

低酸素状態における脳内モノアミンの変動

前之園晃幸

ラットを用いて60分間の低酸素負荷中および負荷後における脳含有 monoamine (noradrenalin: NA, dopamine: DA, serotonin: 5-HT) の変動を測定し、低酸素がこれらの monoamine に及ぼす影響を検討した。

低酸素負荷は、6% O₂ および 94% N₂O の混合ガスを流入した密封 chamber にラットを留置することによって行った。monoamine の測定は、ラットを断頭した後、脳の各部位をすみやかに摘出し、high performance liquid chromatography (HPLC 法) で、皮質、線条体、視床下部、海馬、脳幹の5か所について、負荷中および負荷120時間後まで経時的に行った。

その結果、NA は皮質、視床下部、脳幹で低酸素負荷により増加し、30分でピーク値を示した。その後減少し、これらの部位ではよく似た変化様式を示した。いずれの部位も低酸素負荷終了120時間後には control 値に復した。

DA は海馬を除くすべての部位で低酸素負荷により増加し、30分で最高値に達した。その後徐々に低下し、負荷後120時間後には control 値に復した。ただし、海馬は、120時間後には最も低値を示した。

5-HT はいずれの部位においても低酸素負荷により徐々に上昇し、負荷後も高値を示した。120時間後においても皮質、線条体、視床下部、および海馬では control 値より高値を示した。

以上、脳における低酸素負荷は、monoamine の活性化を促進するが、この場合、NA や DA が一過性であるのに対し、5-HT は持続的であるのが特徴であった。このことは、5-HT の神経細胞もしくは線維における低酸素による障害の機序が、NA や DA と異なることが示唆された。

(平成元年2月23日採用)

Effect of Hypoxia on Monoamine Content in the Rat Brain

Akiyuki Maenosono

Changes in cerebral monoamines, (noradrenalin, NA; dopamine, DA and serotonin, 5-HT) during and after 60 minutes of hypoxia were studied in the rat.

The hypoxic state was produced by exposing the animals to a mixture of 6% O₂ and 94% N₂O in a tight chamber. The animals were decapitated in a stepwise manner. After decapitation, the brain was quickly removed and separated into five regions (the cortex, striatum, hypothalamus, hippocampus and brainstem). The monoamines were measured by high performance liquid chromatography

(HPLC). The following findings were obtained in this study.

The NA content in the cortex, hypothalamus, and brainstem increased during the hypoxia, reaching the peak value at 30 minutes of hypoxia. Changes in these regions followed a similar pattern after hypoxia. The content at 120 hours after hypoxia returned to the control value in every region.

The DA content in all the regions except the hippocampus increased during the hypoxic state with the peak value at 30 minutes. Thereafter, it returned to the control value at 120 hours after hypoxia. In the hippocampus, low values continued after hypoxia, and the content showed the lowest value at 120 hours after hypoxia.

The 5-HT content in every region increased gradually during the hypoxic state and the values remained high even after hypoxia. Even at 120 hours after hypoxia, the content was higher than the control value in the cortex, striatum, hypothalamus and hippocampus.

These results show that hypoxia increases cerebral monoamines in most regions. The most remarkable finding was that the effect of hypoxia on 5-HT was delayed and then remained for long. This effect was quite different from that of hypoxia on the other two monoamines, whose reactions were transient. These data suggest that 5-HT neurons and/or fibers are impaired by different mechanisms than NA and DA neurons and/or fibers. (Accepted on February 23, 1989) *Kawasaki Igakkaishi* 15(2): 311-319, 1989

Key Words ① Cerebral monoamine ② Hypoxia ③ High performance liquid chromatography (HPLC)

はじめに

救急外来には種々の疾患を有する患者が来院するが、これらの中には、呼吸不全や循環不全、特に呼吸停止や循環停止から脳低酸素状態になり、低酸素脳症として予後不良となる症例も少なくない。このことから、低酸素脳症に対する病態の解明と治療は、脳蘇生として救急領域において重要な課題となっている。

