



## NEUROPROTEKCIJA KOD GLAUKOMA-SAVREMENE KONTRAVERZE

**Predrag Jovanović, Marija Radenković, Jasmina Djordjević-Jocić**

Klinika za očne bolesti KC Niš

Neuroprotekcija je savremeni terapijski pristup u cilju usporavanja i prevencije smrti nervnog tkiva a radi očuvanja fiziološke funkcije i kontrole bolesti. Glaukom predstavlja multifaktorijalno, progresivno, neurodegenerativno oboljenje sa karakterističnim propadanjem retinalnih ganglijskih ćelija (RGC) i gubitkom njihovih aksona što se manifestuje glaukomnom optičkom neuropatijom i gubitkom neurona corpus geniculatuma laterale i vidnog cortexa. Nastanak glaukoma objašnjava ekscitotoksična teorija, akumulacija glutamata, influks kalcijuma, prisustvo slobodnih radikala mehanizmom apoptoze ili nekroze ćelija. Terapija glaukoma je usmerena na sniženje intraokularnog pritiska i očuvanje RGC što se postiže farmakološkom neuroprotekcijom i savremenim terapijskim modalitetima: primena neurotrofina, genska terapija, transplantacija stem ćelija. Intraokularni pritisak je najznačajniji faktor rizika u nastanku glaukoma na koji se terapijom može uticati. Dokazano je da je do potvrde pouzdanog neuroprotektora, sniženje intraokularnog pritiska je najbolja neuroprotekcija. *Acta Ophthalmologica 2015;41(1):40-47.*

**Ključne reči:** glaukom, neuroprotekcija, retinalne ganglijske ćelije, terapija

### Uvod

U poslednjih 30 godina istraživači iz oblasti neuroloških nauka bave se neuroprotekcijom, terapijskom paradigmom i savremenim modalitetom u cilju usporavanja i prevencije smrti nervnog tkiva a radi očuvanja fiziološke funkcije i kontrole bolesti. Među istraživanjima neurodegenerativnih oboljenja svoje mesto zauzima i glaukom koji predstavlja multifaktorijalno, progresivno, neurodegenerativno oboljenje a karakteriše se stečenim propadanjem retinalnih ganglijskih ćelija (RGC) i gubitkom njihovih aksona što se manifestuje progresivnom glaukomnom optičkom neuropatijom i gubitkom neurona corpus geniculatuma laterale i vidnog cortexa. Intraokularni pritisak (IOP) je najznačajniji faktor rizika za nastanak i progresiju glaukoma na koji se terapijski može uticati (40).

Snižavanje intraokularnog pritiska je trenutno jedini dokazani metod za smanjenje rizika glaukomatoznog oštećenja vidnog polja i ostaje primarni cilj terapije. Moderna terapija glaukoma mora uključiti i akcije u smislu spašavanja života retinalnih ganglijskih ćelija (RGC) kao što su: poboljšavanje protoka krvi kroz tkiva oka, neuroprotekcija i regeneracija optikusa. Prva dva pristupa su predmet tekućih eksperimentalnih i kliničkih ispitivanja u oftalmologiji a regeneracija optikusa kao terapijska procedura je, na žalost, priželjkivana budućnost.

Još uvek nije jasno šta je uzročnik oštećenja optičkog nerva kod glaukoma. Patogeni mehanizmi odgovorni za gubitak retinalnih ganglijskih ćelija još nisu objašnjeni. Za oštećenje RGC najčešće se okrivljuju : visoki intraokularni pritisak (IOP), insuficijencija vaskularnog protoka, hemoreološke disfunkcije i metaboličke abnormalnosti (nedostatak neurotrofnih faktora).

Sa napredkom u molekularnoj i ćelijskoj biologiji došlo se do novih saznanja i pretpostavki o mehanizmima oštećenja RGC. Postoje dva tipa smrti ćelija: apoptoza i nekroza. Apoptoza je za razliku od nekroze u zavisnosti od genske ekspresije. Ovo je programirana smrt ćelije. Skorašnja ispitivanja retine kod eksperimentalnog glaukoma na animalnim modelima kao i u glaukomatoznih pacijenata su dokazala da RGC umiru od mehanizma sličnog apoptozi. Pošto se genetske informacije potrebne za apoptozu nalaze u neuronalnim ćelijama postavlja se pitanje šta prouzrokuje inicijalni signal koji vodi do krajnjih kaskada. Potencijalni inicijalni signali za apoptozu su: ekscitotoksičnost neurotransmitera glutamata (GLU), slobodni radikali (OFR), sinteza nitričnog oksida (NO) i abnormalnosti u metabolizmu kalcijuma ( $Ca^{++}$ ). Smatra se da najznačajnije mesto pripada ekscitotoksičnosti neurotransmitera glutamata.(1,35)

