

ラット実験的緑内障における N-メチル-D-アスパラギン酸 受容体阻害薬の神経保護作用の検討

谷 照斌, 山本 哲也, 川瀬 千鶴, 松原 正幸
川瀬 和秀, 澤田 明, 北澤 克明

岐阜大学医学部眼科学教室

要 約

目 的：ラット実験的緑内障で、N-メチル-D-アスパラギン酸(NMDA)受容体阻害薬の網膜神経節細胞障害に対する神経保護作用を検討する。

方 法：Wistar 系白色ラット 30 匹の右眼に前房への墨汁投与と、その 4 日後に隅角光凝固を行い緑内障を作製した。左眼は無処置とし、対照眼とした。隅角光凝固の直前に NMDA 受容体阻害薬(memantine または dizocilpine), または対照液としてリン酸緩衝液生理食塩水(PBS)を腹腔内に投与した。隅角光凝固 5 日後に 3% fast blue を両側の上丘内に注入し、その 3 日後に網膜伸展標本を作製した。視神経乳頭縁から 1 mm 離れた網膜部位で、標識された網膜神経節細胞数を数えた。

結 果：隅角光凝固 5 日後の緑内障眼圧は、対照群で 19.7 mmHg であり、memantine 投与群および dizocilpine 投与群との間に有意差はなかった。網膜神経節細胞標識率は、memantine 投与群と dizocilpine 投与群で対照群よりも高かった。

結 論：選択的 NMDA 受容体阻害薬は、ラット実験的緑内障での網膜神経節細胞障害に対して神経保護作用がある。(日眼会誌 104:11—16, 2000)

キーワード：神経保護作用, ラット実験的緑内障, NMDA 受容体阻害薬, Memantine, Dizocilpine

Neuroprotective Effect of N-methyl-D-aspartate Receptor Antagonists in an Experimental Glaucoma Model in the Rat

Zhaobin Gu, Tetsuya Yamamoto, Chizuru Kawase, Masayuki Matsubara,
Kazuhide Kawase, Akira Sawada and Yoshiaki Kitazawa
Department of Ophthalmology, Gifu University School of Medicine

Abstract

Purpose : To evaluate the neuroprotective effect of memantine and dizocilpine, which are noncompetitive open-channel blockers of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor, on glaucomatous optic neuropathy in an experimental glaucoma model in the rat.

Methods : Experimental glaucoma was induced in the right eyes of 30 Wistar albino rats by intracameral injection of India ink followed by laser trabecular photocoagulation 4 days later. The left eye served as a control. Either memantine, dizocilpine, or phosphate-buffered saline (PBS) was injected intraperitoneally just before trabecular photocoagulation. Five days later, 3% fast blue was injected into both superior colliculi. The eyes were enucleated another 3 days later and flat mounts of the retinas were pre-

pared. Labeled ganglion cells were counted in the area 1 mm away from the optic disc.

Results : Five days after laser application, no significant intraocular pressure (IOP) change in the right eye was found among the 3 groups. In eyes treated with memantine or dizocilpine, significantly more ganglion cells were labeled.

Conclusion : Systemically applied memantine and dizocilpine had a neuroprotective effect against experimental glaucomatous optic neuropathy in the rat. (J Jpn Ophthalmol Soc 104:11—16, 2000)

Key words : Neuroprotection, Experimental glaucoma in the rat, Open-channel blocker of NMDA receptor, Memantine, Dizocilpine

別刷請求先：500-8705 岐阜市司町 40 岐阜大学医学部眼科学教室 谷 照斌
(平成 10 年 12 月 14 日受付, 平成 11 年 7 月 29 日改訂受理)

Reprint requests to: Zhaobin Gu, M.D. Department of Ophthalmology, Gifu University School of Medicine,
40 Tsukasa-machi, Gifu 500-8705, Japan

(Received December 14, 1998 and accepted in revised form July 29, 1999)

