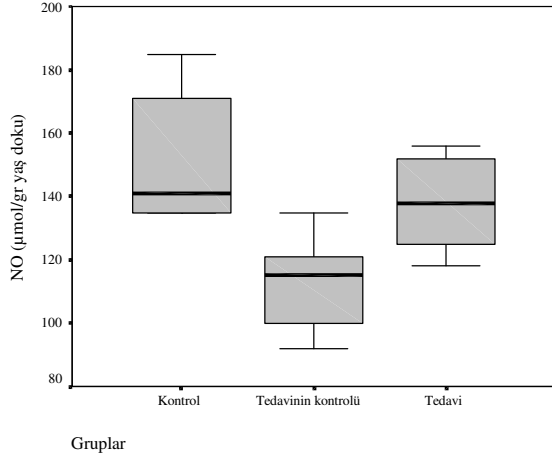
Conclusion: Pentoxifylline that shows a protective effect in retinal ischemia- reperfusion injury kept retinal nitric oxide levels stable in our study, this may make it a potential alternative agent for the prevention of retinal ischemia-reperfusion injury.

Key Words: Pentoxifylline, Nitric-oxid, Retinal ischemia, Reperfusion

T Klin J Ophthalmol 2004, 13:31-35

Metilksantin teobromin derivesi olan pentoksifilin (PTX) dokularda fosfodiesteraz ve fosfolipaz A2 inhibitörü olarak etki etmekte ve bu

inhibitör etki ile eritrositlerde, endotelde ve çevre dokularda siklik adenozin monofosfat (cAMP) seviyelerini yükseltmektedir (1). PTX güçlü bir



Şekil 1. NO düzeyleri yönünden kontrol, tedavinin kontrolü ve tedavi gruplarının karşılaştırılması. (*p<0,02, **p<0,05)

serbest radikal giderici ajandır (2-4). PTX doku plazminojen aktivatörünü süprese ederek fibrinolitik aktiviteyi düzenlemektedir (5). PTX endotoksi, inflamatuvar barsak hastalıkları, AIDS (edinilmiş immün yetersizlik sendromu) ve organ transplantasyonu, optik sinirin damarsal hastalıkları, serebrovasküler yaralanmalar ve bazı mikrovasküler hastalıkların tedavisi için klinik ve deneysel çalışmalarda kullanılmaktadır (2,6-11).

Nitrik oksit (NO) birçok hastalığın patofizyolojisinde rol oynayan bir serbest radikaldir. Damarlarda önemli bir sinyal molekülü olan NO endotel hücrelerinde sürekli olarak üretilir ve vazodilatasyon ile kan akımının devamını sağlar. Ayrıca trombosit agregasyon ve adezyonunu önlemektedir (12-14). Nitrik oksitin fizyolojik olayların idamesi ve özellikle patolojik durumlarda retina önemli rol oynadığı bilinmektedir (15).

Dokularda iske mi/ reperfüzyon (İ/R) hasarında doku fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak NO seviyesinin azaldığı bildirilmektedir (16-17). İske mi/ reperfüzyon hasarında artan süperoksit anyonu NO yolunda bağlayıcı etki göstererek NO seviyesini azaltmaktadır. Bu çalışmada İ/R hasarının önlenmesinde pentoksifilin'in retina nitrat seviyesine olan etkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler

Bu çalışmaya 470-640 gr ağırlığında 15 adet pigmentli kobayın 30 gözü dahil edildi. Kobaylar

kontrol, tedavinin kontrolü ve tedavi olmak üzere üç eşit gruba ayrıldı. Kontrol grubuna hiçbir girişim ve tedavi uygulanmazken, tedavinin kontrolü ve tedavi gruplarına 90 dk retina iskemisi, 24 saat reperfüzyon uygulandı. İske mi sonrası tedavinin kontrolü grubuna serum fizyolojik, tedavi grubuna ise PTX enjeksiyonu yapıldı.