### **Ekscitotoksična teorija glaukoma**

Studije centralnog nervnog sistema tokom zadnjih 20 godina su pokazale da i traumatsko i ishemijsko oštećenje neurona može biti posredovano povećanim ekstraćelijskim nivoima ekscitatornog neurotransmitera glutamata (GLU) i prevelikom stimulacijom njegovih receptora, što takođe može biti u vezi sa patogenezom degenerativnih neuropatija.(2,3) Danas se ovaj proces vezuje za smrt RGC putem apoptoze.(4,5)

Ekscitotoksična teorija glaukomatozne neuropatije prvi put je izložena 1992. od strane Dreyera i Liptona.(6) U njihovim početnim istraživanjima oni su pokazali dvostruko povećanje nivoa GLU u staklastom telu grupe od 26 pacijenata sa glaukomom i kataraktom u poređenju sa kontrolnom grupom pacijenata samo sa kataraktom. Njihova sledeća ispitivanja su potvrdila i kompletirala ove rezultate, pokazujući još veće povećanje nivoa GLU u staklastom telu majmuna sa eksperimentalnim glaukomom izazvanim argon laserom.(7) Štaviše, kod majmuna sa eksperimentalnim glaukomom, najviši nivo GLU primećen je u zadnjim partijama staklastog tela, što ukazuje da je izvor ove amino kiseline bila retina.

Druga studija na zečevima takođe je potvrdila da povećanje vitrealnih koncentracija GLU do nivoa koji je potencijalno toksičan za neurone, može biti indukovano hroničnim povećanjem IOP.(8)

Izgleda da je hroničnost procesa (stresa) glavni faktor za indukciju ovih biohemijskih poremećaja jer eksperimenti izvršeni na zečevima

sa akutnim i drastičnim povećanjem IOP (100 mmHg) nisu mogli da pokažu takvo specifično povećanje ekstraćelijskog nivoa GLU.(9)

Apoptoza, za razliku od nekroze, je način ćelijske smrti koji je aktivni proces zavisan od ekspresije gena.(10-12) Ova programirana ćelijska smrt, koja nije praćena inflamatornom reakcijom, je važan fiziološki događaj tokom embrionalnog razvoja jer se ovim procesom nekoliko miliona embrionalnih RGC svede na oko 1 milion koliko se nalazi u optičkom nervu odrasle osobe.(13)

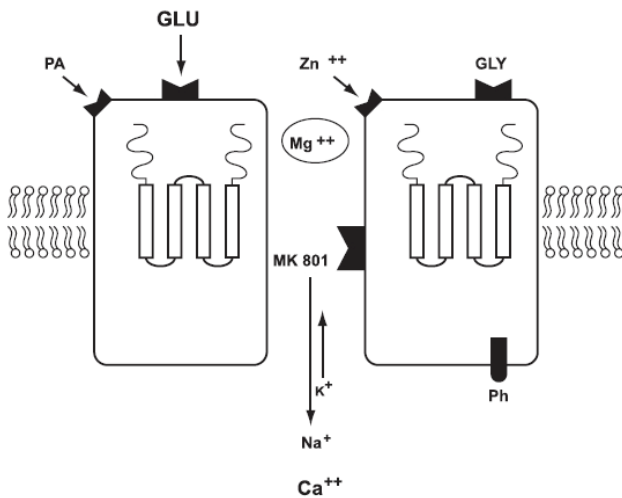
Skorašnje histološke studije retine kod eksperimentalnih glaukoma (14-16) i kod pacijenata sa glaukomom (17-19) ukazale su da RGC stradaju putem mehanizma nalik apoptozi. Među različitim efektorima sposobnim za indukciju apoptoze, GLU je mogući kandidat jer je više puta dokazano da je egzogeni GLU sposoban da uništi neurone putem indukcije njihove apoptoze.(20,21)

GLU je prisutan kao neurotransmiter kod većine retinalnih neurona, uključujući bipolarne ćelije. Kada je sinaptički oslobođen pod fiziološkim uslovima, GLU očigledno nije toksičan jer sistemi prihvatanja efikasno transportuju ekstraćelijski GLU do svih retinalnih ćelija, naročito do Milerovih ćelija.(22)