I 緒 言

近年,中枢神経系の循環障害あるいは変性疾患に対する細胞死や細胞変性にかかわる種々の過程が明らかにされ,得られた新しい知見に基づく治療法が臨床応用されつつある¹⁾²⁾.眼科領域においても循環障害や視神経の機械的障害により生ずる網膜神経系の細胞死の過程を修飾し,視機能の維持や回復を計る試みが始まっている^{3)~5)}.緑内障の治療として,現在,主に眼圧下降療法が行われているが,末期症例,正常眼圧緑内障などを中心として十分な眼圧下降にもかかわらず,緑内障性視神経症の進行を停止させることのできない症例が存在する.緑内障に対する眼圧下降を介さない治療として,緑内障において生ずる細胞死の過程を修飾する薬物の使用の可能性が考えられている⁶⁾.

最近の研究では,緑内障の網膜神経節細胞の障害過程の一つとして,グルタミン酸などの神経伝達物質の関与の検討が行われている.今までに視神経挫滅後ラット眼⁷⁾,サル実験的緑内障眼あるいはヒト緑内障眼⁸⁾,イス実験的緑内障眼⁹⁾の硝子体中における高濃度のグルタミン酸が報告されており,緑内障発症あるいは進行との間の何らかの関連が推定されている.虚血などの障害が加わるとグルタミン酸などの興奮性アミノ酸濃度が上昇し,N-methyl-D-aspartate(以下,NMDA)やnon-NMDAと呼ばれるカイニン酸および α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acidなどの受容体を介して細胞内カルシウム濃度の上昇を惹き起こす.その持続が神経細胞死に導くいくつかのカスケードを賦活化させると考えられている.

NMDA受容体の阻害薬の一つである dizocilpine は,虚血モデルあるいは興奮性アミノ酸による神経細胞障害に対して神経保護的に作用することが報告^{10)~13)}されている.しかし,dizocilpineはイオンチャンネルの阻害によりNMDA受容体を完全に遮断し,また,チャンネル内の滞留時間が約1.5時間と長いため,向精神作用が著しい.同様にNMDA受容体阻害薬である memantine はチャンネル遮断における半減期は中等度であり,抗パーキンソン病薬として使用されている.また,両NMDA受容体遮断薬とも細胞障害誘発後に投与しても神経細胞死を緩和できるとされている^{11)14)~18)}.

今回,我々は緑内障における神経保護作用を検討するためにラット実験的緑内障眼を作製し,memantineおよびdizocilpineの網膜神経節細胞障害に対する神経保護作用について予備的検討を行ったので報告する.

II 実験材料および方法

1. 実験材料

実験には,Wistar系白色ラット30匹(雄,体重290~310g)を用いた.対照群,memantine投与群およびdizo-



図1 ラット実験的緑内障眼.

右眼:緑内障眼,眼圧は23.5 mmHg,左眼:対照眼,眼圧は12.0 mmHg(隅角光凝固5日後の実測値).

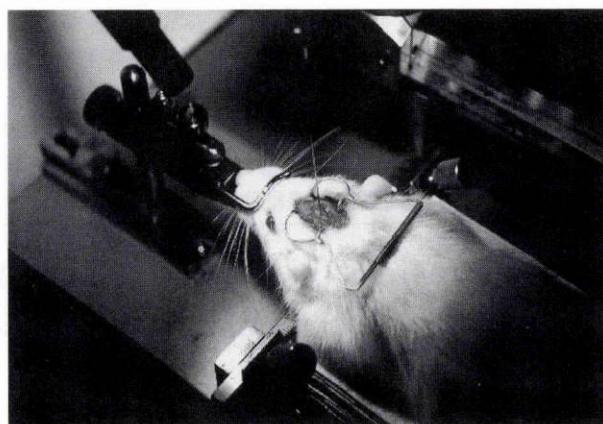


図2 蛍光色素の上丘内への注入.

隅角光凝固5日後,3% fast blue 1.5 μ lを頭骨面から深さ4 mmの上丘内に2か所でそれぞれ注入した.

cilpine投与群に各10匹を使用した.右眼を緑内障眼,左眼を対照眼とした.実験は可能な限り無痛的に行い,実験動物の扱いは「動物の保護及び管理に関する法律」および「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」に準じた.

