



Oksidatif Stres ve Prematüre Retinopatisi

Oxidative Stress and Retinopathy of Prematurity

Ümeyye Taka Aydın*, Hatip Aydın**, Osman Çekiç*

*Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

**Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi, Genetik Tanı Merkezi, İstanbul, Türkiye

Özet

Oksidatif stres prematüre retinopati etiolojisinde önemli rol oynamaktadır. Prematüre bebeklerde henüz gelişmesini tamamlayamamış antioksidan sistem ve artan oksidatif stres hastalığın ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Oksidatif ve antioksidatif mekanizma ile sinyal yolları ile ilgili çalışmalar, prematüre retinopati tanı ve tedavisine yönelik seçenekler elde edilmesini sağlamaktadır. Bu derlemede, son yıllarda önemi çok daha iyi anlaşılan oksidatif stres ile prematüre retinopati arasındaki ilişkiyi irdelemeyi ve güncel bir bakış ortaya çıkarmayı amaçladık. (Turk J Ophthalmol 2014; 44: 223-7)

Anahtar Kelimeler: Antioksidanlar, oksidatif stres, prematüre retinopatisi, reaktif oksijen radikalleri

Summary

Oxidative stress plays an important role in the etiology of retinopathy of prematurity. Insufficient antioxidant system and increased oxidative stress in premature infants lead to the development of the disease. Understanding the mechanism of oxidative stress and antioxidant system and the related signaling pathways contribute to the development of novel options for diagnosis and treatment of retinopathy of prematurity. The current review aimed to evaluate the relationship between oxidative stress and retinopathy of prematurity and to create a current notion regarding this issue. (Turk J Ophthalmol 2014; 44: 223-7)

Key Words: Antioxidant, oxidative stress, retinopathy of prematurity, reactive oxygen species

Giriş

Prematüre retinopatisi (PR), erken doğan bebeklerde görülen ve ilerlediğinde körlüğe kadar gidebilen anormal damar gelişimi ile karakterize ciddi bir retina hastalığıdır. Yenidoğan yoğun bakımlardaki son teknolojik gelişmeler nedeniyle hastalık daha sık görülmektedir. Güncel tedavi metodların (kriyoterapi, fotokoagülasyon) uzun dönem etkileri açısından yetersiz kalması, hastalığın etiopatogenezinin anlaşılmasına yönelik çalışmalara yönlendirmiştir.

Prematüre bebeklerin yüksek seviyedeki oksijene maruz kalmaları ile PR arasındaki ilişki uzun zamandır bilinmektedir. Bu bebekler, antioksidatif cevap mekanizmalarındaki yetersizlik sebebiyle normal bebeklere göre daha fazla oksidatif strese ve hasara maruz kalmaktadır.

Oksidatif streste rol oynayan çeşitli serbest oksidan radikallerin ve bunların rol oynadığı yolların ortaya çıkarılması, PR fizyopatolojisini daha iyi anlamamızı

sağlayacaktır. Bu derleme, son yıllarda önemi çok daha iyi kavranılmaya başlanılan oksidatif stres, antioksidatif savunma mekanizması ve bunlarda rol oynayan sinyal yolları ile PR gelişimi arasındaki ilişkiyi irdelemeyi amaçlamaktadır.

Oksijenle İndüklenmiş Retinopati (OIR) Hayvan Modelleri ve PR Fazları

PR gelişim süreci, hastalığın oluşum mekanizması ve tedavisine yönelik çalışmalar genellikle OIR hayvan modelleri ile yapılmaktadır. Bu hayvan modelleri günümüzde daha da geliştirilmekte ve yeni moleküllerin denenmesi imkanı oluşturmaktadır.^{1,2} OIR hayvan modellerinin geliştirilmesinde farklı oksijen seviyeleri ve sürelerinde çalışmalar yapılmaktadır. Özellikle Penn ve ark.'nın³ geliştirdikleri 50/10 OIR modelleri PR'ye çok benzemektedir. 50/10 OIR modellerine göre O₂ seviyesindeki dalgalanmalar reaktif oksijen radikalleri (ROR) üretimine neden olarak PR gelişiminde rol oynamaktadır.⁴ Oksijenin PR üzerindeki etkisi oldukça karışıktır. Çok yüksek

veya çok düşük oksijen seviyeleri retinopati gelişimine daha az neden olmaktadır. OIR hayvan modellerinde yapılan STOP-ROP çalışması, hiperoksi sonrası oda seviyesindeki oksijen yerine biraz daha fazla (%28) oksijene maruz kalanlarda retinopatiye ilerlemenin daha az olduğunu gösteren önemli bir çalışmadır.⁵

