ラット網膜の虚血再灌流障害によるアポトーシスの局在

西山 洋子,林 直樹,村山耕一郎,森 圭介,米谷 新 埼玉医科大学眼科学教室

要 約 網膜の虚血再灌流障害モデルをラットに作製し,再灌 及んでいた.電顕所見は,再灌流早期では TUNEL 法の 流開始後に生じる網膜障害をアポトーシスを中心に経時 所見と必ずしも一致しなかったが、4時間後以降の組織 的に検索した.アポトーシスは,免疫組織化学的染色法で 所見では一致していた.3日後には壊死性変化が顕著と ある TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling なっていた.以上の知見は、網膜虚血再灌流障害の治療、 予後を検討する上で有用である.(日眼会誌 102:417method(TUNEL法)と,電子顕微鏡(電顕)で確認した。 Sprague-Dawley 系ラット眼 50 眼の網膜に1時間の高 424, 1998) 眼圧性虚血を作製し,再灌流開始直後,30分,1,2,4時 間,1,3日後に眼球を摘出した.TUNEL法では,再灌流 キーワード:虚血再灌流障害,網膜,アポトーシス, 開始1時間後には陽性細胞が網膜内層に観察され,その **TUNEL法** 後経時的に顕著となり、4時間後以降では網膜外層にも

Apoptotic Changes after Pressure-induced Ischemia-reperfusion Injury in the Rat Retina

Yoko Nishiyama, Naoki Hayashi, Koichiro Murayama, Keisuke Mori and Shin Yoneya Department of Ophthalmology, Saitama Medical School

Abstract

50 eyes of 30 Sprague-Dawley rats were subjected to 60 minutes of pressure-induced ischemia, then fixed for light and electron microscopy with no reperfusion, or reperfusion after 30 minutes, 1, 2 or 4 hours, and 1 or 3 days from the time ocular ischemia was relaxed. The TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling (TUNEL) method revealed apoptotic signs at the inner retina as early as 1 hour after reperfusion. However, the incidence of apoptotic signs with the TUNEL method did not accord with the results of electron microscopic examination. During the time after the reperfusion started, especially after more than 4 hours, apoptotic signs became ob-

I 緒 言

虚血による細胞死は,程度が軽い場合には壊死だけで なくアポトーシスの形態をとることが明らかにされてい る.網膜においても網膜中心動脈の結紮や高眼圧による 虚血-再灌流モデルでの形態学的変化についての報告が vious and extended from the inner to the outer retina. These apoptotic findings could be seen with both the TUNEL method and electron micorscopy. By 3 days after the reperfusion, necrotic cells in the ganglion cell layer, and the inner and outer nuclear layer became more prominent than apoptotic cells. These results may provide a baseline for therapeutic strategy and the prognosis of ischemia-reperfusion injury in the retina. (J Jpn Ophthalmol Soc 102: 417-424, 1998)

Key words: Ischemia-reperfusion injury, Retina, Apoptosis, TUNEL method

すでにあり,アポトーシスの関与が示唆されている^{1)~3)}. いうまでもなく,網膜疾患の多くが網膜虚血を主病変と し,その網膜虚血に伴う細胞死の本態の解明は眼科臨床 上重要である.さらに,虚血時間と細胞死の出現との関係 も治療だけでなく,予後を予測する点からも具体的に明 らかにする必要がある.

別刷請求先: 350-0495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 38 埼玉医科大学眼科学教室 西山 洋子 (平成9年9月18日受付,平成10年2月14日改訂受理)

Reprint requests to : Yoko Nishiyama, M.D. Department of Ophthalmalogy, Saitama Medical School. 38 Morohongo, Moroyama-machi Iruma-gun, Saitama-ken 350 – 0495, Japan

(Receved September 18, 1997 and accepted in revised form February 14, 1998)

417



図1 ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色.

