

一氧化氮合酶与缺血缺氧性视网膜病变

郭玉洁, 李娜

青海大学, 青海 西宁

收稿日期: 2022年10月3日; 录用日期: 2022年10月27日; 发布日期: 2022年11月8日

摘要

缺血、缺氧是糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)、视网膜静脉阻塞(retinal vein occlusion, RVO)、高海拔视网膜病变(high altitude retinopathy, HAR)和年龄相关性黄斑病变(Age-related Macular Degeneration, AMD)及早产儿视网膜病变(retinopathy of prematurity, ROP)等常见视网膜病变的重要病理生理因素。近年来, 关于缺血缺氧性视网膜病变机制的研究热点集中于一氧化氮合酶(Nitric oxide synthases, NOS)。本文主要从NOS在不同种类缺血、缺氧性视网膜病变中的作用机制角度进行综述。

关键词

一氧化氮合酶, 低氧, 视网膜

Nitric Oxide Synthase and Ischemic Hypoxic Retinopathy

Yujie Guo, Na Li

Qinghai University, Xining Qinghai

Received: Oct. 3rd, 2022; accepted: Oct. 27th, 2022; published: Nov. 8th, 2022

Abstract

Ischemia and hypoxia are important pathophysiological factors of common retinopathy of diabetic retinopathy (DR), retinal vein occlusion (RVO) and high altitude retinopathy (HAR), Age-related Macular Degeneration (AMD) and retinopathy of prematurity (ROP), etc. In recent years, the research focus on the mechanism of ischemic hypoxic retinopathy is on Nitric oxide synthases (NOS). This article mainly reviews the mechanism of NOS in different kinds of ischemic and hypoxic retinopathy.

Keywords

Nitric Oxide Synthase, Hypoxia, Retina

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. NOS 在不同种类缺血、缺氧性视网膜病变中的作用机制

1.1. NOS 与 DR

DR 的病理特征之一是视网膜微循环障碍导致的血管病变。先前的研究发现,除内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)外,诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)在 DR 血管病变的早期发病机制中起关键作用, DR 动物模型实验中, NO 含量的增高导致 DR 中视网膜功能受损, iNOS 缺乏的小鼠视网膜毛细血管损伤较轻,而这种损伤是通过测量 iNOS 的表达增高来解释的 [1] [2]。因此, iNOS 已被确定为 DR 早期阶段相关的血管变化中最重要的原因之一。有研究发现,与非糖尿病组大鼠的视网膜相比,糖尿病组大鼠视网膜中的 iNOS 的活性和 L-精氨酸(L-arginine, L-arg)的转运易与亲和力较低的载体发生结合作用,这种作用与 NO 增加 L-精氨酸的细胞内池活性有关。而在非胰岛素依赖型糖尿病大鼠中,血-视网膜屏障(blood-retinal barrier, BRB)通透性增加导致 iNOS 活性增高,由 iNOS 介导的蛋白质表达水平有所增加,继而产生的高浓度 NO 可能导致神经毒性作用和异常血管生成 [3]。有实验研究发现在早期糖尿病大鼠视网膜中, iNOS 的表达上调,与血液循环障碍、局部视网膜缺氧密切相关,提示抑制 iNOS 的表达有助于预防 DR 的发生 [4]。