PR iki faz şeklinde gelişmektedir.¹ PR'nin ilk fazında (hiperoksi) oksijene oldukça duyarlı olan retina damarlarında daralma ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) gibi vazoproliferatif faktörlerde azalma olmaktadır. Hiperoksiye yanıt olarak serbest radikaller, endotel hasarına neden olmaktadır.⁶ İkinci fazında (hipoksi) ise göreceli olarak hipoksik kalan retina damarlarında artan metabolik ihtiyaç nedeniyle vazoproliferasyon ve neovaskülarizasyon gelişmektedir. Ayrıca bu fazda büyüme faktörlerinde, hormonlarda ve adezyon moleküllerde artış meydana gelmektedir. Her iki fazda da oksidatif strese rol oynayan jack/stat sinyal yolları uyarılmakta ve serbest radikaller artmaktadır.⁷

Prematüre Retinopatisi'nde Rol Oynayan Oksidatif Radikaller

Serbest radikaller, eşleşmemiş elektronu olan atom, molekül veya iyonlardır. Serbest elektronu olan bu radikaller kimyasal olarak reaktif ve kararsızdır. Kararlı duruma gelmek için indirgenme ve yükseltgenme olaylarına katılır ve zincirleme şeklinde diğer radikallerin oluşmasına neden olurlar.⁸ Eğer bu radikaller oksijen molekülünden oluşursa ROR olarak adlandırılırlar. ROR oksidatif stres oluşumunda büyük katkı oluşturmaktadır. Superoksit (O_2^-) ve hidroperoksit (HO_2) önemli ROR'lerdir. Superoksit, enzimatik indirgenme ile nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz (NADPH oksidaz) ve enzimatik olmayan mitokondriyal solunum olayları ile meydana gelmektedir. Superoksit kararlı duruma gelmek için enzimatik olarak superoksit dismutaz (SOD) veya enzimatik olmayan yollar ile hidrojen peroksit (H_2O_2) ve tekli oksijene dönüşmektedir.⁹ Tekli oksijen oldukça oksidan olup lipid, protein ve nükleik asitleri okside eder. Superoksitten türeyen bu radikaller, protein ve karbonhidrat kovalent bağları yıkararak ve lipid peroksidasyonuna neden olarak hücrenin fizyolojik durumunu bozmaktadır.⁹ Ayrıca, retinadaki fotoreseptörlere ve fotoreseptörlerdeki çoklu doymamış yağ asitlere zarar vererek PR'ye neden olmaktadır.¹⁰

Hiperoksi durumunda superoksit oluşumu artarken hipokside ise NADPH oksidaz enzimi aktive olmakta ve ROR üretimine neden olarak oksidatif strese esas rolü oynamaktadır.^{11,12} Hipoksi tarafından indüklenen başka bir enzim de nitrik oksid sentetaz (NOS) enzimi olup L-arjinin'den güçlü bir oksidan radikal olan nitrik oksid (NO) oluşumunu sağlamakta ve nitrooksidatif strese yol açmaktadır. NOS, nitrooksidan radikallerin oluşmasının yanında dolaylı olarak bu radikallerin gen ekspresyonun tetiklemesine de neden olur.¹³ Böylece NOS enzimi, nitrooksidatif strese oluşturan reaktif nitrojen ürünlerin (RNÜ) üretiminde esas rol oynamaktadır.