このような低酸素状態に陥ったとき、脳内の生化学的変化の程度が脳機能にどのように影響するか興味あるところである。これらを明らかにすることは、低酸素脳症の病態解明の一助となると考え、脳機能に大きく関与している脳実質含有 monoamine (noradrenalin: NA, dopamine: DA, serotonin: 5-HT) が低酸素状態において、どのように変化するか、またこ

の変化が脳の機能にどのような影響を及ぼすかを検討した。

方 法

1. 低酸素負荷モデルの作成

実験は、第6週齢(体重200g前後)のラット119匹を用いて行った。

低酸素状態の作成は、ポリアクリル製の密封 chamber (容積9L)を用いた。すなわち麻醉器にて6% O₂+94% N₂Oの混合ガスを作成し、chamber内に流し込み、酸素濃度の確認を酸素濃度計 O₂ センサーを chamber内に設置することにより行った。低酸素負荷は chamber内にラットを60分間留置することにより行った。また、低酸素負荷中における変化を知るために5匹を用いて、心電図(ECG)、脳波(EEG)、血圧(BP)の経時的なモニター

と動脈血ガスの測定を行った。なお、血圧と動脈血ガスの測定のために、大腿動脈にカニューレーションを行った。

2. 脳内 monoamine の測定

脳内 monoamine の測定は、低酸素負荷前 (control), 負荷中, 負荷終了後の回復期について行った。負荷中は、負荷開始後 15 分, 30 分, 45 分, 60 分に、負荷終了後は 2 時間, 6 時間, 12 時間, 24 時間, 72 時間, 120 時間後に測定を行った。各測定時間における例数は、5 例とした。ラットは各々の時間終了後にすみやかに断頭し脳を摘出した。

摘出脳は、Figure 1 に示すように、J. Pelligrino らの atlas¹⁾ に基づいて脳各部位に分

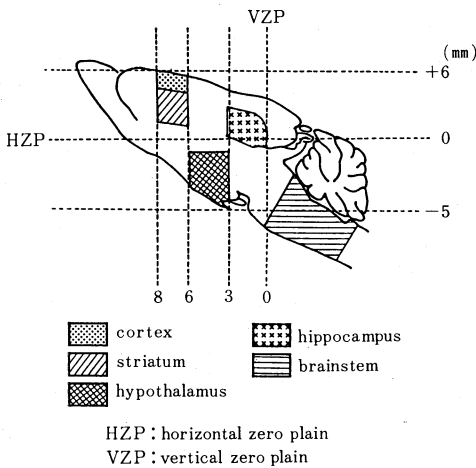


Fig. 1. Schematic drawing shows the method of dissection of rat brain. (presented by L. J. Pelligrino)

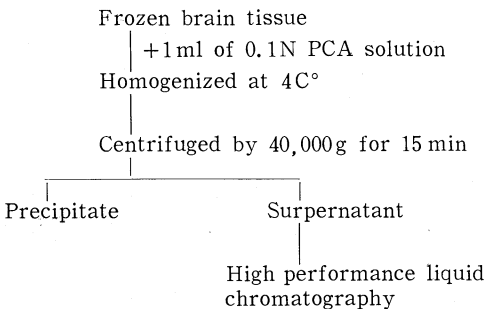


Fig. 2. Flow sheet of cerebral monoamine analysis

けた。すなわち horizontal zero plain より前 6 mm から 8 mm までの 2 mm 幅で coronal に切断し、皮質および線条体を摘出した。視床下部はそれより尾側 3 mm 幅で腹側部より得た。海馬はさらに後方尾側背部より摘出した。脳幹は小脳を除去した中脳後部から延髄までとした。これらはいずれも迅速に凍結保存した。凍結までに要した時間は 5 分以内で、それ以上経過した試料は検討から除外した。

測定は、BAS 社製の catechoramine analysis system で high performance liquid chromatography (HPLC 法) を用いて行った。カラムには、ODS 方式で 150 mm × 4.6 mm のものを使用し、分離液にはクエン酸緩衝液 (pH 2.7) を用いた。測定の実際は Figure 2 に示すように、摘出した脳組織を蛋白除去のため、0.1N 過塩素酸でホモジナイズし遠心分離した。そして、その上清を測定試料として用いた。