Postoji nekoliko mogućih uzroka za stvaranje viška GLU. Traumatska ili ishemijska povreda neurona može oštetiti ćelijske membrane i osloboditi intraćelijski GLU, što može, sa svoje strane, dovesti do dodatne ekscitotoksičnosti.(23,24) To početno oštećenje dovodi do smanjenja energije i depolarizacije presinaptičkih neurona, a onda do neregulisanog oslobađanja neurotransmitera. Štaviše, pod ovim depolarizujućim uslovima se inhibira njegovo preuzimanje pri čemu se osobađa nevezikularni GLU u ekstraćelijski prostor.(25) Nekoliko mehanizma može biti zajednički odgovorno za akumulaciju ekstraćelijskog GLU (oslobađanje vezikularnih ili nevezikularnih amino kiselina i inhibiciju glialnog ili neuronskog ponovnog prihvatanja). Mnogi sekundarni metabolički poremećaji indukovani ishemijom takođe mogu uticati na ove neuroprotektivne mehanizme. Tako je dokazano da arahidonska kiselina oslobođena iz membranskih fosfolipida ima sposobnost da blokira ponovno prihvatanje GLU ometajući membranski transporter za  $GLU/Na^{+}$ . Na isti način, slobodni radikali kiseonika (posebno  $H_2O_2$ ) stvoreni u hipoksičnim uslovima mogu inhibirati ovaj transporter (26).

Aktivacija NMDA receptora od strane glutamata, stimuliše visoku produkciju NO uz učešće NO sintetaze kao i stvaranje slobodnih radikala u mitohondrijama. U reakciji NO sa

superoksid anjonom, stvaraju se veoma toksični peroksinitriti koji izazivaju smrt ćelije-apoptozu (Schema 1. i 2.).

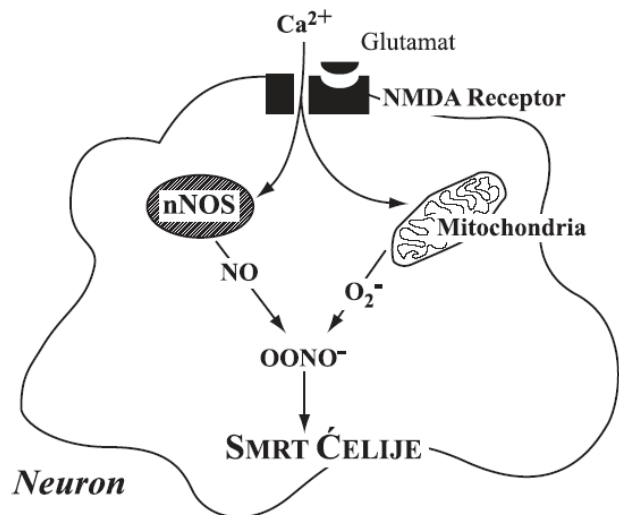


Schema 1: Glutatomom indukovana apoptoza

- aktivacija NMDA receptora. (Modifikovano iz: Haefliger IO i
- Flammer J. NO and endothelin in the pathogenesis of glaucoma, 1998.)

Izgleda da je retina efikasnije zaštićena nego mozak od akumulacije GLU u ekstraćelijskom prostoru. Jedinstvena organizacija Milerovih ćelija u nervnom tkivu je od posebne važnosti da bi se zaštitili retinalni neuroni od GLU toksičnosti a primarni funkcionalni defekt ovih glialnih ćelija može se hipotetički dogoditi kod glaukoma.

U RGC se pod dejstvom ekscitatornih amino kiselina (EAA) stvaraju slobodni radikali  $Ca^{2+}$  zavisnim putem što je dokazano elektronskom spin rezonancom.(27,28) Ima nekoliko izvora slobodnih radikala u ćelijama aktiviranim pomoću GLU. Kalpain, proteolitični enzim aktiviran u neuronima koji su stimulirani putem EAA (29,30) je odgovoran za pretvaranje ksantin dehidrogenaze u ksantin oksidazu koja je izvor superoksida. Fosfolipaza A2 oslobađa arahidonsku kiselinu iz ćelijskih membrana, posle čega dolazi do metaboličkih kaskadnih reakcija koje dovode do stvaranja slobodnih radikala kao nusproizvoda.(31)



Schema 2: Smrt retinalne ganglijske ćelije.

(Modifikovano iz: Haefliger IO i Flammer J. NO and endothelin in the pathogenesis of glaucoma, 1998.)

Pokazano je da su slobodni radikali u neuronima pod GLU stimulacijom bili sposobni da indukuju nekrozu ili apoptozu, u zavisnosti od veličine stimulacije.(32) U neuronima se apoptoza može indukovati supresijom neurotrofnih faktora ili prekomernom stimulacijom GLU, što su dva mehanizma protiv kojih mogu da deluju antioksidansi. Interesantno je da je jedna funkcija neurotrofnih faktora da regulišu enzimsku aktivnost glutacion peroksidaze, enzima koji je vrlo važan u odbrani od oksidativnog stresa. (33,34)

Ali još uvek postoje pitanja na koja se mora odgovoriti da bi se potkrepila ova teorija. Šta je uzrok akumulacije GLU u vitreusu? Koje su pojedinačne uloge aksonalne traume i ishemije kod GLU akumulacije? Može li topografija distribucije NMDA receptora objasniti glaukomatozne lezije? Da li je prisutan NOS u vulnerabilnim RGC? Da li je GLU ekscitotoksičnost primarni ili sekundarni uzrok apoptoze RGC?