- A:正常眼.
- B: 虚血解除直後. 神経節細胞層と内顆粒層に軽度の空胞化が観察される.
- C:再灌流開始30分後.虚血解除直後の所見に加えて,神経線維層に膨化と内網状層に浮腫がみられる.
- D: 再灌流1時間. 再灌流 30 分の所見に比し, 内網状層の浮腫性変化が顕著.
- E:再灌流2時間,再灌流1時間とほぼ同程度の神経線維層の膨化,神経節細胞層と内顆粒層の空胞化,内網状層の浮腫がある.
- F:再灌流4時間.網膜内層は再灌流1,2時間とほぼ同様の変化.外層には視細胞層の配列の乱れと網膜下に局在的な壊死性物質の貯留,その結果,外顆粒層は褶曲化している.
- G:再灌流1日.各層の変化は再灌流4時間後よりも高度.網膜血管および脈絡膜血管は拡張.
- H:再灌流3日.神経線維層の膨化,内網状層の浮腫は再灌流1日よりも軽度.視細胞層の変化は再灌流1日とほぼ同様.



図2 TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling method(TUNEL法).

A, B: 再灌流 1 時間. 大多数の神経節細胞層および内顆粒層の核は TUNEL 陽性として観察される (A). Terminal deoxy-nucleotidyl transferase (TdT)を加えずに TUNEL 法を施した陰性対照標本は染色されない (B).

- C,D:再灌流2時間.神経節細胞層に茶褐色の陽性細胞.内顆粒層には核のみが染色され,陽性を示しているものもある(C).陰性 対照は染色されない(D).
- E: 再灌流4時間,外顆粒層に陽性細胞が観察される.
- F:再灌流1日.神経節細胞層,内顆粒層,外顆粒層に陽性細胞が散在.
- G:再灌流3日.陽性細胞は網膜全層に観察され,再灌流1日に比し,外顆粒層における陽性細胞は増加.
- H:正常眼.TUNEL法のバックグランドである正常眼においては,アポトーシスを示す陽性所見はみられない.

近年,アポトーシスを免疫組織化学的手法で,特異的 に,しかも広視野で観察可能な TdT-mediated dUTPbiotin nick end labeling method(TUNEL法)が開発さ れ,その有用性が確認されている⁴⁾.我々は本法を用いて, 高眼圧による実験的網膜虚血における血流再疎通後のア ポトーシス誘導の有無,および時期と網膜各層における 局在を検索した.さらに,電子顕微鏡(電顕)での観察も同 時に行い,アポトーシス細胞の確認をし,興味ある知見を 得たので報告する.

Ⅱ 方 法

実験には成熟白色 Sprague-Dawley (SD) 系ラット(体

重約 250 g), 30 匹 50 眼を用いた.

ウレタンの腹腔内麻酔(7.2 ml/kg)と0.4%塩酸オキ シブプロカイン(ベノキシール[®],参天製薬)の点眼麻酔 下で25G針を前房内に刺入し,接着剤で固定した.150 cm水柱の圧で生理的食塩水を前房内に灌流することで 網膜を虚血状態にし,1時間後に加圧を中止して血流を 再疎通させた.網膜虚血の開始と解除の確認は、ミドリン P[®](参天製薬)による散瞳下で検眼鏡的に網膜動脈の拍 動消失および再開を観察した.50眼中7眼は虚血解除 後,直ちに眼球摘出した.また,血流を再灌流した後,30 分経過した時点で5眼,1時間で12眼,2時間で7眼,4 時間で7眼,1日で4眼,3日で3眼をそれぞれ摘出し,組





- A:再灌流1時間,内顆粒層.クロマチンが凝縮した 核と濃縮した細胞質を持つ細胞が散在.高電子 密度の粗大な顆粒を核内に含んでいるもの(矢 印)や,核が分葉化しているものがある(太矢 印).バーは1µm.以下同様.
- B:再灌流2時間,内顆粒層.核内のクロマチンの凝 縮と分葉化(矢印),および細胞質の濃縮がある 細胞(太矢印).
- C~E:再灌流4時間.凝縮した核と細胞内小器官が 保存され,濃縮した細胞質を持つ細胞は再灌流1 ~2時間より多かった.外顆粒層にも同様な細胞 が出現.それぞれ神経節細胞層(C),内顆粒層 (D),外顆粒層(E)におけるアポートシス細胞を 示す.



図3 電子顕微鏡(電顕)所見.

織学的検索を行った.なお,正常対照として正常眼5眼を 用いた.