結 果

1. 生存率について

低酸素負荷中に断頭した 18 匹および ECG, EEG, BP と動脈血ガス分析の測定に用いた 5 匹を除いた 96 匹の 60 分間の低酸素負荷における生存率を Figure 3 に示す。負荷直後から 15 分までに 22 匹 (23%) が、30 分までに 15 匹

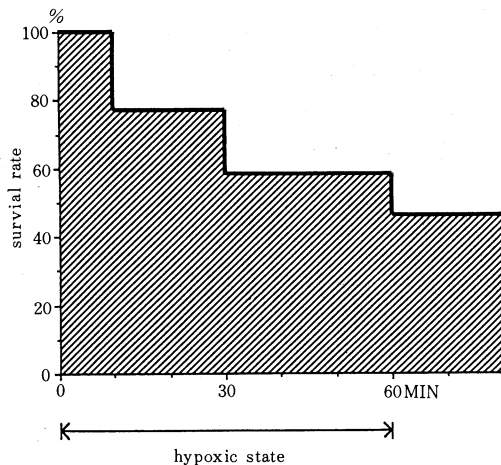


Fig. 3. Survival rate in the rats during exposure to the hypoxic state (n=96)

(16%)が、60分までにさらに14匹(13%)が死亡した。結局、負荷終了まで生存したのは45匹(47%)であった。負荷終了後は、死亡例を認めなかった。

2. 動脈血ガス分析

Figure 4は低酸素負荷中に行った動脈血ガス分析の結果(n=5)を示したものである。

pHは負荷直後上昇し、その後は徐々に低下したが、低酸素負荷中止によりすみやかに正常に回復した。PaO₂は低酸素負荷により急速に低下し負荷解除によりすみやかに正常に回復した。PaCO₂は当初低下傾向を示したが、その後徐々に上昇傾向を示した。BEは30分までは正常であったが、45分には-10 mEq/Lまで低下し、代謝性因子の悪化を示した。

3. 心電図(ECG)、脳波(EEG)、血圧(BP)の変化

Figure 5は、実験中におけるECG, EEG, BPの変化を示している。

ECGは負荷30分後に頻脈を示し、60分後には著しい徐脈を示した。EEGでは、負荷30分後に徐波化に加えスパイク波の出現、60分後には平低化が認められた。血圧は徐脈に伴い高

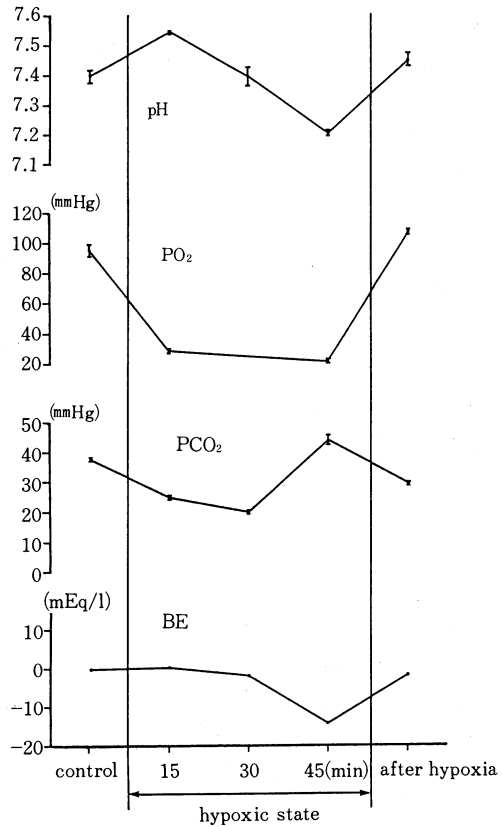


Fig. 4. Changes in acid-base balance during the hypoxic state (n=5). Values are mean ± SEM.