NO sinyalizasyonu, oldukça karmaşık bir biyokimyasal mekanizmaya sahip olup diğer radikallerden oldukça farklıdır. NO'nun hem koruyucu hem de proanjyogenik özelliği mevcut

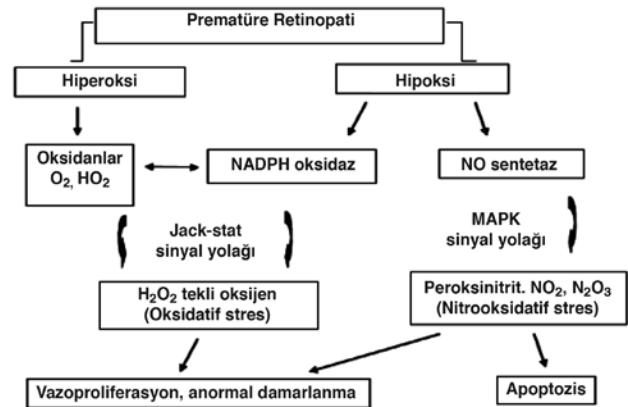
olup bu özellikleri retinanın indirgenme ve yükseltgenme durumuna göre değişmektedir.¹⁴ Retinanın durumu oksidatif çerçeveye doğru kaydığı zaman NOS aktivasyonu artmakta ve böylece NO, ROR ile tepkimeye girerek peroksinitrit, nitrojen dioksit (NO_2) ve dinitrojen trioksit (N_2O_3) gibi farklı RNÜ oluşturmaktadır. Nitrooksidatif strese oluşturan bu ürünler, hücre fonksiyonlarına büyük zarar vermektedir. Ayrıca eNOS, PR'de eşik hastalık için önemli bir kriter olan arteriollerde kıvrım artışına ve genişlemeye neden olmaktadır.⁴

Oksidatif Stres ve Sinyal Yolları

Retinadaki oksijen koroidden sağlanmaktadır. Prematüre bebeklerde koroid ile retina arasındaki otoregülasyonun yokluğu ve yetersiz antioksidan savunma nedeniyle retinada hiperoksijenasyon görülmektedir. Hiperoksijenasyon retinada oksidatif strese yol açmaktadır. Oksidatif stres ile ortaya çıkan ROR, iskemik hasara neden olup PR gelişiminde önemli rol oynamaktadır.

Apoptozis ve anjiyogenezis, vasküler retinada gerekli olup ganglion hücre kaybı ve damar oluşumu için doğal bir süreç iken, PR'de avasküler alanlar ve düzensiz anormal vaskülarizasyonlar ile ilişkilidir.¹⁵ PR'de tekrarlayan oksijen dalgalanmaları ile oluşan ROR, apoptozise sebebiyet vererek avasküler retinaya yol açmakta ve anormal damar gelişiminde anahtar rol oynayan VEGF ve sinyal yolağını uyarılmaktadır.^{4,16}

ROR, sinyal yolları üzerinde fizyolojik ve patolojik etkilere sahiptir.⁷ Sinyal yolları PR de apoptozis ve anjiyogenezisi etkilemektedir (Şekil 1). Oksidatif strese rol oynayan en önemli yollardan biri olan jack/stat sinyal yolağı, PR'de artan VEGF tarafından uyarılmaktadır.¹⁷ Uyarılan jack/stat sinyal yolağı retinada Müller hücrelerinden eritropoetin (EPO) üretimini engellemekte ve fizyolojik vasküler gelişimi bozmaktadır. VEGF'den bağımsız olarak NADPH oksidaz da jack/stat sinyal yolağını uyarmakta ve anormal vaskülarizasyona yol açmaktadır.¹⁶ Ayrıca NADPH oksidaz PR gelişiminde neden olan önemli faktörlerden biri olan hipoksi ile indüklenen faktöre (HIF-1) etki ederek VEGF üretimine sebep olmaktadır.¹³



Şekil 1. Oksijen seviyesinin durumuna göre uyarılan enzimler sinyal yolları üzerinden serbest oksijen radikallerini oluşturarak prematüre retinopatisi gelişimine neden olmaktadır.

Nitrooksidasyon, tirozin nitrasyonunu artırarak ve MAPK sinyal yolunu uyararak endotel hücre apoptozisine neden olur.¹⁸ NO'dan türeyen RNÜ de VEGF reseptörlerini artırarak vazoproliferasyonda rol oynamaktadır.¹⁹ Çoklu doymamış yağ asitleri, RNÜ eşlik ettiği nitrasyon reaksiyonlarına oldukça duyarlıdır. Nitrooksidatif stres sonrası transaraşidonik asit seviyesi artar. Transaraşidonik aside bağımlı olarak artan trombospandin-1 (TSP-1) mikrovasküler endotel hücre apoptozisine neden olur. TSP-1 bir matriselül protein ve antianjiyogenik faktör olup transmembran reseptör CD36 aktivasyonu ile apoptozisi gerçekleştirmektedir. OIR hayvan modellerinde denenen TSP-1 antagonistleri ise damar kaybına yol açan apoptozisi azalttığı belirtilmektedir.²⁰ Nitrooksidatif streste rol oynayan transaraşidonik asit mekanizması halen kesin olarak bilinmemekte ve araştırmalar devam edilmektedir.