摘出した眼球は 4℃ に保温された 4% パラホルムアル デヒドーリン酸緩衝液に 60 分間浸漬固定し, 実体顕微鏡 下で半割の後, 型のごとくパラフィン包埋した. 染色はヘ マトキシリン・エオジン (HE) 染色, および TUNEL 法⁴¹ の変法でビオチン化 dUTP の代わりにジゴキシゲニン 化した dUTP を用い, ペルオキシダーゼで発色させ (Apop Tag[®], Oncor 社), 光学的 顕微鏡(光顕) (OPTI-PHOT-2[®], Nikon 社)で観察した. また, 各条件群につき 2 眼は電顕による観察のため, 2.5% グルタールアルデヒ ドーリン酸緩衝液で 4℃, 60 分間浸漬前固定し, 実体顕微 鏡下で半割した.半割した眼球は,0.1 M カコジル酸/8% シュクロース緩衝液で洗浄し,1% 四酸化オスミウム/ 0.1 M カコジル酸緩衝液で2時間の本固定を行った.そ の後,型通りにエタノール系列で脱水し,アラルダイド・ エポンに包埋,3.3% 酢酸ウラニルークエン酸鉛水溶液 で染色し,透過型電顕(日立 H-7000,日立社製)による観 察を行った.

Ⅲ 結 果

バックグラウンドとして行った正常眼5眼のHE 染 色, TUNEL 法ではアポトーシスを示す組織所見, および TUNEL 法に陽性所見はなかった(図1A, 2H). 網膜虚血1時間後,直ちに眼球摘出した光顕所見は,神 経線維層の膨化,神経節細胞層と内顆粒層の軽度の空胞 化がみられた.しかし,各々の核に染色性の変化はなかっ た.内網状層から網膜外層には異常所見はなかった(図1 B).また,TUNEL法は陰性であった.

虚血後,再灌流 30 分間行ったものでは,光顕上,網膜内 層の変化は直後に観察された所見に加えて,内網状層に は浮腫が出現していた.しかし,その外層の構造には著変 はなかった(図1C).TUNEL法は陰性所見であった.

再灌流1時間の光顕所見は30分の群に比して網膜内 層の変化がより顕著となっていたが,網膜外層は健常で あった(図1D). TUNEL 法では神経節細胞層に陽性所 見がみられ、内顆粒層が帯状に茶褐色に淡染していた.染 色は核に特異的で、細胞質や周囲の結合織は染色されて いないものと、細胞質も染色されているものが混在して いた(図2A).陰性対照として反応に使用する酵素,terminal deoxy-nucleotidyl transferase(TdT)を加えずに 同一切片を染色したが、この対照標本は染色されなかっ た(図2B). 電顕では、神経節細胞層と内顆粒層に核クロ マチンが凝縮した細胞が観察された.クロマチンは凝縮 して高電子密度を呈し、その中に粗大な顆粒を含むもの、 分葉化、断片化を示すものがあった、細胞質の電子密度は 高く,容積は縮小していた(図3A).細胞内小器官は比較 的構造が保たれており、ミトコンドリアとそのクリステ が確認された.このような細胞の出現頻度は,TUNEL法 における陽性頻度とは必ずしも一致していなかった.網 膜内層には核の濃縮や分葉化,断片化はあるが,細胞質が 浮腫状で空胞を伴い,細胞内小器官の浮腫および破壊が みられる壊死細胞の混在も観察された.

再灌流2時間では,HE染色とTUNEL法において網 膜の変化はほぼ再灌流1時間と同程度であった(図1E, 2C,D).電顕所見も同様であった(図3B).

再灌流4時間のHE染色所見は,再灌流1,2時間の所 見とほぼ同程度の網膜内層の変化であった.さらに,網膜 外層には視細胞層に配列の乱れが観察された.また,網膜 下に壊死性物質の貯留が局所的にあり,その部分で外顆 粒層が褶曲化していた(図1F).TUNEL法では神経節細 胞層,内顆粒層,そして外顆粒層に陽性細胞が出現してい た(図2E).電顕による神経節細胞層と内顆粒層の観察 では,再灌流1,2時間の電顕標本でみられたような凝縮 して電子密度の高くなったクロマチンと細胞質,そして 比較的構造がよく保たれている細胞内小器官を持つ細胞 が観察されたが,その出現頻度は再灌流1,2時間よりも 高かった.外顆粒層にもこのような特徴を有する細胞が 散在していた(図3C~E).