Neuroprotekcija kod glaukoma se odnosi na sposobnost terapijskih modaliteta da spreče ili smanje stepen gubitka RGC u cilju sprečavanja gubitka vidnih funkcija. Dokazano je da najviše izučavani antiapoptotični protein BCL2 može da funkcioniše uz povećanje odbrane od OFR, gde bitnu ulogu imaju antioksidansi.

Jedno od interesantnih pitanja na koje se mora naći odgovor je i da li postoji endogena neuroprotektivna komponenta odnosno da li postoje slučajevi pojedinih glaukoma koji mogu biti uzrokovani nedostatkom endogenih neuroprotektanata. TG. Zarnowski je otkrio da je kinernična

kiselina (metabolit triptofana nađenog u humanom mozgu) NMDA antagonist aktivan na glicinskom mestu prisutna u staklastom telu ljudskog kadaveričnog oka i kod albino zeca. Eksperimentalnim ispitivanjima na zečevima je dokazana njena endogena neuroprotektivna uloga.

Da bi jedna supstanca imala neuroprotektivno dejstvo kod glaukoma ona mora da ispunjava sledeće kriterijume:

1. mora da ima target u retini;
2. mora da se dokaže njegovo neuroprotektivno dejstvo na animalnom modelu (eksperimentalnim ispitivanjima);
3. mora da postigne neuroprotektivne koncentracije u zadnjem segmentu oka posle kliničkog doziranja;
4. mora da se dokaže da je neuroprotektor u kliničkim ispitivanjima.

Većina ispitivanih farmakoloških neuroprotektora ne ispunjava sve kriterijume. Randomizovani klinički trajali su zlatni standard u proceni neuroprotekcije kod glaukoma. Animalni modeli i kulture RGC ne mogu u potpunosti prikazati kompleksna patofiziološka dešavanja u ljudskom oku, a klinička ispitivanja se uglavnom baziraju na manjem broju ispitanika. Uprkos ovim poteškoćama istaživanja o neuroprotekciji napreduju.

Laboratorijske studije su pokazale neuroprotektivno dejstvo peroralnog alfa 2-adrenergičkog agoniste, dexmedetomidina kod fokalne cerebralne ishemije i glaukoma ili ne i ishemične neuropatije i degeneracije fotoreceptora davne 1993.god. (40). Obzirom na prisustvo alfa 2-adrenoreceptora u retinalnim ganglijskim ćelijama nastavljena su ispitivanja sa brimonidin-tartaratom. Aktivacija receptora inhibira propadanje neurona kompleksnim ali nezavisnim mehanizmima: ushodna regulacija neurotrofičnog faktora u retini, aktivacija signalnih mehanizama za ćelijsko preživljavanje i anti-apoptičnih gena kao i modulacija NMDA receptorske funkcije. Aktivacija fosfatidil-inozitol 3-kinaze (PI3), bFGF ima ulogu u preživljavanju ćelija, a apoptozu zaustavlja fosforilacija kaspaze-9 (41). Alfa 2-adrenergički agonisti minimiziraju oslobađanje inflamatornih citokina aktivacijom moždanog neurotrofičnog faktora (BDNF).(44,45)

Klinička studija koja potvrđuje neuroprotektivni efekat brimonidina, „Low-pressure Glaucoma Treatment Study (LoGTS; Krupin, 1998-2000)“ je randomizovana, dvostruko-slepa multicentrična studija 190 pacijenata na monoterapiji brimonidinom 0,2% ili timololom 0,5%. Praćenjem progresije ispada u vidnom polju u četvorome-sećnim intervalima, Humphrey standardnom

automatskom perimetrijom(24-2) u najmanje 3 iste tačke sa progresijom većom od -1dB/god, linearnom regresionom analizom i „Glaucoma change probability (GCP)“ mapom, uz podjednak hipotenzivni efekat antiglaukomnih lekova utvrđena je konzistentno niža incidenca progresije ispada u vidnom polju u pacijenata lečenih brimonidinom (40,42).

Lekovi u fazi intenzivnih kliničkih studija sa mehanizmom povećanja drenaže očne vodice su: citoskeletni agensi, induktori matriks metalo-proteinaza, adenozin agonisti, natriuretični peptidi i agensi koji deluju na put cikličnog guanozin monofosfata(cGMP) (43). Dokazano je da na preživljavanje RGC utiču promene ekstracelularnog matriksa (ECM) na čiju degradaciju utiču matriks metaloproteinaze (MMP). Aktivacija MMP-aza i inaktivacija ECM proteina- laminina je dokazana u sloju RGC na eksperimentalnom modelu glaukoma. Aktivacija MMP-aza je prouzrokovana povišenim IOP-om i ushodnom regulacijom receptora glutamata(41).