Deneklerin anestezisi intramusküler ketamin HCl (50 mg/kg) ve xylazine (5 mg/kg) ile sağlandı, hayvanların her iki gözüne topikal anestetik olarak oksibuprokain HCl damla olarak uygulandı. Denek gözlerinin ön kamarasına ringer laktatlı serumla bağlı 27 gauge'lık iğne ile girilerek serum şişesi göz içi basıncı 150 mmHg'ya ulaşana kadar yükseltildi. Basınçla indüklenen iske mi süresi 90 dk devam ettirildikten sonra, iğne ön kamaradan çekilerek 24 saat reperfüzyona devam ettirildi (15). Reperfüzyon süresince tedavinin kontrolü grubuna serum fizyolojik, tedavi grubuna ise 45 mg/kg PTX sekiz saat ara ile üç defa intraperitoneal uygulandı. Reperfüzyon süresinin sonunda tüm gruplara tekrar anestezi uygulanıp her iki gözleri enükle edildikten sonra 50 mg/kg thiyopental intrakardiyak verilerek deneklerin yaşamına son verildi. Enükle edilen gözler buz kalıbı üzerine konularak retina dokuları ayrıldı ve biyokimyasal çalışma yapılınca kadar alüminyum folyo ile kaplanarak -80°C de saklandı. Retina dokusunun NO aktivitesi indirekt yolla NO'in metaboliti olan retina nitrat seviyesinin ölçülmesi ile belirlendi. 100 mikrolitre homojenize doku örneği 200 mikrolitre %10'luk çinkosülfat ve 200 mikrolitre 0.5 N sodyum hidroksit solüsyonu eklenerek deproteinize edildi. Daha sonra +4°C de 5 dk süreyle santrifüj edildi ve nitrat seviyesinin spektrofotometrik ölçümü µmol/gr yaş doku olarak belirtildi (18). Grupların retina nitrat seviyelerinin ortalamaları ve SD hesaplandı. Değerler Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. P<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Nitrat seviyeleri kontrol grubunda 153.4±23.13 µmol/gr yaş doku, tedavinin kontrolü grubunda 112.6±17.03 µmol/gr yaş doku, tedavi grubunda ise 137.8±16.49 µmol/gr yaş doku olarak

belirlendi. Tedavinin kontrolü grubunda nitrat seviyesinin kontrol ve tedavi grubuna göre belirgin olarak düşük olduğu ($p<0.01$, $p<0.05$), tedavi grubu ile kontrol grubunun nitrat seviyeleri arasındaki farkın anlamlı olmadığı belirlendi ($p>0.05$).

Tartışma

İskemi/reperfüzyon hasarında birçok patofizyolojik mekanizma rol almaktadır. Bu mekanizmalardan biri de serbest oksijen radikallerinin (SOR) yol açtığı hasar etkisidir. Serbest radikal gidericilerin İ/R hasarını azalttığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (19). Oksijen aerobik organizma yaşamı için gerekli olmasına rağmen, reaktif oksijen ürünlerinin üretimi için de gereklidir. Reaktif oksijen ürünleri yüksek oranda doymamış yağ asidi içeren hücre membranının oksidatif atağa maruz kalmasına neden olur. Hücre membranının peroksidasyonu hücre ölümü için bir önceki basamaktır (20-22).

Diyabetik hastalarda, santral ve dal retinal ven tıkanıklığı olan hastalarda kan akımının sağlanması amacıyla PTX önerilmektedir. PTX tümör nekroz faktör, sitokinlerden IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, gama interferon, 'transforming growth' faktör ve vasküler endotelial faktör gibi adezyon moleküllerini inhibe etmektedir (6-7). Ayrıca PTX polimorf nüveli lökosit infiltrasyonlarını inhibe etmekte ve serbest radikallerin lokal rejenerasyonlarını azaltmaktadır. PTX, lökosit ve nötrofiliyi azaltmakta ve monosit, makrofaj ve nötrofillerin fagositik ve mikrobisid etkilerini inhibe etmektedir. PTX, doku hasarında rol oynayan nötrofil, monosit ve makrofajların yoğunluğunu azaltmaktadır (6-7,10,16,23-29). Lökositler İ/R hasarında rol oynayan en önemli etmenlerdendir. İnflamasyona sekonder olarak ortaya çıkan sitokinler ve SOR hasara katkı sağlamaktadır. PTX sitokin yapımını baskılayarak, SOR oluşumunu azaltarak ve vasküler akımı düzenleyerek İ/R hasarını önlemektedir. PTX İ/R'da dokuların polimorf nüveli lökosit infiltrasyonlarını azaltmaktadır (30). Pentoksifilinin retina iskemik reperfüzyonu sonrası bu yararlı etkisinin polimorf nüveli lökositlerin aktivasyonunun inhibisyonuna bağlı olarak mikrovasküler perfüzyonu iyileştirmesi ile ilişkili olabileceği düşü-