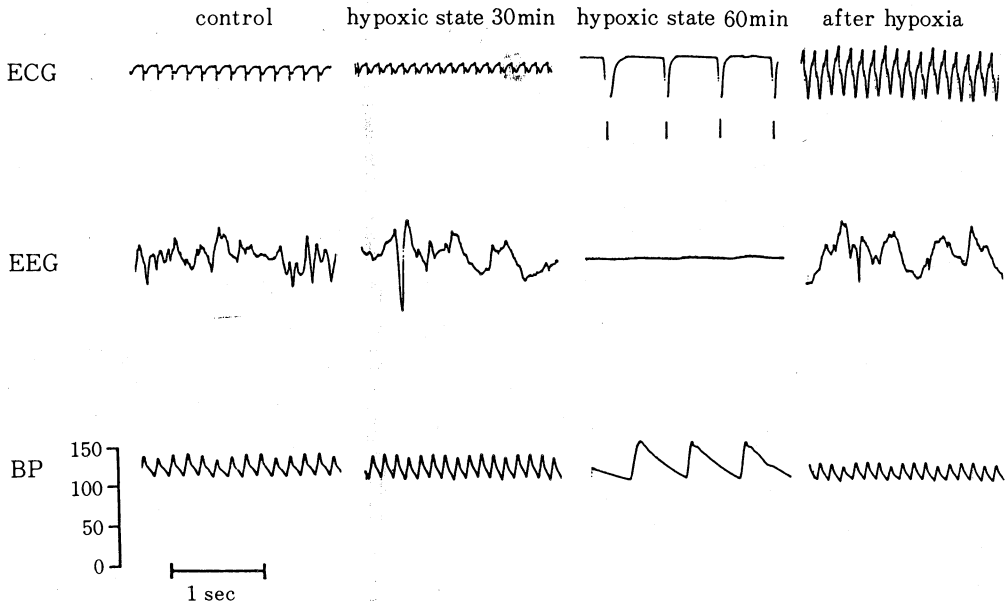


Fig. 5. ECG, EEG and BP changes in various stages of the hypoxic state

値を示した。

4. 脳内 monoamine の部位別変動

脳内 monoamine (NA, DA, 5-HT) について部位別に検討した。

① noradrenalin : NA (Fig. 6)

NA は線条体を除いていずれも低酸素負荷により上昇を示した。その後、時間の経過とともに control 値に低下する傾向を示したが、海馬のみは低酸素負荷中上昇傾向にあった。負荷後の経過としては、視床下部、海馬では control 値よりも高い値を示した。その他の部位ではほぼ control 値に帰したものの多少の増減があり、その変化様式は、皮質、視床下部および脳

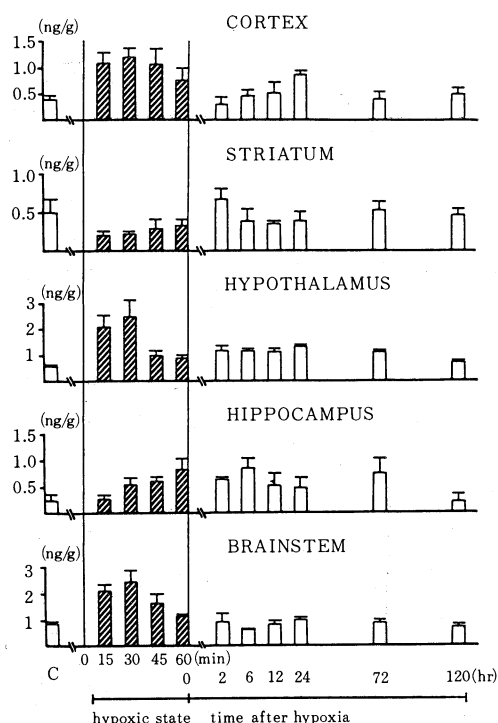


Fig. 6. Changes in cerebral noradrenalin (NA) content during the hypoxic state and after hypoxia (n=5). Values are mean ± SEM. C; Control value

The NA content of the cortex, hypothalamus and brainstem reached peak values at 30 minutes of hypoxia. At 120 hours after hypoxia, the NA content returned to the control value in every region.