有学者在胍丁胺对糖尿病大鼠模型的视网膜保护作用的研究中发现, NO 是一种强氧化剂,由于 iNOS 的过量传递,引起视网膜细胞发生炎症反应、硝基氧化应激反应,导致线粒体功能障碍和细胞凋亡, p38MAPK 和 JNK 通路被激活,会触发 NOS 过度激活,继而产生过量 NO 介导炎症反应,而这种炎症反应与 NO 的相互作用就会加速细胞凋亡,上述发现表明胍丁胺是所有 NOS 同工酶的竞争性抑制剂 [5]。有研究表明,高血糖水平和细胞增殖之间的联系可能包括通过激活 p38 丝裂原活化蛋白激酶、氧化应激以及直接抑制 eNOS 和超氧阴离子过量产生来降低 NO 生物利用度和加速细胞衰老 [6]。此外,有研究表明褪黑激素(melatonin, MT)作为一种有效的抗氧化剂,可以降低视网膜中的活性氧自由基和 NOS 的活性,对糖尿病大鼠中视网膜过氧化氢酶活性有维持作用,同时它还可以刺激其他抗氧化剂的产生(如谷胱甘肽)而延缓 DR 的发展 [7]。有研究发现在糖尿病的早期发病通过提高视网膜小动脉中精氨酸酶的活性,选择性地损害视网膜 eNOS 介导的血管扩张 [8]。DR 早期血管损伤是通过抑制视网膜小动脉中 NOS 而不是环氧化酶-2 (COX-2)信号通路来促进内皮(endothelial cell, EC)功能障碍,而带有精氨酸酶活性的药物能够在此时期阻断完全恢复的小动脉血管的扩张功能,这是糖尿病早期视网膜微血管治疗、改善视网膜缺血的一个有益的临床靶点 [9]。

有研究发现, DR 中 eNOS 表达的降低与 eNOS 基因多态性有关,在对不同种族的人群研究中发现, 1 型糖尿病和 2 型糖尿病的研究结果显示: 2 型糖尿病患者 eNOS 基因启动子区 T-786C、内含子区 27-bp、重复序列 4b/4a 及外显子区 Glu298Asp 基因多态性使 eNOS 表达受损从而促使视网膜黄斑水肿发展及 BRB 破坏,而 1 型糖尿病的研究却相反,这提示基因多态性与病程持续时间短的 1 型糖尿病所致的 DR 无相关性 [10]。

iNOS 在 DR 发病机制中的损伤作用和 eNOS 的保护作用学界观点基本一致, 他们均认为 NOS 在 DR 发病机制中起到了至关重要的作用[11]。基因多态性的发现也将是研究 DR 与 NOS 新的切入点。进一步研究 NOS 及其参与的信号通路与 DR 血管损伤的关系、研究 NOS 参与氧化应激与细胞凋亡、增殖的机制, 有助于从分子水平上阐明 DR 的发病机制, 进而为其临床诊治奠定基础。

1.2. NOS 与 RVO

RVO 是一种相对常见的可导致视网膜出血和黄斑水肿的视网膜血管疾病, 水肿反过来会导致视力障碍, 水肿是由于血视网膜屏障破坏引起的视网膜血管通透性增加和白细胞停滞引起的[12]。目前抗血管内皮生长因子(anti-VEGF)化合物是唯一获准用于 RVO 眼睛的治疗方法。视网膜非灌注区的大小是治疗 RVO 的一个重要标志, 因为它与视觉损伤程度密切相关, 未灌注的视网膜可导致不同程度的视网膜缺血、缺氧, 其大小取决于视网膜静脉血栓形成的程度[13]。早期研究结果表明, 激肽原酶可以保护血管内皮细胞, 可显著降低缺血-再灌注引起的高渗透性, 此外, 激肽原酶还可以减轻由缺血-再灌注引起的视网膜功能障碍[14], 激肽原酶通过磷酸化 eNOS 使链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠的视网膜血管通透性变得正常。有研究表明, VEGF 165 裂解激活的 Akt-eNOS 通路具有神经保护作用, 激肽原酶通过 Akt-eNOS 通路依赖性磷酸化抑制水肿和非灌注区。因此, 激肽原酶不仅具有改善脉络膜和视网膜循环障碍的作用, 还具有神经保护作用[15]。有研究结果表明, 激肽原酶可能代表一种潜在的治疗靶点, 通过 eNOS 的激活治疗 RVO 患者的视网膜水肿和非灌注区[16]。早期的研究中发现, 含有 exendin-4 的眼药水能够有效预防视网膜神经退行性改变, 是由于 eNOS 的激活对血管具有保护作用[17]。因此 exendin-4 可以改善视网膜缺血-再灌注损伤引起的视网膜毛细血管收缩或阻塞, 这为开发一种安全有效的眼药水提供了可能, 用于视网膜缺血-再灌注损伤后的眼部疾病, 如 RVO [18]。