nülmektedir. Çalışmamızda retinanın İ/R hasarında NO seviyesi PTX ile korunmuştur. Retina İ/R hasarında pentoksifilinin NO'ye etkisine dair bir çalışma literatürde bulunamamıştır. Ancak NO seviyesinin İ/R hasarında SOR'nin varlığında azaldığı rapor edilmiş ve bu azalmanın doku disfonksiyonunda ek bir rol aldığı öne sürülmüştür (16,31-34). İskemi/reperfüzyon sonrası artmış süperoksit bağlanımı ve yıkımı nedeni ile NO yolunda yetmezlik olduğu bildirilmektedir (32-33). Bu nedenle pentoksifilinin serbest radikal giderici etkisine bağlı olarak NO seviyesi korunmuş olabilir.

Nitrik oksit önemli bir mesajcı olup üç değişik izoformu olan NO sentetaz (NOS) tarafından sentezlenir. Nöronal ve endotelial NOS benzer enzimatik karakteristiklere sahiptir ve 'constitutive' NOS olarak adlandırılır ve kalsiyuma bağlı olarak görev görür (35). Üçüncü form olan indüklenebilir NOS ise kalsiyumdan bağımsızdır (35). Nöronal NOS immünreaktivitesi, amakrin, horizontal ve fotoreseptör hücrelerinde, endotelial NOS immünreaktivitesi retina ve koroidin vasküler endotelinde bulunmaktadır. İndüklenebilir form ise RPE'de, Müller hücrelerinde ve perisitlerde mevcuttur (36-40). Sistemik NOS inhibisyonunun hayvanlarda ve insanlarda belirgin olarak koroidal kan akımında azalmaya yol açtığı gösterilmiştir (41-43). Nitrik oksit vazodilatasyon ile birlikte trombositlerin, agregasyon ve adezyonlarını inhibe etmektedir. İskemi/ reperfüzyon süresinde nitrik oksidin doku seviyesinin artması ve azalması ile ilgili birbiri ile çelişen çalışmalar bulunmaktadır (16, 31). Ancak çalışmamızda tedavinin kontrolü grubunda NO seviyesinin belirgin olarak azaldığı belirlenmiştir. Rapor edilen bu farklı düzeyler iskemik hasar evresine, kullanılan değişik iskemik modellerine, NOS inhibitörlerine veya denek cinslerine bağlı olabilir.

NO iskemik hasarda uyarıcı aminoasitlerin (glutamat, aspartat) yol açtığı iskemik hasar ve sonrasında gelişen hücre içi kalsiyum ve serbest radikal aktivitesinin neden olduğu hücre ölümünde uyarıcı aminoasit reseptörleri ile etkileşerek, serbest radikallerin sebep olduğu patolojilerde rol alarak ve kan akımı, nötrofil aktivitesi, trombosit agregasyonu üzerinde etkili olur (44). NO'in fiz-

yolojik aktivitesi serbest radikaller ile bozulur ve süperoksit dismutaz ile stabilize olur, süperoksit dismutaz serbest radikallerin yıkımını katalize eder (45). NOS inhibitörü olan L-NAME'in lipit peroksidasyonunu artırdığı rapor edilmiştir. Lipit peroksidasyonundaki artışa bağlı olarak NO seviyesinde azalma görülmektedir (17, 46-47).