再灌流開始1日後では、神経線維層の膨化はより顕著 となり、神経節細胞層における核濃縮は高頻度であった. また、内網状層の浮腫は再灌流4時間の所見よりもより 高度となり、その中に神経節細胞層から脱落したと推測 される濃縮した核が観察された.内顆粒層でも空胞化や 核濃縮が顕著であった.網膜外層では外網状層や外顆粒 層に目立った変化はなかったが,網膜下には再灌流4時 間の標本で観察されたのと同様の局在的な壊死性物質の 貯留と,それに一致した外節の乱れが観察された.網膜や 脈絡膜の血管はともに拡張していた(図1G).TUNEL法 では陽性細胞が神経節細胞層,内顆粒層,外顆粒層で散在 して観察され,特に外顆粒層における出現頻度は再灌流 4時間後の所見に比して高い傾向にあった(図2F).

再灌流3日の組織所見では,神経線維層の膨化や内網 状層の浮腫は再灌流1日のそれに比べ軽微となってい た.内顆粒層および外顆粒層においては,空胞化や核濃縮 が観察された.また,外顆粒層の核は視細胞層に脱落して いるものもあった.視細胞層の変化は,再灌流1日の標本 とほぼ同様であった(図1H).TUNEL法では,陽性細胞 は再灌流1日のものよりも少なかったが,網膜の核を有 するすべての層に出現し,特に外顆粒層における陽性細 胞は,再灌流1日のものより多く出現している傾向に あった(図2G).

電顕所見では, 再灌流1日および3日の標本において も濃縮され電子密度が高くなったクロマチンを持ち, ミ トコンドリアなどの細胞内小器官の形態が保たれている 細胞が多数みられた(図3F, I, J).これは, 再灌流1, 2, 4 時間の標本で観察されたものと同質であった.また, この ような形態をとる細胞の中にはミュラー細胞に取り込ま れているものや(図3H~J), 均一な高密度のアポトーシ ス小体を周辺に伴うもの(図3F, G, I, J)が内顆粒層や外 顆粒層で観察された.これらと TUNEL 法で陽性となっ た細胞との出現頻度は必ずしも一致せず, 壊死細胞も多 数混在していた.このような特徴的な組織変化の傾向は, 再灌流1日の方が3日に比べて強かった.

IV 考 按

本実験で用いた高眼圧による網膜虚血再灌流モデル は、臨床における特定の網膜病変と結び付けられないが、 網膜虚血再灌流に伴う網膜変化を検索する手段として広 く利用されている実験モデルである.すでに,この実験モ デルにおける網膜病変の詳細について報告があり、また、 アポトーシスについては Buchi⁵¹⁶⁾が電顕的に検索を行 い,再灌流開始後3時間においてアポトーシス細胞が出 現していたと報告している.今回,我々は電顕に加えて TUNEL法を用い検索したところ,陽性所見は再灌流1 時間後で出現し、出現頻度は再灌流時間が2時間以下の ものは電顕所見とは必ずしも一致していなかった.この 差異については、まず、TUNEL 法で得られた結果が偽陽 性であった可能性が挙げられる.この問題を解決する目 的で,陰性対照として TUNEL 法に使用する酵素, TdT を加えずに同一切片を染色したところ、この対照標本は 染色されなかった.また,TdTを用いた TUNEL 法標本

には,核だけでなく細胞質まで染色されている細胞と,核 のみが染色されている細胞の両方が観察されたことか ら,再灌流1,2時間では偽陽性を含みながらも,陽性細胞 は検出されていると判断した.また, TUNEL 法は断片化 した DNAの断端を標識し,それを検出するもので、 DNA の切断量を反映し、細胞死観察に定量性をもたら したとされている⁴⁾.つまり, TUNEL法は壊死のように DNA がアトランダムに切断され消失してしまう細胞は とらえず,ヌクレオソーム単位で DNA が切断され,標識 部位が残るアポトーシス細胞に特異的であるといえる. また, TUNEL 法では, 理論的には DNA の切断があれば 陽性に染色され,遺伝子レベルでの細胞変化を反映する ため,形態学的に観察するよりも早期にアポトーシス細 胞を検出できるといわれている7.しかし、同時に、壊死の 初期や,標本を作製する過程で人為的に DNA が障害さ れた細胞も陽性となり得る。したがって,再灌流1,2時 間のような初期の段階では, TUNEL 法はアポトーシス を鋭敏にとらえている可能性はあるものの,偽陽性細胞 も含まれ,電顕所見とは必ずしも一致しなかったものと 考えられる.