2. 緑内障眼作製と薬剤投与

すべての手術的過程において,ラット全身麻酔には塩酸ケタミン(ケタラール[®])75 mg/kgBWとキシラジン塩酸塩(セラクター[®])7.5 mg/kgBWの腹腔内注射を,点眼麻酔には塩酸オキシプロカイン(ベノキシール[®])を用いた.緑内障眼はUedaら¹⁹⁾の方法に準じて,前房内へ墨汁注入後,隅角光凝固を行うことにより作製した(図1).前処置として,pneumatometer(Model Classic 30: Mentor, Norwell, MA, 米国)を用い両眼圧測定後,右眼前房を30ゲージ針で穿刺し前房水を吸引した.その後,約30 μ lの35%墨汁を注入した.墨汁注入4日後,腹腔内に memantine 投与群では memantine (Merz, Frankfurt, ドイツ)30 mg/kgBWを,dizocilpine投与群ではMK-801 (Research Biochemicals International, Natick, MA, 米国)30 mg/kgBWを,対照群では1.8 mlの対照液

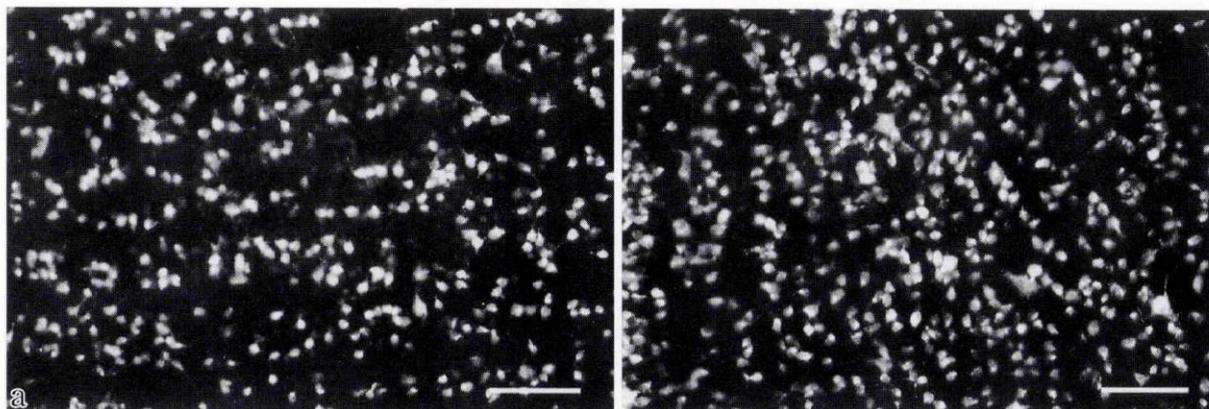


図 3a 網膜神経節細胞の蛍光撮影像(memantine 投与例).
左：緑内障眼, 右：対照眼. 網膜神経節細胞の標識率は 75.4%. バーは 100 μ m