结合上述研究观点, 笔者认为针对 RVO 的发病机制, NOS 破坏 BRB 的作用是肯定的, 这一作用使得在 RVO 在治疗方法上, 抗 VEGF 治疗原理与 NOS 及其相关信号通路密切相关。然而, 与血管舒张收缩调控相关的信号通路不仅包括 Akt-eNOS 和 COX 的信号通路, 还包括 ET-1 和脑钠肽等其他介质, 在既往实验研究中未对这些通路进行评估。此外, 对早期 RVO 患者视网膜血管 eNOS 表达增高的原因, 建造动物实验模型可能适合用于更全面的机制研究。

1.3. NOS 与 AMD

AMD 是一种与年龄相关的血管性疾病, 其特征是脉络膜灌注降低导致新生血管长入视网膜色素上皮层, 感光细胞的死亡和随后的视力丧失是 AMD 的终点。AMD 患者的视网膜细胞层和核层细胞数量及功能会在病情发展的过程中显著降低。一般而言, AMD 患者的视网膜中产生的 NO 较正常眼少, 这可能与 eNOS 和神经型一氧化氮合酶(Neuronal nitric oxide synthase, nNOS)表达的减少、视网膜神经元变性、血管收缩和血流动力学变化有关[19]。AMD 显著影响黄斑区的下部分, 异常的脉络膜血液供应可能会影响视网膜正常功能, 导致视力下降。既往实验研究中将 nNOS 的免疫反应定位于视网膜色素上皮层细胞和视网膜核层细胞、神经纤维层细胞和脉络膜血管内皮细胞, eNOS 和 iNOS 的免疫反应几乎完全局限于视网膜和脉络膜血管[20]。在 AMD 患者的视网膜中, nNOS 和 eNOS 的免疫反应导致视网膜和脉络膜血流明显降低, 血管收缩等血流动力学变化[21] [22]。这些发现说明少量的 NO 可能在减少黄斑区血容量中起关键作用。有学者研究发现, AMD 患者视网膜中 BRB 通透性明显增加, 在氧诱导视网膜病变小鼠中, 药物抑制 NOS 的产生可以降低由于 BRB 通透性增加引起的血管渗漏。因此, NOS 抑制剂与抗 VEGF 药物联合应用, 低剂量仍然有效, 并具有临床效益[23]。越来越多的证据表明 AMD 造成的黄斑水肿过程中, 伴随脉络膜新生血管的形成, 下调 Akt 活性能够减弱视网膜内皮细胞血管生成, 这说明该过程与 Akt/eNOS

信号通路有直接的相关性[24]。

笔者认为, AMD 对患者视功能方面的影响, 主要取决于脉络膜正常的血液及氧气供应。以上的研究表明, NOS 在 AMD 发病机制中贯穿整个疾病的发展过程, 早期的免疫反应影响 BRB 的通透性从而导致血管渗漏, 晚期通过激活 Akt/eNOS 信号通路影响血管新生。因此, NOS 有可能成为治疗和预防 AMD 的新靶点, 这需要更多确切的证据来肯定 NOS 在 AMD 中的作用。

1.4. NOS 与 HAR

高海拔视网膜病变(high altitude retinopathy, HAR)是由于外部环境因素(高压、低氧), 导致视网膜氧代谢发生异常而形成的视网膜病变。其生理病理变化包括视网膜血管的扩张及出血、视网膜静脉的阻塞、视盘水肿等。目前 HAR 的发病机制为: BRB 通透性增加、视网膜神经细胞损伤、视网膜血管调节功能障碍和血流动力学变化。高海拔这种特殊的环境导致全身各器官血流动力学改变, 血液中血红蛋白的含量增加, 使血液粘稠度升高, 导致视网膜微循环障碍, 这可能与红细胞调节 eNOS、ET-1 表达有关[25]。在有关实验研究中, 采用缺氧条件下大鼠视网膜病变模型, 发现 eNOS 表达降低, 这与其上游 VEGF 以及缺氧诱导因子(hypoxi-inducible factor-1, HIF-1)的增高有关[26]。VEGF 作用于视网膜血管内皮细胞, 增加了视网膜微血管通透性, 这种破坏 BRB 的作用是与 eNOS 产生的 NO 一同产生的。