Prematüre Bebeklerde Antioksidan Sistem

Fizyolojik şartlarda ROR ve RNÜ hücre metabolizmasında üretilmektedir. Radikallerin dönüştürülmesinde, manganaz superoksit dismutaz (MnSOD), bakır-çinko superoksit dismutaz (Cu-ZnSOD), katalaz, glutatyon peroksitaz (GPx) gibi enzimatik ve askorbik asit (vitamin C), α -tokoferol (vitamin E), glutatyon (GSH) gibi enzimatik olmayan antioksidanlar önemli rol oynar. Superoksit radikallerini hidrojen peroksit ve suya dönüştürmede SOD enzimi, hidrojen peroksitin suya dönüştürülmesinde ise katalaz, SOD ve glutatyon redüktaz enzimleri rol alır.²¹ Vitamin C ve vitamin E, lipid peroksit radikallerin peroksidasyonunu yapmaktadır. Hücresel yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonlarında tampon görevini GSH ve GPx yapmaktadır. Bunun dışında bir glikoprotein hormon olan eritropoetin deneysel iskemik retina modellerinde antioksidan etki göstermektedir. Eritropoetin, anjiopoetin-2 salınımı ile perisit kaybını azaltarak ve ısı şok protein-27 seviyesini artırarak, hem oksidatif hem de nitrooksidatif stresi engellemektedir.²²

Normal şartlar altında, oksidatif stres ile antioksidan savunma arasında hassas bir denge vardır. Bu denge, oksidatif radikallerin aşırı üretimi veya antioksidan savunmanın yetersiz olması ile bozulabilir. Prematüre bebeklerde hem hipoksi, inflamasyon gibi durumların sonucunda artan oksidatif stres hem de yetersiz antioksidan savunma sistemi, bu bebeklerde görülen oksidatif değişikliklerin temelini oluşturmaktadır. Fetal dokularda, gestasyonel haftanın artmasına bağlı olarak antioksidan enzimlerin arttığı ve lipid peroksidasyonunun azaldığı bilinmektedir.²³ Ayrıca, oksidatif stres göstergesi olan 8-hidroksi 2-deoksi guanozin düzeyi, preterm bebeklerde term bebeklere göre daha fazla bulunmaktadır.²⁴ Buna göre, prematüre bebeklerde gestasyon haftasının düşmesine bağlı olarak oksidatif strese karşı savunma azalmaktadır. Bu durum, bebekleri PR gelişimine yatkın kılmakta ve hastalığın daha da agresif seyretmesine neden olmaktadır.

Preeklampsi, intrauterin gelişme geriliği gibi oksidatif stresle ilişki olan hastalıklar postnatal dönemde prematüre bebeklerde oksidatif hasara yol açabilmektedir.²⁵ Annenin antioksidanlar için gerekli besin eksikliğinin bu yatkınlığa yol

açabileceği düşünülmektedir.²⁵ Prenatal olarak takviye edilen vitamin C,E, koenzim Q10 gibi antioksidanlar, annede oksidatif strese yol açabilecek hastalıkları azaltmakla birlikte ciddi bazı yan etkilere de sebebiyet verebilirler.²⁶

PR'de Oksidatif Strese Karşı Geliştirilen Tedavi Seçenekleri

Prematüre bebeklerde antioksidatiflerin güçlü tedavi edici yönleri ile ilgili pek çok sayıda çalışma mevcuttur. Hem enzimatik (SOD), hem de enzimatik olmayan antioksidatif vitamin, protein ve iyonlarla ilgili araştırmalar yapılmaktadır.^{27,28}