Çalışmamızda pentoksifilinin, İ/R hasarında nitrik oksit seviyesini koruduğu belirlenmiştir. Pentoksifilinin bu yararlı etkisinin İ/R hasarının engellenmesine katkısı olabileceği düşünülmektedir. Konuyla ilgili daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Ward A, Clissold SO. Pentoxifylline. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and its therapeutic efficacy. *Drugs* 1987; 34(1): 50-97.
2. Van Leenen D, van der Poll T, Levi M, et al. Pentoxifylline attenuates neutrophil activation in experimental endotoxemia in chimpanzees. *J Immunol* 1993; 151:2318-25.
3. Mandell GL. Cytokines, phagocytes and pentoxifylline. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 25 (Suppl 2):20-2.
4. Accardo-Palumbo A, Triolo G, Carbone MC, et al. Polymorphonuclear leukocyte myeloperoxidase levels in patients with Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol* 2000;18:495-8.
5. Biemond BJ, Levi M, Ten Cate H, et al. Plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor I release during experimental endotoxaemia in chimpanzees: effect of interventions in the cytokine and coagulation cascades. *Clin Sci* 1995; 88:587-94.
6. Chaouat G, Assal Meliani A, Martal J, et al. IL-10 prevents naturally occurring fetal loss in the CBA x DBA/2 mating combination, and local defect in IL-10 production in this abortion-prone combination is corrected by in vivo injection of IFN-tau. *J Immunol* 1995; 154:4261-8.
7. Koo DJ, Yoo P, Cioffi WG, et al. Mechanism of the beneficial effects of pentoxifylline during sepsis: maintenance of adrenomedullin responsiveness and downregulation of proinflammatory cytokines. *J Surg Res* 2000; 91:70-6.
8. Krysztolik RJ, Matheson PJ, Spain DA, et al. Lazaroid and pentoxifylline suppress sepsis-induced increases in renal vascular resistance via altered arachidonic acid metabolism. *J Surg Res* 2000; 93:75-81.
9. Reimund JM, Dumont S, Muller CD, et al. In vitro effects of oxpentoxifylline on inflammatory cytokine release in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 1997; 40:475-80.
10. Navarro J, Punzon MC, Pizarro A, et al. Pentoxifylline inhibits acute HIV-1 replication in human T cells by a mechanism not involving inhibition of tumor necrosis factor synthesis or nuclear factor-kappa B activation. *AIDS* 1996; 10:469-75.
11. Bergese SD, Pelletier RP, Vallera D, et al. Regulation of endothelial VCAM-1 expression in murine cardiac grafts. Roles for TNF and IL-4. *Am J Pathol* 1995; 146:989-98.
12. Bergese SD, Huang EH, Pelletier RP, et al. Regulation of endothelial VCAM-1 expression in murine cardiac grafts. Expression of allograft endothelial VCAM-1 can be manipulated with antagonist of INF-alpha or IL-4 and is not required for allograft rejection. *Am J Pathol* 1995; 147:166-75.
13. Hardy P, Dumont I, Bhattacharya M, Hou X, Lachapelle P, Varma D, Chemtob S. Oxidants, nitric oxide and prostanooids in the developing ocular vasculature: a basis for ischemic retinopathy. *Cardiovasc Res* 2000; 47: 489-509.
14. Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S. An L- arginine/nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 5193-7.n
15. Celiker U, Ilhan N. Nitric oxide and octreotide in retinal ischemia-reperfusion injury. *Doc Ophthalmol* 2002; 00: 1-12.
16. Engelman DT, Watanabe M, Engelman RM, Rousou JA, Flack JE, Deaton D, Das DK. Constitutive nitric oxide release is impaired after ischemia and reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 110: 1047-53.
17. Köken T, İnal M. The effect of nitric oxide on ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Clin Chim Acta* 1999; 288: 55-62.
18. Szabo EM, Droy-Lefaix TM, Doly M, Braquet P. Ischemia- and reperfusion-induced Na, K, Ca and Mg shifts in rat retina: effects of two free radical scavengers, SOD and EGB 761. *Exp Eye Res* 1992; 55: 39-45.
19. Borries PN, Borries C. Nitrate determination in biological fluids by an enzymatic one step assay with nitrate reductase. *Clin Chem* 1995; 41: 904-7.
20. Hossmann KA. Ischemia-mediated neuronal injury. *Resuscitation* 1993; 26: 225-35.
21. Conger JD, Weil JV. Abnormal vascular function following ischemia-reperfusion injury. *J Invest Med* 1995; 43: 431-42.
22. Zimmerman BJ, Granger DN. Mechanisms of reperfusion injury. *Am J Med Sci* 1994; 307: 284-92.
23. Van Furth AM, Verhard-Seijmonsbergen EM, Langermans JA, et al. Effect of xanthine derivatives and dexamethasone on Streptococcus pneumoniae-stimulated production of tumor necrosis factor alpha, interleukin-1 beta (IL-1 beta), and IL-10 by human leukocytes. *Clin Diagn Lab Immunol* 1995; 2:689-92.
24. Hoskin DW, Phu T, Makrigiannis AP. Pentoxifylline inhibits granzyme B and perforin expression following T-lymphocyte activation by anti-CD3 antibody. *Int J Immunopharmacol* 1996;18:623-31.
25. Bengtsson A, Redl H, Schlag G, et al. Effects on complement activation and cytokine (TNF-alpha and IL-8) release on infusion of anti-TNF-antibodies or a xanthine derivative (HWA 138) in septic baboons. *Acta Anaesthesiol Scand* 1996; 40:244-9.
26. Krakauer T. Pentoxifylline inhibits ICAM-1 expression and chemokine production by proinflammatory cytokines in human pulmonary epithelial cells. *Immunopharmacol* 2000; 46:253-61.