1.5. NOS 与 ROP

早产儿视网膜病变(retinopathy of prematurity, ROP)是发生在胚胎发育期间, 视网膜血管生成过程中的缺血性视网膜病变, 是早产儿主要的并发症之一, 长时间吸入高浓度氧被认为是 ROP 的主要原因。前期有研究证明 eNOS 的缺失导致视网膜内皮细胞增殖减少(无论是离体还是体内), 继而影响生物体的发育[27]。研究表明, 在氧诱导视网膜病变(oxygen-induced retinopathy, OIR)模型的建立过程中, 病理性新生血管形成通常会导致无法弥补的视力丧失[28]。McGown 等人在研究中表明, 在 eNOS 敲除动物中, 通过消耗 eNOS 从而降低过氧亚硝酸盐水平可减少视网膜血管内皮细胞的损伤, 并增强高氧后的血管覆盖, 这证明了 eNOS 衍生的过氧亚硝酸盐在促进血管消退中的作用[29]。另一项研究中, 高氧会耗尽新生儿视网膜中 NOS 辅助因子四氢生物蝶呤(BH₄)的水平, 导致 eNOS 解耦联, 从 NO 转变为 O₂。BH₄ 水平不足的情况下, 增强内皮细胞特异表达 eNOS 的功能, 这种转基因模型避免了高氧对 BH₄ 缺乏的损害。利用 eNOS 促血管生成活性的优点, 补充 BH₄ 也可以避免这种损害, 保护内皮免受高氧损伤[30]。

一项研究表明, eNOS 对视网膜内皮尖端细胞活性的影响及其在血管前端的迁移速度至关重要[31], 这说明 eNOS 衍生的 NO 在视网膜血管生成中的作用, 证明 eNOS 参与了 EC 中的极化程序, 影响了它们的迁移和血管生成。有研究显示 eNOS 控制内皮细胞极化并影响内皮细胞极性基因的表达, eNOS 衍生的 NO 对内皮粘附连接的直接作用, 会加速视网膜血管疾病的发展。有实验结果证明通过直接影响 ECs 的极性程序, 导致 eNOS 缺失, 导致病理性新生血管生长入玻璃体, 从而证明了 eNOS 在病理性血管生成中的多效性[32]。由于视网膜表面的定向血运重建不是依靠无血管的玻璃体, 因此 eNOS 的缺乏减少了病理性新血管形成。eNOS 作为 EC 极性的调节剂, eNOS 缺乏会导致视网膜表层的极化血管生长, 在视网膜病变期间调节血管再生和病理性新生血管形成具有重要作用[33]。eNOS 在 VEGF 诱导的视网膜血管生成中起核心作用。在病理性新生血管形成过程中, 研究发现缺乏 eNOS 诱导细胞极性通路启动, 这会降低尖端细胞的迁移, 导致缺血性视网膜中存在的过量 VEGF [34]。除 VEGF 外, 其他内皮生长因子, 如血管生成素, 也参与调节正常和病理性视网膜血管生成, 因此, 新生血管生成受到 VEGF 和 eNOS 的正向机制调节。