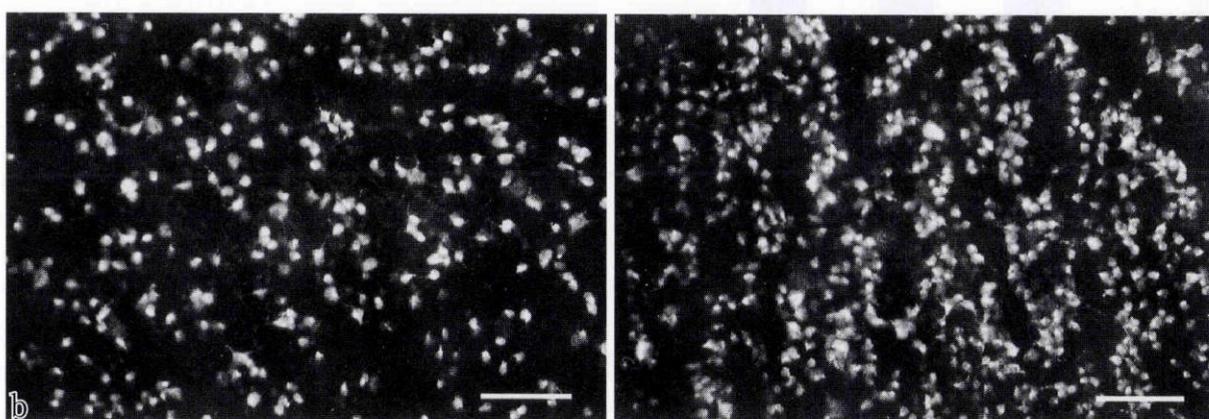


図 3b 網膜神経節細胞の蛍光撮影像(対照例).
左：緑内障眼, 右：対照眼. 網膜神経節細胞の標識率は 61.1%. バーは 100 μ m

(phosphate-buffered saline, PBS)を投与した.その後直ちに,右眼に対し隅角光凝固を施行した.光凝固条件は,凝固出力 150~250 mW,凝固径 150~200 μ m,凝固時間 0.2 秒とした.凝固直後,網膜中心動脈の閉塞の有無の確認のため,全例に対し眼底検査を施行した.

3. 網膜神経節細胞標識

隅角光凝固 5 日後に眼圧を測定し,右眼眼圧上昇を確認した後,3% fast blue 1.5 μ l を頭骨面から深さ 4 mm の両側上丘内²⁰⁾にそれぞれゆっくり注入した(図 2). Fast blue 注入 3 日後,4% ホルマリン溶液(pH 7.4)による全身灌流固定後,直ちに両眼球摘出を行った.摘出眼球は,角膜,水晶体および硝子体を除去した後,4% ホルマリン溶液で 12 時間固定の後,網膜伸展標本を作製した.逆行性に標識された網膜神経節細胞を蛍光顕微鏡(Axioskop H:Carl Zeiss, Jena, ドイツ)と蛍光フィルタ(Blue-Violet: 395~440 nm)を使用し,視神経乳頭縁から 1 mm 離れた部位を視野の中心とし,上,下,耳および鼻側の 4 か所を 50 倍で撮影した(図 3a, b). 蛍光顕微鏡写真をパソコンに取り込んだ後,画像解析ソフト NIH Image 1.61 を用いて標識細胞数をカウントした.網膜神経節細胞標識率を緑内障眼における標識神経節細胞数と対照眼の標

識神経節細胞数の比として算出した.網膜神経節細胞カウントは実験例の識別を不能として,網膜伸展標本作製とは別の研究者が行った.

4. 統計学的処理

眼圧値の統計処理にはクラスカル・ワリス検定を,網膜神経節細胞標識率の統計処理には一元配置分散分析(ANOVA)を用いた.対照群,memantine 投与群,dizocilpine 投与群の 3 群間で有意差があった場合には,Fisher's protected least significant difference (PLSD)の多重比較を行った.なお,危険率 5% 未満の場合を有意差ありと判定した.

III 結 果

Pneumatometer Model Classic 30 (Mentor, Norwell, MA, 米国)による術前ラット対照群正常眼における眼圧[平均値 \pm 標準偏差(レンジ)]は 11.8 \pm 1.8(7.8~14.2)mmHgであった.また,隅角光凝固 5 日後に測定した眼圧は,対照群では 19.7 \pm 2.2(16.5~23.2)mmHg, memantine 投与群では 21.3 \pm 0.8(20.2~22.7)mmHg, dizocilpine 投与群では 19.4 \pm 1.4(17.7~21.1)mmHg であり,3 群間で有意差はなかった($p=0.4636$; クラス

表1 眼圧経過

隅角光凝固5日後の眼圧は各群とも同程度の上昇を示し、3群間で有意差はなかった(Kruskal-Wallis検定)。

	隅角光凝固前	隅角光凝固5日後
PBS (n=10)	11.8±1.8	19.7±2.2
Memantine (n=10)	12.7±0.3	21.3±0.8
Dizocilpine (n=10)	11.2±1.2	19.4±1.4