Farmakološka neuroprotekcija se bazira na neutralizaciji efekata toksičnih faktora poreklom iz nervnih tkiva. Sem gore pomenutog brimonidina kao potencijalni neuroprotektori kod glaukoma se pominju i:

- betaksolol
- unoproston (sintetski dokosanoid)
- memantin (blokator NMDA glutamatskih receptora)
- melatonin
- eliprodil (selektivni NMDA - receptor antagonista)
- deprenil
- aspirin
- vitamin E
- vitamin B 12
- inhibitori NO sintaze 2
- fenitoin
- riblje ulje (polinezasićene masne kiseline)
- kanabinoidi (hipotonija, supresija NMDA receptora, supresija apoptoze i oštećenja slobodnim radikalima)
- ekstrakt ginka
- gabapentinlaktam
- inhibitori kaspaza
- neurotrofini (BDNF)
- antioksidansi (transferin, hemosiderin, ceruloplazmin, glutation peroksidaza ...)
- eritropoetin
- karnitin
- koenzim Q10
- resveratrol
- etakrinična kiselina.(36,41)

Jedan od mogućih načina za neuroprotekciju kod glaukoma je i poboljšanje protoka krvi u oku posebno u očnom živcu.(37,38) Ova indirektna neuroprotekcija ima sve veći broj pristalica jer se poboljšanjem protoka krvi obezbeđuje bolja ishrana očnog živca što je preduslov za sprečavanje njegovog oštećenja ili progresije već nastalog oštećenja. Kao moguće supstance koje mogu biti modulatori protoka krvi kroz tkiva oka se danas pominju:

- NO i endotelin;
- blokatori kalcijumskih kanala (nifedipin, brovinkamin fumarat, lomerizin, magnezijum);
- ekstrakt ginka;
- amosulalol;
- ramipril (ACE inhibitor);
- blokatori kalijumskih kanala;
- nitroglicerol.(39)

Osim farmakološke neuroprotekcije značajno mesto zauzima imunološka, endogena, genska i celularna ("stem-cell") neuroprotekcija. O postojanju imunološke neuroprotekcije kod glaukoma se danas malo zna. Na animalnim modelima je dokazano da T-ćelijski imuni odgovor može usporiti sekundarnu degeneraciju neurona koja je već počela, vezivanjem aktiviranih T<sub>H</sub>1 za mijelin bazični protein(MBP) što oslobadja neuroprotektivne faktore (41). Ovakav neuroprotektivni imuni odgovor praktično predstavlja proces koji je usmeren protiv samog sebe, pa mora biti rigorozno kontrolisan ali je sigurno da imunološka intervencija stimuliše reparatorne sposobnosti ćelija.

### Uloga neurotrofina

Faktori rasta su heterogena grupa endogenih proteina: neurotrofin mozga (BDNF), nervni faktor rasta (NGF), neurotrofin 3,4(NT-3,4), cilijarni faktor rasta, sekretovanih u cilju kontrole rasta, maturacije, deobe i proliferacije ćelija i tkiva. Neurotrofični faktori rasta, neurotrofini, retrogradnim aksoplazmatskim transportom u neuronima regulišu celularni metabolizam. Usled njihovog deficita i blokade retrogradnog aksoplazmatskog transporta stradaju RGC, a njihovom intravitrealnom aplikacijom na animalnim modelima je dokazana poboljšana fiziološka funkcija (40,41). Studija sprovedena u Rimu "Eksperimentalni i klinički dokazi neuroprotekcije kapima nervnog faktora rasta: Implikacije kod glaukoma" potvrđuje da i topikalna aplikacija (u kapima) faktora rasta daje ohrabrujuće rezultate(46).

### Heat-shock proteini(HSPs)

Heat shock proteini su proteini stresa koji se eksprimiraju u fiziološkim ali i ekstremnim uslovima (toplota, anoksija, citokini), kao i kod glaukoma, mogu imati protektivnu i reparativnu ulogu. Protektorom u RGC smatra se HSP70 (41). Ovi proteini mogu imati i paradoksalne efekte, povećana ekspresija HSPs28 inicira T celularni posredovani imuni odgovor i potencijalnu destrukciju ćelija(47).

### Genska terapija

U glaukomu postoji disbalans između pro-apoptotičnih i antiapoptotičnih proteina, zapravo povećana ekspresija pro-apoptotičnih gena i istovremena nishodna regulacija anti-apoptotičnih gena (48). Aktuelni terapijski cilj usmeren je ka genima koji kodiraju anti-apoptotične faktore: deprenyl, flunarizin i aurintrikarboksilnu kiselinu (41). Kaspaze su cistein proteini koji propagiraju apoptotične signale a triger za njihovu aktivaciju može biti influks kalcijuma, slobodni radikali ili cAMP. Najvažniji inhibitor apoptoze, Bcl-2 protein, blokira intermedijarne proteine u aktivaciji kaspaza (49).