2. 结语与展望

由于 NO 在缺血缺氧性视网膜病变中的作用是肯定的, NOS 的三种亚型在视网膜疾病中均发挥着不同的重要作用, 在已发表的关于 NOS 在缺血缺氧性视网膜病变中的作用的的文章中, 大多在其特异性抑制剂或者基因位点着手, 试图干预缺血、缺氧性视网膜病变并发症的发生。比如先前已知 eNOS 参与视网膜血管生成, 但 eNOS 如何调节这一过程仍不清楚。在各种常见缺血缺氧性视网膜病变中抗 VEGF 治疗已经收到良好的效果, 并是目前针对 RVO、AMD 唯一的治疗手段, 但现实的临床效果反映这种抗 VEGF 的治疗是因人而异的, 并且多次注射增加了眼内炎发生的风险, 以及带给病人经济上的负担, 故研发可以延缓疾病进展的新的治疗方案十分必要。针对分子生物学机制的治疗方法已经在发挥其重要作用, 相信 NOS 的研究前景会为缺血缺氧性视网膜病变的治疗及并发症的预防提供更有意义的价值。

参考文献

- [1] Zaitoun, I.S., Shahi, P.K., Suscha, A., *et al.* (2021) Hypoxic-Ischemic Injury Causes Functional and Structural Neurovascular Degeneration in the Juvenile Mouse Retina. *Scientific Reports*, **11**, Article No. 12670. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90447-5>
- [2] Park, W., Kim, J., Choi, S., *et al.* (2021) Human Plasminogen-Derived N-acetyl-Arg-Leu-Tyr-Glu Antagonizes VEGFR-2 to Prevent Blood-Retinal Barrier Breakdown in Diabetic Mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **134**, Article ID: 111110. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.111110>
- [3] Li, X., Ye, Z., Pei, S., *et al.* (2021) Neuroprotective Effect of Minocycline on Rat Retinal Ischemia-Reperfusion Injury. *Molecular Vision*, **27**, 438-456.
- [4] Wang, C.-F., Yuan, J.-R., Qin, D., *et al.* (2016) Protection of Tauroursodeoxycholic Acid on High Glucose-Induced Human Retinal Microvascular Endothelial Cells Dysfunction and Streptozotocin-Induced Diabetic Retinopathy Rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **185**, 162-170. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.03.026>
- [5] Abo El Gheit, R.E., Soliman, N.A., Badawi, G.A., *et al.* (2021) Retinoprotective Effect of Agmatine Instreptozotocin-Induced Diabetic Rat Model: Avenues for Vascular and Neuronal Protection: Agmatine in Diabetic Retinopathy. *Journal of Physiology and Biochemistry*, **77**, 305-320. <https://doi.org/10.1007/s13105-021-00799-9>
- [6] Blum, A., Meerson, A., Rohana, H., *et al.* (2019) MicroRNA-423 May Regulate Diabetic Vasculopathy. *Clinical and Experimental Medicine*, **19**, 469-477. <https://doi.org/10.1007/s10238-019-00573-8>
- [7] Salido, E.M., Bordone, M., De Laurentiis, A., *et al.* (2013) Therapeutic Efficacy of Melatonin in Reducing Retinal Damage in an Experimental Model of Early Type 2 Diabetes in Rats. *Journal of Pineal Research*, **54**, 179-189. <https://doi.org/10.1111/jpi.12008>
- [8] Heuser, S.K., LoBue, A., Li, J., *et al.* (2022) Downregulation of eNOS and Preserved Endothelial Function in Endothelial-Specific Arginase 1-Deficient Mice. *Nitric Oxide*, **125-126**, 69-77. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2022.06.004>
- [9] Hein, T.W., Omae, T., Xu, W., *et al.* (2020) Role of Arginase in Selective Impairment of Endothelium-Dependent Nitric Oxide Synthase-Mediated Dilatation of Retinal Arterioles during Early Diabetes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **61**, Article No. 36. <https://doi.org/10.1167/iovs.61.5.36>
- [10] Mihoubi, E., Bouldjennet, F., Raache, R., *et al.* (2019) Polymorphisme T-786C de l'eNOS dans la rétinopathie du diabète de type 1 chez la population algérienne [T-786C Endothelial Nitric Oxide Gene Polymorphism and Type 1 Diabetic Retinopathy in the Algerian Population]. *Journal Français d'Ophtalmologie*, **42**, 579-585. <https://doi.org/10.1016/j.jfo.2018.11.014>
- [11] Lin, L.Y., Lin, C.Y., Ho, F.M., *et al.* (2005) Up-Regulation of the Association between Heat Shock Protein 90 and Endothelial Nitric Oxide Synthase Prevents High Glucose-Induced Apoptosis in Human Endothelial Cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, **94**, 194-201. <https://doi.org/10.1002/jcb.20195>
- [12] Xie, W., Zhao, M., Tsai, S.H., *et al.* (2018) Correlation of Spectral Domain Optical Coherence Tomography with Histology and Electron Microscopy in the Porcine Retina. *Experimental Eye Research*, **177**, 181-190. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2018.08.003>
- [13] Sedlak, L., Wojnar, W., Zych, M., *et al.* (2018) Effect of Resveratrol, a Dietary-Derived Polyphenol, on the Oxidative Stress and Polyol Pathway in the Lens of Rats with Streptozotocin-Induced Diabetes. *Nutrients*, **10**, Article No. 1423. <https://doi.org/10.3390/nu10101423>
- [14] Van Bergen, T., Hu, T.T., Little, K., *et al.* (2021) Targeting Plasma Kallikrein with a Novel Bicyclic Peptide Inhibitor (THR-149) Reduces Retinal Thickening in a Diabetic Rat Model. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **62**,