PBS: phosphate-buffered saline 平均値±標準偏差(mmHg)

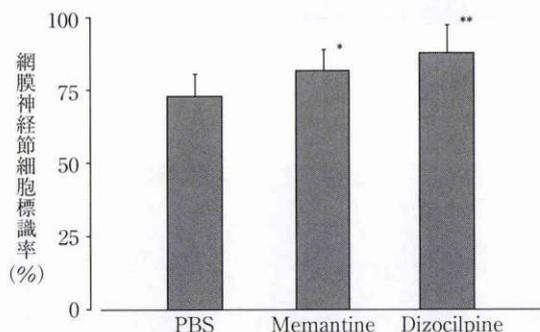


図4 網膜神経節細胞標識率。

対照群における網膜神経節細胞標識率に比し, memantine 投与群および dizocilpine 投与群では統計学的有意な増加があった(*: $p=0.0248$, **: $p=0.0004$; Fisher's protected least significant difference (PLSD)の多重比較, 平均値±標準偏差)。

カル・ワーリス検定)(表1)。

上丘からの fast blue を使用した逆行性染色で標識された網膜神経節細胞数[平均値±標準偏差(レンジ)]は, 対照群では緑内障眼 959.4±210.6(728.3~1,339.5)個/mm², 対照眼 1,320.2±233.5(986.6~1,676.1)個/mm², memantine 投与群では緑内障眼 1,005.4±191.2(755.9~1,268.9)個/mm², 対照眼 1,233.9±273.0(879.0~1,656.3)個/mm², dizocilpine 投与群では緑内障眼 1,034.6±113.9(896.2~1,201.8)個/mm², 対照眼 1,192.6±97.3(1,017.6~1,287.9)個/mm²であった。網膜神経節細胞標識率[平均値±標準偏差(レンジ)]は, 対照群では 73.1±7.7(59.2~81.3)%, memantine 投与群では 81.9±7.4(70.3~90.8)%, dizocilpine 投与群では 88.0±9.8(71.2~100.7)%であり, 3群間で有意差があった($p=0.0017$; ANOVA)。また, 両薬物投与群とも対照群との間に統計学的有意差があった(memantine 投与群: $p=0.0248$, dizocilpine 投与群: $p=0.0004$; Fisher's PLSDの多重比較)(図4)。

IV 考 按

今回,我々はNMDA受容体阻害薬である memantine あるいは dizocilpine の使用により,ラット実験的緑内障眼における網膜神経節細胞障害が抑制されることを示し

た。

最近,小さな applanation チップを装着した Mackey-Marg 型眼圧計の出現に伴い,ラットにおいて点眼麻酔のみでも眼圧測定が可能となり,新たに実験的緑内障モデルとしてラットが頻繁に使用されるようになってきている。我々は Pneumatometer Model Classic 30 を眼圧測定に使用したが,この眼圧計は比較的正確な値を示すと報告²¹⁾²²⁾されている。また,我々は本試験前に manometry との比較による測定値検定を実施したが,信頼の高い結果を示した。今回,ラット正常眼における眼圧は 11.2~12.7 mmHg であった。Wistar 系ラット眼における正常眼圧は Mentor I Pneumatometer (Bio Rad) を使用して 12.5~13.2 mmHg^{23)~25)}と報告されており,これらの結果と比較するとやや低いものの,妥当な値と考えられる。

今回,我々は Ueda ら¹⁹⁾の手法に若干の改良を加えた隅角光凝固による実験的緑内障眼を採用した。この緑内障眼は,他の実験的緑内障眼と比較して眼内の炎症が少ない,目標眼圧により隅角光凝固の程度を調節することができるなどの利点を有している。光凝固5日後の右眼眼圧は 19.4~21.3 mmHg であり,術前値と比較して約 1.7 倍の値を示した。Ueda ら¹⁹⁾は隅角光凝固後1週で約 1.4 倍の眼圧上昇をみている。また,隅角光凝固による実験的緑内障眼の他に,これまでラット実験的緑内障眼としては上強膜静脈を処置する方法が最近報告されている。これらの方法では,Sharma らのグループ²³⁾²⁵⁾は 1.5~1.8 倍の眼圧上昇を,一方 Morrison らのグループ^{26)~28)}は 1.4~2.6 倍の眼圧上昇を観察している。