Postoje dva tipa genske terapije: prva u cilju reparacije mutacije i druga sa insercijom retrovirusa u ćeliju radi produkcije neuroprotektivnih proteina (43).

### Terapija stem ćelijama

Transplantacija stem (matičnih) ćelija je savremeni, obećavajući terapijski modalitet koji je predmet brojnih istraživanja u lečenju neurodegenerativnih oboljenja poslednjih par godina. Izvori stem ćelija su embrionalne, fetalne ili adultno derivirane i modifikovane stem ćelije sa visokim potencijalom celularne diferencijacije(50). Terapijski cilj je diferencijacija transplantiranih humanih embrionalnih, retinalnih ili cilijarnih stem ćelija u retinalne ganglijske ćelije u obolelom oku. Aktuelni problem je ekstenzija aksona RGC u optički nerv i rekonekcija sa mozgom(51).

Potencijalni mehanizam dejstva bazira na produkciji neurotrofičnih faktora, modulaciji matriks metaloproteinaza(MMP) i ostalih komponenti CNS miljea koje ubrzavaju endogenu reparaciju. Pažnju istraživača privlači i potencijalni mehanizam stem ćelijskog integrisanja u glaukomatoznoj retini.

Aktuelno interesovanje istraživača uključuje oligodendrocitne prekursorne ćelije, mezenhimalne stem ćelije i Milerove stem ćelije derivirane

iz adultne humane retine i sintezu novog retinalnog eksplant-implant modela koji bi omogućio preživljavanje, migraciju i integraciju transplantiranih ćelija. Osnovni cilj je kontrola retinalne neurogeneze i donorskih ćelija i pre samog procesa transplantacije(52). Ovaj celularni terapijski modalitet ima prednosti nad farmakološkom neuroprotekcijom zbog protraživanog dejstva čak i nakon samo jedne aplikacije, dovoljnog broja i potencijala stem/progenitorskih ćelija i prisustva pluripotentnih klasa ćelija (imunih, glijalnih) u terapiji, kao i mogućnosti za genski transfer. Postoji mogućnost aplikovanja na semipermeabilnoj biodegradabilnoj membrani(53,54).

Aktuelna terapija glaukoma ima dvostruki zadatak: sniženje IOP-a i očuvanje RGC u cilju sprečavanja gubitka vidne funkcije.

Bez obzira na sva tekuća klinička i eksperimentalna ispitivanja u oftalmologiji koja imaju za cilj pronalaženje neuroprotektora kod glaukoma (mnoga od njih veoma obećavaju), proći će mnogo vremena dok se neki prozvani neuroprotektor sa sigurnošću ne potvrdi u budućnosti u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Do tog vremena nama ostaje samo da delujemo na najznačajniji faktor rizika -intraokularni pritisak jer: **sniženje iop-a je najbolja neuroprotekcija!?!**