幹で類似するところがあった。120時間後には、どの部位も負荷前 (control 値) にまで回復した。

② dopamine : DA (Fig. 7)

DA は、海馬を除いて低酸素負荷によって増加を示した。これらは30分をピークに徐々に低下し、負荷終了後にはほぼ control 値に戻った。負荷後は海馬を除いていずれの部位もほぼ control 値を持続した。

③ serotonin : 5-HT (Fig. 8)

5-HT はいずれの部位においても低酸素負荷により上昇を示し、NA や DA にみられた低下傾向を示すことなく負荷中増加し続けた。

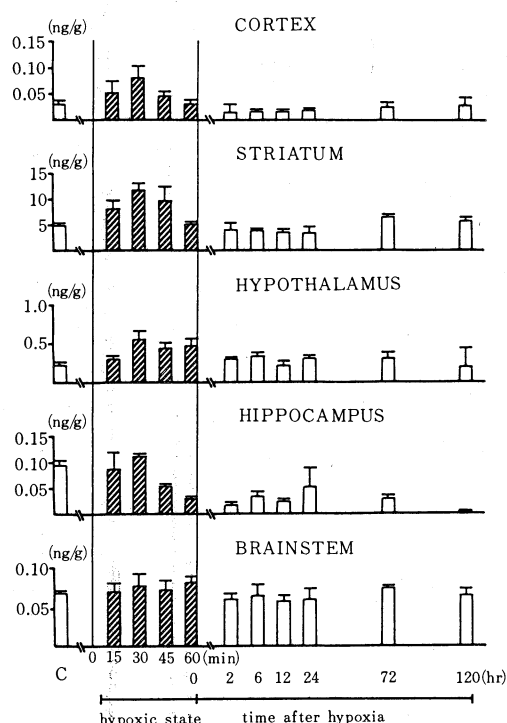


Fig. 7. Changes in cerebral dopamine (DA) content during the hypoxic state and after hypoxia (n=5). Values are mean ± SEM. C; Control value

The DA content reached the peak value at 30 minutes in every region. At 120 hours after hypoxia, the DA content returned to the control value in all regions except the hippocampus.

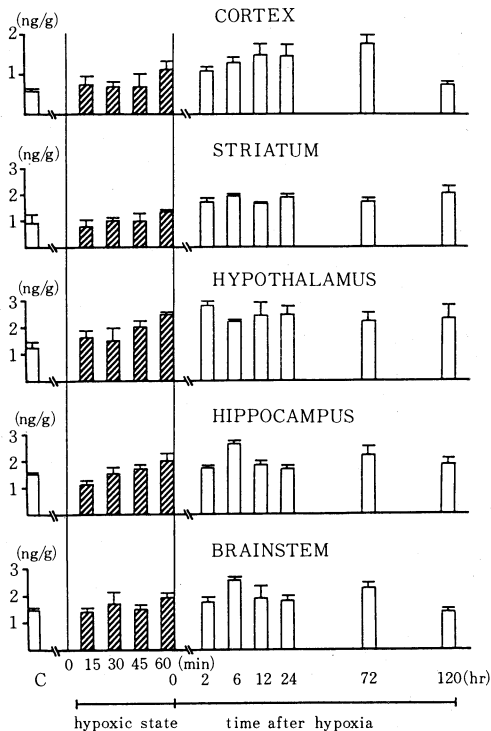


Fig. 8. Changes in cerebral serotonin (5-HT) content during the hypoxic state and after hypoxia ($n=5$). Values are mean \pm SEM. C; Control value

The 5-HT content in every region increased gradually during the hypoxic state, and values remained high even after hypoxia. Even at 120 hours after hypoxia, the 5-HT content was still higher than the control value in the cortex, striatum, hypothalamus and hippocampus.

60分の低酸素負荷終了後もNAやDAにみられた変化とは異なり、いずれの部位においても負荷終了後も高値を示した。線条体、視床下部では負荷終了後120時間を経ても依然高値を示した。

考 察

脳は、その機能を発揮するためにエネルギーと酸素を必要とするが、自己補給能が少ないために各種疾患に伴う循環不全や呼吸不全からエネルギーの補給不足と低酸素状態をきたすと、すみやかに様々な変化を生じる。この場合、脳

は低酸素によって均等に障害されるのではなく、海馬、大脳皮質、小脳といったある特定の部位の神経細胞が障害される。すなわち、脳には selective vulnerability が存在する。²⁾ また、低酸素負荷とは病態は少し異なるが、脳虚血では、いったん虚血が解除された後に、間歇期をもって進行する遅発性神経細胞壊死 (delayed neuronal death) の存在することが報告されており、³⁾ これも脳特有の所見であると思われる。