ROR dönüştürücüsü vitamin E, α -tokoferolden oluşup oküler iskemik hastalıklarda rol oynayan önemli bir antioksidandır. OIR hayvan modellerinde vitamin E'nin vazobliterasyonu azalttığı, retina fonksiyonunu koruduğu ve dış pleksiform kalınlığının azalmasını engellediği tespit edilmiştir.²⁹ Bu etkileri nedeniyle çok düşük doğum ağırlıklı bebeklere 1970'den 1990'lara kadar PR tedavisinde profilaktik olarak besinsel takviye yapılmıştır.³⁰ Bu bebeklerde, evre 3 PR gelişme insidansında %50'lere varan oranlarda çok önemli bir düşüş sağlamıştır.³¹ Ancak sepsis ve nekrotizan enterokolit gibi ciddi yan etkilerinden dolayı profilaktik olarak verilmesi durdurulmuştur.³²

Apocynin PR de umut vadeden güncel ilaçlardandır. Oksidatif streste anahtar rol oynayan NADPH oksidaz inhibitörü apocyninle yapılan hayvan çalışmasında anormal retina damarlanmasının azaldığı ve merkezi vazobliterasyonun gerilediği gösterilmiştir.³³

Hayvan çalışmalarında intravitreal neovaskülarizasyonda azalma yapan Jak2 protein tirozin kinaz inhibitörü AG490,³⁴ PR gelişimine karşı koruyucu etki gösteren ve NO düzenleyicisi olan bitkisel kaynaklı resveratrol,³⁵ peroksinitrit oluşumunu engelleyen epicatechin³⁶ ile Pon 3 protein³⁷ PR tedavisinde gelecekte alternatif olarak düşünülen antioksidatif tedavilerdir.

Oksidatif stres esnasında protein ve nükleik asitler gibi lipitler de zarar görebilir fonksiyon kaybına uğramaktadır. Retina yağları, uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerinden (PUFA) meydana gelir. Özellikle dokosaheksanoik asit (DHA) ve cis-araşidonik asit hem retina hücre duvarının hem de rod ve kon reseptörlerinin dış kısmının çoğunu oluşturur. Bu yağlar, esansiyel yağlar olup insan vücudunda sentezlenemez. Dışarıdan verilen omega-3 çoklu doymamış yağ asitleri PR gelişme fazlarında gözlenen neovaskülarizasyonda ve vazobliterasyonda gerileme yapmıştır.³⁸ Amerika Birleşik Devletleri'ndeki tüm bebek formül mamalarına 2002'den itibaren PUFA ve DHA eklenmiştir.³⁹ Ancak bu yağların PR üzerindeki etkileri için yeterli klinik çalışma mevcut değildir.

Anne sütü prematüre bebeklerde görülen oksidatif stresle ilişkili hastalıklarda koruyucu etki göstermektedir.⁴⁰ Anne sütünde çok sayıda antioksidan mevcut olup en önemlisi karotenoiddir. Manzoni ve ark.'nın⁴¹ yaptıkları randomize kontrolü bir çalışmada karotenoid ile tedavi edilen prematüre bebeklerde erken evre PR'nin eşik PR'ye ilerlemesinde %50 oranında azalma olduğu tespit edilmiştir.

Melatonin biyolojik ritim düzenleyicisi olup aynı zamanda güçlü bir antioksidan hormondur. Yenidoğan bebeklerde oksidatif hasarla ilişkili sepsis benzeri hastalıklara karşı olumlu etkileri mevcuttur. Ancak PR üzerine doğrudan etkileri henüz tespit edilememiştir.⁴²

Sonuç

Oksijenin PR gelişimi üzerindeki rolü oldukça karmaşıktır. Yüksek seviyedeki oksijenin damar gelişimi üzerinde hem yararlı hem de zararlı etkileri mevcuttur. Hayvan modellerinde de gösterildiği gibi, hastalık gelişiminde esas rolü yüksek oksijen seviyesinden ziyade, oksijen seviyesindeki dalgalanmalar oynamaktadır.