### Literatura

1. Jovanović P. Uloga antioksidanasa u patogenezi primarnog glaukoma otvorenog ugla. Doktorska disertacija. Medicinski fakultet Niš, 2003.
2. Meldrum B, Garthwaite J. Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease. Trends Pharmacol Sci 1990;11:379-87.
3. Beal MF. Mechanisms of excitotoxicity in neurologic diseases. FASEB J 1992;6:3338-44.
4. Wein FB, Levin LA. Current understanding of neuroprotection in glaucoma. Curr Opin Ophthalmol 2002;13:61-7.
5. Vorwerk CK, Naskar R, Dreyer EB. Excitotoxicity and glaucoma. 1999;214(1):2-11.
6. Dreyer EB, Lipton SA. Excitatory amino acids in glaucoma: a potentially novel etiology of neuronal loss.(Abstract) Invest Ophthalmol Vis Sci 1992;33:S2002.
7. Dreyer EB, Zurakowski D, Schumer RA, Podos SM, Lipton SA. Elevated glutamate levels in the vitreous body of humans and monkeys with glaucoma. Arch Ophthalmol 1996;114:299-305.
8. Nguyen QD, Kaiser PK, Dreyer EB. The buphthalmic/glaucomatous rabbit eye: amino acid analysis (Abstract). Invest Ophthalmol Vis Sci 1995;36:S4467.
9. Muller A, Villain M, Bonne C. The release of amino acids from ischemia retina. Exp Eye Res 1997;64:291-3.
10. Bredesen DE. Neuronal apoptosis. Review. Ann Neurol 1995;38:839-51.
11. Tatton WG, Chalmers-Redman RME, Tatton NA. Apoptosis and anti-apoptosis signaling in glaucomatous retinopathy. Eur J Ophthalmol 2001;11(2):12-22.
12. Pan X. Current research of RGCs injured by glaucoma. Chin Ophth Res 2001;19:376-9.
13. Hitchings RA. Selective ganglion cell death in glaucoma. Br J Ophthalmol 2000;84:678-9.
14. Garcia-Valenzuela E, Shareef S, Walsh J, Sharma SC. Programmed cell death of retinal ganglion cells during experimental glaucoma. Exp Eye Res 1995;61:33-44.
15. Luo X, Heidinger V, Picauds S. Selective excitotoxic degeneratio of adult pig retinal ganglion cells in vitro. Invest Ophthalmol Vis Sci;2001:42:1096-106.
16. Shuihua Z, Shirong L, Huipihg Y. Apoptosis of retinal ganglion cells in experimental glaucoma. Chon Ophthal res 2000;18:518-20.
17. Bonfoco E, Nicotera P, Smith JA, Dreyer EB, Lipton SA. Retinal ganglion cells die by an apoptotic-like mechanism in human glaucoma (Abstract). Invest Ophthalmol Vis Sci 1995; 36:S4444.
18. Kerrigan LA, Pease ME, Green WR, Quigley HA. Studies of presumed apoptosis in human primary open-angle glaucoma (Abstract). Invest Ophthalmol Vis Sci 1996;37:S3811.
19. Buatista RD. Glaucomatous neurodegeneration and the concept of neuroprotection. Inter Ophthalmol Clin1999;39:57-70.
20. Lam TT, Fu j, Li SH, Abler AS, Tso MOM. N-methyl-D-aspartate (NMDA)-induced apoptosis in rat retina (Abstract). Invest Ophthalmol Vis Sci 1995;36:S4301.
21. Dreyer EB, Zhang DX, Lipton SA. Transcriptional or translational inhibition ablocks low dose NMDA-mediated cell death. Neuroreport 1995;6:942-4.
22. Naskar R, Varwerk CK, Dreyer EB. Concurrent downregularion of glutamate transporter and receptor in glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci 2000;41:1940-4.
23. Kitano S, Morgan J, Caprioli J. Hypoxic and exitotoxic damage to cultured rat retinal ganglion cells. Exp Eye Res 1996;63:105-12.
24. Harwerth RS, caeter-Dawson L, Shen F, Smith EL, Crawford ML. Ganglion cell losses underlying visual field defects from experimental glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci 1999;40:2242-50.
25. Szatkowski M, Attwell D. Triggering and execution on neuronal death in brain ischemia:two phases of glutamate release by different mechanisms. Trend Neurosci 1994;17:359-65.
26. Volterra A, Trotti D, Racagni G. Glutamate uptake is inhibited by arachidonic acid and oxygen radicals via two distinct and aditive mechanisms. Mol Pharmacol 1994;46:986-92.