27. Rieneck K, Diamant M, Haahr PM, et al. In vitro immunomodulatory effects of pentoxifylline. *Immunol Lett* 1993; 37:131-8.
28. Fang CC, Yen CJ, Chen YM, et al. Pentoxifylline inhibits human peritoneal mesothelial cell growth and collagen synthesis: effects on TGF-beta. *Kidney Int* 2000; 57:2626-33.
29. Hasebe Y, Thomson LR, Dorey CK. Pentoxifylline inhibition of vasculogenesis in the neonatal rat retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41:2774-8.
30. Armstrong MJ, Needham D, Hatchell DL, et al. Effect of pentoxifylline on the flow of polymorphonuclear leukocytes through a model capillary. *Angiology* 1990; 41: 253-62.
31. Araki M, Tanaka M, Hasegawa K, et al. Nitric oxide inhibition improved myocardial metabolism independent of tissue perfusion during ischemia but not during reperfusion. *J Mol Cell Cardiol* 2000; 32: 375-84.
32. Pinsky DJ, Oz MC, Koga S. Cardiac preservation is enhanced in a heterotrophic rat transplant model by supplementing the nitric oxide pathway. *J Clin Invest* 1994; 93: 2291-7.
33. Gryglewski RJ, Palmer RMJ, Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium derived relaxing factor. *Nature* 1986; 320: 454-6.
34. Davidge ST, Ojimba J, McLaughlin MK. Vascular function in the vitamin E-deprived rat. An interaction between nitric oxide and superoxide anions. *Hypertension* 1998; 31: 830-5.
35. Hangai M, Yoshimura N, Hiroi K, Mandai M, Honda Y. Inducible nitric oxide synthase in retinal ischemia-reperfusion injury. *Exp Eye Res* 1996; 63: 501-9.
36. Yamamoto R, Brecht DS, Snyder SH, Stone RA. The localization of nitric oxide-synthase in rat eye and related cranial ganglia. *Neuroscience* 1993; 54: 19-200.
37. Perez MTR, Larsson B, Alm P, Anderson KE, Ehinger B. Localization of neuronal nitric oxide synthase-immunoreactivity in rat and rabbit retinas. *Brain Res* 1995; 104: 207-17.
38. Chakravarty U, Stitt AW, McNally J, Bailie J, Hoey EM, Duprex P. Nitric oxide synthase activity and expression in retinal capillary endothelial cells and pericytes. *Curr Eye Res* 1994; 14: 285-94.
39. 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.
40. Meyer P, Champion C, Schlotzer-Schrehardt U, Flammer J, Haefliger IO. Localization of nitric oxide synthase isoforms in porcine ocular tissues. *Curr Eye Res* 1999; 18: 375-80.
41. Deussen A, Sonntag M, Vogel R. L-arginine derived nitrous oxide: a major determinant of uveal blood flow. *Exp Eye Res* 1993; 57: 129-34.
42. Mann RM, Riva CE, Stone RA, Barnes GE, Cranstoun S. Nitric oxide and choroidal blood flow regulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36: 925-30.
43. 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: 123-32.
44. Goldstein IM, Ostwald P, Roth S. Nitric oxide: a review of its role in retinal function and disease. *Vision Res* 1996; 36: 2979-94.
45. Traystman RJ, Kirsch JR, Koehler RC. Oxygen free radical mechanisms of brain injury following ischemia and reperfusion. *J Appl Physiol* 1991; 71: 1185-95.
46. Matsumoto K, Yobimoto K, Huong NT, Abdel-Fattah M, Van Hien T, Watanabe H. Psychological stress-induced enhancement of brain lipid peroxidation via nitric oxide systems and its modulation by anxiolytic and angiogenic drugs in mice. *Brain Res* 1999 Aug 21; 839(1):74-84.
47. Hardy RL, Moore PK. A comparison of the effects of L-NAME, 7-NI and L-NIL on carrageenan-induced hindpaw oedema and NOS activity. *Br J Pharmacol* 1998; 123: 1119-26.

Geliş Tarihi: 03.12.2002

Yazışma Adresi: Dr.Tamer DEMİR

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi
Göz Hast. AD, FTM, 23200, ELAZIĞ
tamerperumay@yahoo.com