Prematüre bebeklerde yetersiz antioksidan sistem ve artmış oksidatif stres PR gelişmesine neden olmaktadır. Bu mekanizmanın bilinmesi PR patofizyolojisinin doğrudan anlaşılmasına imkan vermektedir. Özellikle son iki dekatta geliştirilen OIR hayvan modelleri PR'nin mekanizma ve tedavisine yönelik önemli katkıda bulunmaktadır. OIR farelerde yeni ilaç moleküllerin geliştirilmesi ile antioksidanların, PR'nin durdurulması ya da iyileştirmesi üzerine olan etkileri incelenmektedir. Bir sonraki dekatta yeni geliştirilmekte olan antioksidan ilaçların PR'deki mevcut güncel tedavilere alternatif olabileceği düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Ashton N, Ward B, Serpell G. Effect of oxygen on developing retinal vessels with particular reference to the problem of retrolental fibroplasia. *Br J Ophthalmol.* 1954;38:397-432.
- Smith LEH, Wesolowski E, McLellan A, et al. Oxygen-induced retinopathy in the mouse. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1994;35:101-11.
- Penn JS. Oxygen-induced retinopathy in the rat: possible contribution of peroxidation reactions. *Doc Ophthalmol.* 1990;74:179-86.
- Hartnett ME. The effects of oxygen stresses on the development of features of severe retinopathy of prematurity. *Doc Ophthalmol.* 2010;120:25-39.
- STOP-ROP Multicenter Study Group. Supplemental Therapeutic Oxygen for Prethreshold Retinopathy of Prematurity (STOP-ROP), a randomized, controlled trial. I: primary outcomes. *Pediatrics.* 2000;105:295-310.
- Akkoyun İ. Prematüre retinopatisinin patofizyolojisi. *Turk J Ophthalmol.* 2012;42:63-7.
- Wang H, Zhang SX, Hartnett ME. Signaling pathways triggered by oxidative stress that mediate features of severe retinopathy of prematurity. *JAMA Ophthalmol.* 2013;131:80-5.
- Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem.* 2005;12:1161-208.
- Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002;82:47-95.
- Caprara C, Grimm C. From oxygen to erythropoietin: relevance of hypoxia for retinal development, health and disease. *Prog Retin Eye Res.* 2012;31:89-119.
- Al-Shabrawey M, Bartoli M, El-Remessy AB, et al. Inhibition of NAD(P)H oxidase activity blocks vascular endothelial growth factor overexpression and neovascularization during ischemic retinopathy. *Am J Pathol.* 2005;167:599-607.
- Brooks SE, Gu X, Samuel S, et al. Reduced severity of oxygen-induced retinopathy in eNOS-deficient mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42:222-8.
- Aydın ÜT, Çekiç O. Prematüre retinopatisinde güncel moleküler ve genetik gelişmeler. *Ret-Vit.* 2013;21:145-53.
- Ando A, Yang A, Mori K, et al. Nitric oxide is proangiogenic in the retina and choroid. *J Cell Physiol.* 2002;191:116-24.
- Ishida S, Yamashiro K, Usui T, et al. Leukocytes mediate retinal vascular remodeling during development and vaso-obliteration in disease. *Nat Med.* 2003;9:781-8.
- Saito Y, Uppal A, Byfield G, Budd S, Hartnett ME. Activated NAD(P)H oxidase from supplemental oxygen induces neovascularization independent of VEGF in retinopathy of prematurity model. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49:1591-8.
- Budd SJ, Hartnett ME. Increased angiogenic factors associated with peripheral avascular retina and intravitreal neovascularization: a model of retinopathy of prematurity. *Arch Ophthalmol.* 2010;128:589-95.
- Kaur C, Sivakumar V, Foulds WS, Luu CD, Ling EA. Cellular and vascular changes in the retina of neonatal rats after an acute exposure to hypoxia. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50:5364-74.
- Geisen P, Peterson LJ, Martiniuk D, Uppal A, Saito Y, Hartnett ME. Neutralizing antibody to VEGF reduces intravitreal neovascularization and may not interfere with ongoing intraretinal vascularization in a rat model of retinopathy of prematurity. *Mol Vis.* 2008;14:345-57.
- Kermorvant-Duchemin E, Sennlaub F, Sirinyan M, et al. Trans-arachidonic acids generated during nitrate stress induce a thrombospondin-1-dependent microvascular degeneration. *Nat Med.* 2005;11:1339-45.
- Elahi MM, Kong YX, Matata BM. Oxidative stress as a mediator of cardiovascular disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2009;2:259-69.
- Wang Q, Pšster F, Dorn-Beineke A, et al. Low-dose erythropoietin inhibits oxidative stress and early vascular changes in the experimental diabetic retina. *Diabetologia.* 2010;53:1227-38.
- Qanungo S, Mukherjee M. Ontogenic profile of some antioxidants and lipid peroxidation in human placental and fetal tissues. *Mol Cell Biochem.* 2000;215:11-9.
- Ates O, Alp HH, Caner I, et al. Oxidative DNA damage in retinopathy of prematurity. *Eur J Ophthalmol.* 2009;19:80-5.
- Al-Gubory KH, Fowler PA, Garrel C. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *Int J Biochem Cell Biol.* 2010;42:1634-50.
- Villar J, Purwar M, Merialdi M, et al. World Health Organisation multicentre randomised trial of supplementation with vitamins C and E among pregnant women at high risk for pre-eclampsia in populations of low nutritional status from developing countries. *BJOG.* 2009;116:780-8.
- Davis JM, Parad RB, Michele T, Allred E, Price A, Rosenfeld W. Pulmonary outcome at 1 year corrected age in premature infants treated at birth with recombinant human CuZn superoxide dismutase. *Pediatrics.* 2003;111:469-76.
- Collard KJ. Iron homeostasis in the neonate. *Pediatrics.* 2009;123:1208-16.
- Block F, Schwarz M. The b-wave of the electroretinogram as an index of retinal ischemia. *Gen Pharmacol.* 1998;30:281-7.
- Brion LP, Bell EF, Raghuvver TS. Vitamin E supplementation for prevention of morbidity and mortality in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003;CD003665.
- Raju TN, Langenberg P, Bhutani V, Quinn GE. Vitamin E prophylaxis to reduce retinopathy of prematurity: a reappraisal of published trials. *J Pediatr.* 1997;131:844-50.
- Johnson L, Quinn GE, Abbasi S, et al. Effect of sustained pharmacologic vitamin E levels on incidence and severity of retinopathy of prematurity: a controlled clinical trial. *J Pediatr.* 1989;114:827-38.
- Tawfik A, Sanders T, Kahook K, Akeel S, Elmarakby A, Al-Shabrawey M. Suppression of retinal peroxisome proliferator-activated receptor gamma in experimental diabetes and oxygen-induced retinopathy: role of NADPH oxidase. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50:878-84.
- Hartnett ME. The effects of oxygen stresses on the development of features of severe retinopathy of prematurity. *Doc Ophthalmol.* 2010;120:25-39.
- Kim WT, Suh ES. Retinal protective effects of resveratrol via modulation of nitric oxide synthase on oxygen-induced retinopathy. *Korean J Ophthalmol.* 2010;24:108-18.
- Abdelsaid MA, Pillai BA, Matragoon S, Prakash R, Al-Shabrawey M, El-Remessy AB. Early intervention of tyrosine nitration prevents vaso-obliteration and neovascularization in ischemic retinopathy. *J Pharmacol Exp Ther.* 2010;332:125-34.