また Garcia-Valenzuela ら²⁵⁾, Selles-Navarro ら²⁹⁾の手法を基に逆行性染色を行い,隅角光凝固後眼圧上昇の網膜神経節細胞への影響を網膜伸展標本を用いて検討した。逆行性染色を利用し網膜神経節細胞を評価する手法は,ラットにおいて実験的緑内障眼²⁴⁾²⁵⁾をはじめ,網膜虚血,視神経切断,視神経再生など様々なモデル^{29)~32)}において広く利用されている。我々は fast blue を光凝固後5日目に注入した。この時点におけるラット眼圧上昇眼の眼圧は 19.4~21.3 mmHg であった。Johansson³³⁾はラット眼圧上昇による軸索輸送障害について検討し,35 mmHg の眼圧は 15 mmHg の眼圧と比較し,部分的ではあるものの有意に軸索輸送が障害されていたと報告した。しかしながら,我々が光凝固5日目に得た眼圧レベルにおいて軸索障害が生じ,それが蛍光色素の網膜神経節細胞への到達を妨げるものであるかどうかは不明である。したがって,我々は軸索輸送障害の関与は少ないものと予想しているが,今回のプロトコルでは軸索輸送障害による,あるいは眼圧上昇による網膜神経節細胞標識率の低下を明確に区別することは困難と思われる。また,Neufeld³⁴⁾は細胞死に至る細胞の状態について分類しているが,蛍光色素がどのレベルの細胞まで標識できるか

については今のところ不明である。また、光凝固 8 日後の対照群では、緑内障眼において対照眼と比較して 73.1% の網膜神経節細胞標識率があった。我々と同様な手法を用いて検討した Garcia-Valenzuela ら²⁵⁾の報告では、上強膜静脈焼灼による眼圧上昇後 1 週で、対照眼と比較し約 96% の網膜神経節細胞標識率をみている。一方、Selles-Navarro ら²⁹⁾は収縮期動脈圧レベルを超える眼圧上昇による 60 分間の虚血後 1 週で、対照眼と比較し 63% の網膜神経節細胞標識率をみている。今回、隅角光凝固直後の眼底検査でその全例において網膜中心動脈完全閉塞はなかったものの、我々の結果からは虚血による影響がなかったとは断定できない。したがって、この緑内障眼は亜急性あるいは急性実験的緑内障眼としてとらえられるべきであると考えられる。

今回、NMDA 受容体の非競合的阻害薬である memantine および dizocilpine を使用し、その投与方法は隅角光凝固前に 1 回腹腔内投与とした。その結果、memantine 投与群は 8.8%、dizocilpine 投与群は 14.9% と有意な網膜神経節細胞標識率の増加があった。このことから、NMDA 受容体阻害薬は実験的緑内障眼による網膜神経節細胞障害に対して神経保護作用を有しており、また同時に隅角光凝固により誘導された眼圧上昇による網膜神経節細胞障害のうち、少なくとも、一部は NMDA 受容体を介した障害であることが推定された。さらに、NMDA 受容体阻害薬の神経保護作用の強い dizocilpine により高い標識率の増加をみたことは、NMDA 受容体阻害薬の神経保護作用の程度を反映していると推定される。また、memantine および dizocilpine が対照群と比較し、眼圧に影響を及ぼすことなく網膜神経節細胞障害を改善させたことから、今回の結果は眼圧下降を介さない緑内障治療の可能性を示すものと考えられる。しかし、今回の実験では NMDA 受容体阻害薬は眼圧上昇誘発前に 1 回投与されたのみであり、また短期間の眼圧上昇実験であった。Chaudhary ら³⁵⁾は網膜神経節細胞障害誘発以後に dizocilpine を投与し、網膜神経節細胞障害が緩和したと報告している。また、その投与に際し NMDA 受容体阻害薬は中枢神経系への副作用も考慮する必要がある。したがって、慢性緑内障の実験系として今回の実験系は必ずしも適切ではなく、また薬物投与についても、今後とも薬物の投与量や投与方法、さらには新しい薬物の検討が必要と考える。