再灌流2時間以降のアポトーシス細胞の出現を経時的 に観察すると、4時間と1日後では TUNEL 法で陽性細 胞が明瞭となり、この時期には電顕観察でも多数のアポ トーシス細胞が観察された.3日後になると、TUNEL法 における陽性細胞は減少していた.また,電顕上,細胞質 基質や細胞内小器官が膨化し、断片化したクロマチンが 核から逸脱している壊死細胞が時間の経過とともに増加 して混在するようになり,再灌流3日ではアポトーシス 細胞よりも出現率が高かった. 壊死細胞の増加は, 再灌流 3日での TUNEL 法の陽性細胞の減少を説明するものと 考えた.このことから,アポトーシス細胞は再灌流後4時 間から1日をピークとする、ある一定の時間帯に誘導さ れることが明らかとなった.さらに、虚血解除直後や再灌 流時間が2時間までの組織所見は網膜内層で,外層に比 して明瞭であり, TUNEL 法においても陽性細胞の誘導 は網膜内層に限局していた.また,再灌流時間が長くなる に従って網膜の障害、およびアポトーシス細胞は内層か ら外層へも及ぶことが HE 染色, 電顕, TUNEL 法のすべ てにおいて観察された.この理由の1つとして網膜内外 層の支配血管が異なる解剖学的および生理学的事実が挙 げられる.心筋の虚血障害では,再灌流直後には血管内皮 において再供給された酸素は速やかに活性酸素に変換さ れるが、それは血流による wash-out で数分で停止する といわれている⁹⁾. 網膜では再灌流により, 内層に網膜血 管の血流が直接酸素の供給を始めるため直接的に,この 発生した活性酸素により障害されることになる.一方、網 膜外層の変化は脈絡膜との間に網膜色素上皮が存在する ため,活性酸素の直接的な障害は受けにくいものと推測 される.したがって,再灌流後早期には,活性酸素が関与

するアポトーシスの誘導は網膜内層により高度に生じ る. さらに, 脳では虚血再灌流直後に一次ニューロンから 一過性に大量のグルタミン酸が放出され、それが二次 ニューロンのN-methyl-d-aspartate (NMDA)レセプ ターに結合することでアポトーシスが誘導されることが 知られている10).また,網膜においても虚血により,視細 胞,双極細胞,アマクリン細胞や内外網状層にグルタミン 酸が増加することが明らかにされており^{11)~40}, NMDA レ セプターを介するアポトーシスの誘導が網膜においても 同様に生じていると考えられる.このこともアポトーシ スの誘導が網膜内層で早期から顕著であることと関係す る.一方,血管内皮の反応よりもやや遅れて,障害細胞の 細胞膜においてアラキドン酸カスケードを経て活性酸 素,フリーラジカルが発生すると⁵⁰アポトーシスが誘導 され,この反応系が網膜外層の変化と密接に関係するも のと考えられる.この反応系のみが組織内でのアポトー シス誘導の時間差に関与するかについて断定はできない が,組織標本の中で好中球などの炎症細胞が観察されな かったため、その可能性の一つとして重要と考える.

以上,本実験モデルにおいて虚血,再灌流の細胞死にア ポトーシスが関与することについて論じてきたが,一方 で,虚血に陥った網膜ですべての血管床が再開通すると いう証明はなされていない.この点について,Hughes¹¹は ラットを用いて今回と同様の手法で実験を行い,興味あ る知見を報告している.彼によれば,虚血解除後10分で は脈絡膜や網膜の主要動静脈は速やかに再灌流している が,網膜毛細血管のレベルでは血流が再開通していない 部分もあることを示した.この事実から,組織の酸素需要 量やグリコーゲンの含有量,代謝の違いと合わせて,虚血 そのものの障害でもその直後の組織変化は外層に比して 内層で障害が高度となる可能性を示している.本実験結 果を評価する上で,この可能性についても考慮しておく 必要があると考える.

アポトーシスでは、細胞に何らかの刺激が加わったと き、エンドヌクレアーゼ合成を誘導する遺伝子が活性化 され、クロマチン DNA の断片化が起こる.すなわち、ア ポトーシスは遺伝子に制御されていて、この過程を阻害 することにより細胞死を防ぐことが可能である³¹⁽⁴⁾¹⁶⁾⁻²⁰⁾. 今回の結果が示すように、虚血後、再灌流1時間において すでにアポトーシスが誘導されているならば、虚血障害 が除かれた後も1時間以内という早期にこのような処置 をとる必要があると結論される.