- Article No. 18. <https://doi.org/10.1167/iovs.62.13.18>
- [15] Yoshizumi, Y., Ohara, Z., Tabuchi, H., *et al.* (2019) Effects of Kallidinogenase in Patients Undergoing Vitrectomy for Diabetic Macular Edema. *International Ophthalmology*, **39**, 1307-1313. <https://doi.org/10.1007/s10792-018-0945-8>
- [16] Nishinaka, A., Inoue, Y., Fuma, S., *et al.* (2018) Pathophysiological Role of VEGF on Retinal Edema and Nonperfused Areas in Mouse Eyes with Retinal Vein Occlusion. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **59**, 4701-4713. <https://doi.org/10.1167/iovs.18-23994>
- [17] Chien, C.T., Jou, M.J., Cheng, T.Y., Yang, C.H., *et al.* (2015) Exendin-4-Loaded PLGA Microspheres Relieve Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury and Neurologic Deficits through Long-Lasting Bioactivity-Mediated Phosphorylated Akt/eNOS Signaling in Rats. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, **35**, 1790-1803. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.126>
- [18] Zhai, R., Xu, H., Hu, F., *et al.* (2020) Exendin-4, a GLP-1 Receptor Agonist Regulates Retinal Capillary Tone and Restores Microvascular Patency after Ischaemia-Reperfusion Injury. *British Journal of Pharmacology*, **177**, 3389-3402. <https://doi.org/10.1111/bph.15059>
- [19] Erdinest, N., London, N., Ovadia, H., *et al.* (2021) Nitric Oxide Interaction with the Eye. *Vision (Basel)*, **5**, Article No. 29. <https://doi.org/10.3390/vision5020029>
- [20] Daruich, A., Matet, A., Moulin, A., *et al.* (2018) Mechanisms of Macular Edema: Beyond the Surface. *Progress in Retinal and Eye Research*, **63**, 20-68. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2017.10.006>
- [21] Jiang, H., Wu, M., Liu, Y., *et al.* (2017) Serine Racemase Deficiency Attenuates Choroidal Neovascularization and Reduces Nitric Oxide and VEGF Levels by Retinal Pigment Epithelial Cells. *Journal of Neurochemistry*, **143**, 375-388. <https://doi.org/10.1111/jnc.14214>
- [22] Toma, C., De Cillà, S., Palumbo, A., *et al.* (2021) Oxidative and Nitrosative Stress in Age-Related Macular Degeneration: A Review of Their Role in Different Stages of Disease. *Antioxidants (Basel)*, **10**, Article No. 653. <https://doi.org/10.3390/antiox10050653>
- [23] Ninchoji, T., Love, D.T., Smith, R.O., *et al.* (2021) eNOS-Induced Vascular Barrier Disruption in Retinopathy by c-Src Activation and Tyrosine Phosphorylation of VE-Cadherin. *Elife*, **10**, e64944. <https://doi.org/10.7554/eLife.64944>
- [24] Tanaka, M., Nakamura, S., Maekawa, M., Higashiyama, S., *et al.* (2020) ANKIFY1 Is Essential for Retinal Endothelial Cell Proliferation and Migration via VEGFR2/Akt/eNOS Pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **533**, 1406-1412. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.10.032>