27. Lafon-Cazal M, Pietri S, Culcasi M, Bockaert J. NMDA-dependent superoxide production and neurotoxicity. *Nature* 1993;364:535-7.
28. Dutrait N, Culcasi M, Casavieille C, et al. Calcium dependent free radicals generation in cultured retinal neurons injured by kainate. *Neurosci Lett* 1995;198:13-6.
29. Dykens JA, Stern A, Trenkner E. Mechanism of kainate toxicity to cerebellar neurons in vitro is analogous to reperfusion tissue injury. *J Neurochem* 1987;49:1222-8.
30. Pellegrini-Giampietro DE, Cherici G, Alesiani M, Carla V, Moroni F. Excitatory amino acid release and free radicals formation may cooperate in the genesis of ischemia-induced neuronal damage. *J Neurosci* 1990;10:1035-41.
31. Cazevielle C, Muller a, Meynier F, Dutrait N, Bonne C. Protection by prostaglandins from glutamate toxicity in cortical neurons. *Neurochem Int* 1994;4:395-8.
32. Bonfoco E, Krainc D, Ankarcrona M, Nicotera P, Lipton SA. Apoptosis and necrosis, two distinct events induced, respectively by mild and intense insults with NMDA or nitric oxide/superoxide in cortical cell cultures. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:7162-6.
33. Hockenbery DM, Oltvai Z, Yin XM, Millman C, Korsmeyer SJ. Bcl-2 functions in an antioxidant pathway to prevent apoptosis. *Cell* 1993;75:241-51.
34. Lambert W, Agarwal R, Howe W, Clark AF, Wordinger RJ. Neurotrophin and neurotrophin receptor expression by cells of human lamina cribrosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:2315-23.
35. Žorić L., Jovanović P. Uloga oksidacionog stresa u patogenezi očnih bolesti. 2006. Beograd-Niš.
36. Migdal C. Glaucoma medical treatment: philosophy, principles and practice. *Eye* 2000;14:515-18.
37. Callisendorff BM. Consumption of glaucoma medication. *Acta Ophthalmol Scand* 2001;79:2-5.
38. Anderson DR. Glaucoma: the damage caused by pressure. XLVI Edward Jackson memorial lecture. *Am J Ophthalmol* 1989;108(5):485-95.
39. Haefliger IO, Dettmann ES. Nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma: An Overview. In: Haefliger IO, Flammer J. eds. Nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1998: 22-33.
40. Medscape Education Ophthalmology. Neuroprotection and Glaucoma. Theodore Krupin, Medscape Education "cited 2010"; MedscapeCME; 1(1). Available from: URL: <http://www.medscape.org>.
41. Vasudevan KS, Gupta V, Crowston JG. Neuroprotection in glaucoma. *Indian Journal of Ophthalmol* 2011; 59(7):102-113
42. Krupin T, Liebmann JM, Greenfield DS, Rosenberg LF, Ritch R, Yang JW. Randomized Trial of Brimonidine Versus Timolol in Preserving Visual Function: Results From the Low-pressure Glaucoma Treatment Study. *Am J Ophthalmol* 2011;151: 671-681.
43. American Academy of Ophthalmology. Cellular Strategies: Protect the Nerve. Karmel M. Education "cited November/December 2004"; 1(1). Available from: URL: <http://www.aao.org>.
44. Saylor M, McLoon LK, Harrison AR, Lee MS. Experimental and clinical evidence for brimonidine as an optic nerve and retinal neuroprotective agent: An evidence-based review. *Arch Ophthalmol* 2009; 127:4:402-406.
45. Gao H, Qiao X, Cantor LB, WuDunn D. Upregulation of brain-derived neurotrophic factor expression by brimonidine in rat retinal ganglion cells. *Arch Ophthalmol* 2002;120:6:797-803.
46. International Glaucoma Association. World News: Neuroprotection by nerve growth factor eye drops. IGA (editorial). 2011.
47. G. Tezel, M. B. Wax, 2007 Glaucoma. *Chemical Immunology and Allergy* 92 221 227 1660-2242
48. Pinar S, Vecino E. Current Trends in Glaucoma: What about Neuroprotection? Eye Research Developments. Nova Science Publishers, 2009.
49. S Kaushik, SS Pandav, J Ram. Neuroprotection in glaucoma. *Journal of Postgraduate medicine* 2003; 49:1:90-5.
50. Bull ND, Johnson TV, Martin KR. Stem cells for neuroprotection in glaucoma. *Prog Brain Res*. 2008;173:511-9.
51. Martin, K. R. et al. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44(10):4357-65.
52. Martin, K. R. Neuroprotection. John van Geest Centre for Brain Repair, School of Clinical Medicine, Addenbrookes Hospital, Cambridge 2015. [sci-coordinator@stemcells.cam.ac.uk](mailto:sci-coordinator@stemcells.cam.ac.uk)
53. T V Johnson, K R Martin Broadening our focus in the search for cell transplantation-based glaucoma therapies *Eye* (2011) 25, 541-543
54. Johnson TV and Martin KR. Development and characterization of an adult retinal explant organotypic tissue culture system as an in vitro intraocular stem cell transplantation model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(8):3503-12..

## **NEUROPROTECTION IN GLAUCOMA-CONTEMPORARY CONTROVERSIES**

**Predrag Jovanović, Marija Radenković, Jasmina Djordjević-Jocić**

Ophthalmology Clinic, Clinical Center Niš

Neuroprotection is a modern therapeutic approach directed at slowing or preventing death of diseased neuronal tissue to preserve and maintain physiologic function and to control the disease. Glaucoma is a multifactorial, progressive neurodegenerative disease characterized by the acquired loss of retinal ganglion cells (RGCs) and loss of their axons as well as glaucomatous optic nerve neuropathy and loss of neurons in the lateral geniculate nucleus and the visual cortex. The occurrence of glaucoma is explained by excitotoxic theory, glutamate accumulation, calcium influx, the presence of oxygen free radicals via mechanism of apoptosis or necrosis of cells. Glaucoma treatment is aimed at lowering intraocular pressure and preserving RGC, which is achieved by pharmacological neuroprotection and modern therapeutic modalities: neurotrophin application, gene therapy and stem cells transplantation. Intraocular pressure is the most important risk factor for glaucoma onset influenced by therapy. It is proved that till reliable neuroprotectant is documented, lowering intraocular pressure is the best neuroprotection. *Acta Ophthalmologica* 2015;41(1):40-47.

**Key words:** Glaucoma, neuroprotection, retinal ganglion cells, therapy

**Kontakt:** Prof. dr Predrag Jovanović  
Klinika za očne bolesti KC Niš  
Bulevar dr Zorana Đinđića br. 48  
18000 Niš, Srbija