文 献

- 1) Hughes WF: Quantitation of ischemic damage in the rat retina. Exp Eye Res 53:573-582, 1991.
- Anderson DR, Davis EB: Sensitivities of ocular tissues to acute pressure-induced ischemia. Arch Ophthalmol 93: 267–274, 1975.

- 3) Szabo ME, Droy-Lefaix MT, Doly M, Carre C, Braquet P: Ischemia and reperfusion-induced histologic changes in the rat retina. Invest Ophthalmol Vis Sci 32: 1471—1478, 1991.
- Gavrieli Y, Sherman Y, Ben Sasson SA: Identification of programmed cell death *in situ* via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. J Cell Biol 119: 493—501, 1992.
- 5) Buchi ER : Cell death in rat retina after pressureinduced ischaemia-reperfusion insult : An electron microscopic study. I. Ganglion cell layer and inner nuclear layer. Exp Eye Res 55: 605-613, 1992.
- 6) Buchi ER : Cell death in rat retina after pressureinduced ischaemia-reperfusion insult : Electron microscopic study. II. Outer nuclear layer. Jpn J Ophthalmol 36 : 62—68, 1992.
- Migheli A, Attanasio A, Schiffer D: Ultrastructural detection of DNA strand breaks in apoptotic neural cells by *in situ* end-labelling technniques. J Pathol 176: 27–35, 1995.
- Ansari B, Coates PJ, Greenstein BD, Hall PA: In situ end-labelling detects DNA strand breaks in apoptosis and other physiological and pathological states. J Pathol 170: 1-8, 1993.
- 9) Nakazawa H, Arroyo CM, Ichimori K, Saigusa Y, Minezaki K, Pronai L: The demonstration of DMPO spin adduct upon reperfusion using a low non-toxic concentration. J Free Rad Res Commun 14: 297-302, 1991.
- 10) 稲村憲冶,赫 彰郎:虚血性神経細胞壊死―興奮性 アミノ酸とカルシウム―. 脳卒中 11:445-468, 1989.
- Olney JW: Cytotoxic effects of acidic and sulphur containing amino acids on the infant mouse central nervous system. Exp Brain Res 14:61-76, 1971.

- 12) Louzada-Junior P, Dias JJ, Santos WF, Lachat JJ, Bradford HF, Coutinho-Netto J: Glutamate release in experimental ischaemia of the retina: An approach using microdialysis. J Neurochem 59: 358—363, 1992.
- 13) 柏井 聡:第99回日本眼科学会総会宿題報告Ⅲ. 活性酸素・フリーラジカルと網膜疾患虚血網膜における一酸化窒素の役割について.日眼会誌 99: 1361—1376,1995.
- 14) 玉井 信:網膜における興奮性アミノ酸の持つ二面
 性.日眼会誌 98:411-418, 1994.
- 15) Kuzuya T, Hoshida S, Kim Y, Nishida M, Fuji H, Kitabatake A, et al: Detection of oxygen-derived free radical generation in the canine postischemic heart during late phase of reperfusion. Cir Res 1: 1160—1165, 1990.
- 16) Yoon YH, Marmor MF: Dextromethorphan protects retina against ischemic injury *in vivo*. Arch Ophthalmol 107:409—411, 1989.
- 17) Takahashi K, Lam TT, Edward DP, Buchi ER, Tso MO: Protective effects of flunarizine on ischemic injury in the rat retina. Arch Ophthalmol 110: 862—870, 1992.
- 18) Zhang C, Takahashi K, Lam TT, Tso MO: Effects of fibroblast growth factor in retinal ischemia. Invest Ophthalmol Vis Sci 35: 3163—3168, 1994.
- 19) Lam TT, Fu J, Hrynewycz M, Tso MO: The effect of aurintricarboxylic acid, and endonuclease inhibitor, on ischemia/reperfusion damage in rat retina. J Ocul Pharmacol Ther 11: 253—259, 1995.
- 20) Weber M, Mohand Said S, Hicks D, Dreyfus H, Sahel JA: Monosialoganglioside GM 1 reduces ischemia reperfusion-induced injury in the rat retina. Invest Ophthalmol Vis Sci 37: 267–273, 1996.