- [25] Nakamura-Utsunomiya, A., Tsumura, M., Okada, S., *et al.* (2020) Downregulation of Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) and Endothelin-1 (ET-1) in a Co-Culture System with Human Stimulated X-Linked CGD Neutrophils. *PLOS ONE*, **15**, e0230665. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230665>
- [26] Chen, S.F., Pan, M.X., Tang, J.C., Cheng, J., Zhao, D., *et al.* (2020) Arginine Is Neuroprotective through Suppressing HIF-1 α /LDHA-Mediated Inflammatory Response after Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury. *Molecular Brain*, **13**, Article No. 63. <https://doi.org/10.1186/s13041-020-00601-9>
- [27] Lv, J., Chen, M.M., Mu, Z.H., *et al.* (2018) Intravitreal Bevacizumab Injection Attenuates Diabetic Retinopathy in Adult Rats with Experimentally Induced Diabetes in the Early Stage. *Journal of Diabetes Research*, **2018**, Article ID: 9216791. <https://doi.org/10.1155/2018/9216791>
- [28] Qadri, A., Cai, C.L., Deslouches, K., *et al.* (2021) Ocular versus Oral Propranolol for Prevention and/or Treatment of Oxygen-Induced Retinopathy in a Rat Model. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, **37**, 112-130. <https://doi.org/10.1089/jop.2020.0092>
- [29] McGown, C.C., Brown, N.J., Hellewell, P.G., *et al.* (2011) ROCK Induced Inflammation of the Microcirculation during Endotoxemia Mediated by Nitric Oxide Synthase. *Microvascular Research*, **81**, 281-288. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2011.02.003>
- [30] Vrankova, S., Zemancikova, A., Torok, J. and Pechanova, O. (2019) Effect of Low Dose L-NAME Pretreatment on Nitric Oxide/Reactive Oxygen Species Balance and Vasoactivity in L-NAME/Salt-Induced Hypertensive Rats. *Journal of Physiology and Pharmacology*, **70**, No. 4.
- [31] Smith, T.L., Oubaha, M., Cagnone, G., *et al.* (2021) eNOS Controls Angiogenic Sprouting and Retinal Neovascularization through the Regulation of Endothelial Cell Polarity. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **79**, Article No. 37. <https://doi.org/10.1007/s00018-021-04042-y>
- [32] Cao, Y., Wang, J., Wei, F., Gu, Q., *et al.* (2022) Tert-Butylhydroquinone Protects the Retina from Oxidative Stress in STZ-Induced Diabetic Rats via the PI3K/Akt/eNOS Pathway. *European Journal of Pharmacology*, **935**, Article ID: 175297. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.175297>
- [33] Zhou, Q., Tu, T., Tai, S., *et al.* (2021) Endothelial Specific Deletion of HMGB1 Increases Blood Pressure and Retards Ischemia Recovery through eNOS and ROS Pathway in Mice. *Redox Biology*, **41**, Article ID: 101890. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101890>

- [34] Yetkin-Arik, B., Vogels, I.M.C., Nowak-Sliwinska, P., *et al.* (2019) The Role of Glycolysis and Mitochondrial Respiration in the Formation and Functioning of Endothelial Tip Cells during Angiogenesis. *Scientific Reports*, **9**, Article No. 12608. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48676-2>