文 献

- 1) Buchan AM : Do NMDA antagonists protect against cerebral ischemia : Are clinical trials warranted? *Cerebrovas Brain Metab Rev* 2 : 1—26, 1990.
- 2) Sheardown MJ, Nielsen EO, Hansen AJ, Jacobsen P, Honore T : 2, 3-dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo(F)quinoxaline : A neuroprotectant for cerebral ischemia. *Science* 247 : 571—574, 1990.
- 3) 山本哲也 : 緑内障性視神経障害に対する薬物療法の可能性. *あたらしい眼科* 12 : 1367—1371, 1995.
- 4) Sucher NJ, Aizenman E, Lipton SA : N-methyl-D-aspartate antagonists prevent kainate neurotoxicity in rat retinal ganglion cells *in vitro*. *J Neurosci* 11 : 966—971, 1991.
- 5) Siliprandi R, Canella R, Carmignoto G, Schiavo N, Zanellato A, Zanoni R, et al : N-methyl-D-aspartate-induced neurotoxicity in the adult rat retina. *Vis Neurosci* 8 : 567—573, 1992.
- 6) Schumer RA, Podos SM : The nerve of glaucoma. *Arch Ophthalmol* 112 : 37—44, 1994.
- 7) Yoles E, Schwartz M : Elevation of intraocular glutamate levels in rats with partial lesion of the optic nerve. *Arch Ophthalmol* 116 : 906—910, 1998.
- 8) 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* 114 : 299—305, 1996.
- 9) Brooks DE, Garcia GA, Dreyer EB, Zurakowski D, Franco-Bourland RE : Vitreous body glutamate concentration in dogs with glaucoma. *Am J Vet Res* 58 : 864—867, 1997.
- 10) Balazs R, Hack N, Jorgensen OS : Interactive effects involving different classes of excitatory amino acid receptors and the survival of cerebellar granule cells in culture. *Int J Devl Neurosci* 8 : 347—359, 1990.
- 11) Levy DI, Lipton SA : Comparison of delayed administration of competitive and uncompetitive antagonists in preventing NMDA receptor-mediated neuronal death. *Neurology* 40 : 852—855, 1990.
- 12) Michaels RL, Rothman SM : Glutamate neurotoxicity *in vitro* : Antagonist pharmacology and intracellular calcium concentrations. *J Neurosci* 10 : 283—292, 1990.
- 13) Martinez-Arizala A, Rigamonti DD, Long JB, Kraimer JM, Holaday JW : Effects of NMDA receptor antagonists following spinal ischemia in the rabbit. *Exp Neurol* 108 : 232—240, 1990.
- 14) Klockgether T, Turski L : Excitatory amino acids and the basal ganglia : Implications for the therapy of Parkinson's disease. *Trends Neurosci* 12 : 285—286, 1989.
- 15) Carlsson M, Carlsson A : Interactions between glutamatergic and monoaminergic systems within the basal ganglia - implications for schizophrenia and Parkinson's disease. *Trends Neurosci* 13 : 272—276, 1990.
- 16) Schmidt WJ, Bubser M, Hauber W : Excitatory amino acids and Parkinson's disease. *Trends Neurosci* 13 : 46, 1990.
- 17) Greenamyre JT : Glutamate - dopamine interactions in the basal ganglia : Relationship to Parkin-