37. Feng Y, LeBlanc MH, LeBlanc EB, et al. Desmethyl tirilazad improves neurologic function after hypoxic ischemic brain injury in piglets. *Crit Care Med.* 2000;28:1431-8.
38. Connor KM, Sangiovanni JP, Lofqvist C, et al. Increased dietary intake of omega-3-polyunsaturated fatty acids reduces pathological retinal angiogenesis. *Nat Med.* 2007;13:868-73.
39. Birch EE, Carlson SE, Hoffman DR, et al. The DIAMOND (DHA intake and measurement of neural development) Study: a double masked, randomized controlled clinical trial of the maturation of infant visual acuity as a function of the dietary level of docosahexaenoic acid. *Am J Clin Nutr.* 2010;91:848-59.
40. Hylander MA, Strobino DM, Pezzullo JC, Dhanireddy R. Association of human milk feedings with a reduction in retinopathy of prematurity among very low birth weight infants. *J Perinatol.* 2001;21:356-62.
41. Manzoni P, Guardione R, Bonetti P, et al. Lutein and zeaxanthin supplementation in preterm very low-birth-weight neonates in neonatal intensive care units: a multicenter randomized controlled trial. *Am J Perinatol.* 2013;30:25-32.
42. Siu AW, Maldonado M, Sanchez-Hidalgo M, Tan DX, Reiter RJ. Protective effects of melatonin in experimental free radical-related ocular diseases. *J Pineal Res.* 2006;40:101-9.