- son's disease. *J Neural Transm [Gen Sect]* 91 : 255—269, 1993.
- 18) **Gill R, Foster AC, Woodruff GN**: MK-801 is neuroprotective in gerbils when administered during the post-ischaemic period. *Neuroscience* 25 : 847—855, 1988.
 - 19) **Ueda J, Sawaguchi S, Hanyu T, Yaoeda K, Fukuchi T, Abe H, et al**: Experimental glaucoma model in the rat induced by laser trabecular photocoagulation after an intracameral injection of indinavir. *Jpn J Ophthalmol* 42 : 337—344, 1998.
 - 20) **Paxinos G, Watson C**: *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 2nd ed. Academic Press, San Diego, 1986.
 - 21) **Moore CG, Milne ST, Morrison JC**: Noninvasive measurement of rat intraocular pressure with the tonopen. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34 : 363—369, 1993.
 - 22) **Wheeler NC, Lee DA, Cheng Q, Ross WF, Hadjiaghai L**: Reproducibility of intraocular pressure and outflow facility measured by pneumatic tonography and Schiøtz tonography. *J Ocul Pharmacol Ther* 14 : 5—13, 1998.
 - 23) **Shareef SR, Garcia-Valenzuela E, Salierno A, Walsh J, Sharma SC**: Chronic ocular hypertension following episcleral venous occlusion in rats. *Exp Eye Res* 61 : 379—382, 1995.
 - 24) **Laquis S, Chaudhary P, Sharma SC**: The patterns of retinal ganglion cell death in hypertensive eyes. *Brain Res* 784 : 100—104, 1998.
 - 25) **Garcia-Valenzuela E, Shareef S, Walsh J, Sharma SC**: Programmed cell death of retinal ganglion cells during experimental glaucoma. *Exp Eye Res* 61 : 33—44, 1995.
 - 26) **Morrison JC, Nylander KB, Lauer AK, Cepurna WO, Johnson E**: Glaucoma drops control intraocular pressure and protect optic nerves in a rat model of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39 : 526—531, 1998.
 - 27) **Johnson EC, Morrison JC, Farrell S, Deppmeier L, Moore CG, Meginty MR**: The effect of chronically elevated intraocular pressure on the rat optic nerve head extracellular matrix. *Exp Eye Res* 62 : 663—674, 1996.
 - 28) **Morrison JC, Moore CG, Deppmeier LMH, Gold BG, Meshul CK, Johnson EC**: A rat model of chronic pressure-induced optic nerve damage. *Exp Eye Res* 64 : 85—96, 1997.
 - 29) **Selles-Navarro I, Villegas-Perez MP, Salvador-Silva M, Ruiz-Gomez JM, Vidal-Sanz M**: Retinal ganglion cell death after different transient periods of pressure-induced ischemia and survival intervals. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 37 : 2002—2014, 1996.
 - 30) **Berkelaar M, Clarke DB, Wang YC, Bray GM, Aguayo AJ**: Axotomy results in delayed death and apoptosis of retinal ganglion cells in adult rats. *J Neurosci* 14 : 4368—4374, 1994.
 - 31) **Villegas-Perez MP, Lawrence JM, Vidal-Sanz M, Lavail MM, Lund RD**: Ganglion cell loss in RCS rat retina: A result of compression of axons by contracting intraretinal vessels linked to the pigment epithelium. *J Comp Neurol* 392 : 58—77, 1998.
 - 32) **Yoles E, Schwartz M**: Degeneration of spared axons following partial white matter lesion: Implications for optic nerve neuropathies. *Exp Neurol* 153 : 1—7, 1998.
 - 33) **Johansson J**: Inhibition and recovery of retrograde axoplasmic transport in rat optic nerve during and after elevated IOP *in vivo*. *Exp Eye Res* 46 : 223—227, 1988.
 - 34) **Neufeld AH**: New conceptual approaches for pharmacological neuroprotection in glaucomatous neuronal degeneration. *J Glaucoma* 7 : 434—438, 1998.
 - 35) **Chaudhary P, Ahmed F, Sharma SC**: MK 801: a neuroprotectant in rat hypertensive eyes. *Brain Res* 792 : 154—158, 1998.