脳の低酸素負荷については組織学的、生理学的また生化学的にその変化を検討したいくつかの報告がある。組織学的には、Levin⁴⁾ は今回の実験と同様な方法でラットにおける低酸素障害の光顕レベルでの観察を試みたが、負荷後の生存群においては、特徴的な変化を得られなかったと報告している。また、生理学、生化学的には、このような低酸素負荷においてすみやかに脳血流の上昇がみられること、ATP低下とAMPの上昇が起こること、過酸化脂質の増加などの種々の変化が生まれることなども報告されている。⁵⁾⁻⁷⁾ また、近年進歩した免疫組織化学や電顕を用いた形態学による検討も報告されている。⁸⁾

最近、脳内 monoamine 代謝が低酸素状態により影響を受け、低酸素脳症の病態形成のうえで重要な役割を果たしていると考えられている。^{9),10)} このことから、低酸素負荷による神経伝達物質の変化を観察し、低酸素負荷による脳障害の部位的脆弱性および長期にわたる損傷経過について検討することは、低酸素脳症の病態を究明する上で極めて重要なことであると思われる。

今回の検討のための実験モデルは、低酸素負荷を酸素濃度6%で1時間としたが、このことによって、生存率は時間とともに段階的に減少し、1時間後にはおよそ50%の生存となり、負荷中の血液酸素濃度も25 mmHg前後を示した。またECG, EEG, BPなども様々な変化を示した。これらの結果は、低酸素障害について報告する諸家らの結果^{4),7),11)} と一致しており、

低酸素負荷として十分なものと思われた。

さて、今回測定を行った脳内 monoamine を含む神経伝達物質についてであるが、その細胞体の所在、線維の走行等の脳内分布が、radio-immunoassay や組織化学法を用いて年々明らかにされている。^{12)~14)} そして神経伝達物質の代謝経路、特異的な生理作用についても徐々に解明されつつある。

脳内 NA は、脳幹に存在する青班核および外側被蓋に核を有しそれぞれ異なった線維を延ばし視床下部、皮質、網様体へと分布している。NA の代謝は tyrosine から DA を経て dopamine- β -hydroxylase により合成されるが、虚血においてはこの合成酵素がもっとも障害されやすく、そのため NA は、脳全体に有意に低下するとされている。^{15), 16)} しかし、虚血早期に限ると、いまだに種々の見解があり議論の多いところである。当初より低下とする意見と Kogure ら,¹⁷⁾ 金子ら¹⁸⁾ のように早期においては上昇するとの報告がある。今回の実験、すなわち低酸素負荷においては、皮質、海馬、視床下部、および核の存在する脳幹では負荷開始後早期に上昇するという結果が得られた。この低酸素負荷中の変化が、Kogure らの脳虚血の早期の変化と機序において一致するか否かは不明であるが、同様の経過をたどり代謝が亢進されていることを十分に示唆するものと思われる。また皮質、視床下部、海馬での NA の変化は、NA 線維の起始細胞を有する脳幹での変動と非常に類似した経過を示した。すなわち負荷開始後 30 分後のピーク値、24 時間後の再上昇、そしてコントロール値への回復といった一致した変動経過を示した。これは脳幹の起始細胞の変動が皮質、視床下部に反映された可能性を示すものであり、脳幹から皮質、視床下部への NA 線維による神経支配が、密接にかつ直接的に行われていることを示唆する。線条体も皮質や視床下部と同様、青班核などの脳幹に存在する核群からの NA 線維の支配を受けているにもかかわらず異なった変動を示した。その原因の一つには、神経支配の作用様式の相違が考えられ、さらに一つには低酸素負荷に対す

る部位による selective vulnerability の差異が考えられる。これらを明確にするには、今後さらに生化学的および形態学的に検討が必要であると思われる。

脳における DA は、その代謝障害によって起こるパーキンソン氏病を中心に広い範囲の精神、神経疾患において検討されている。脳蘇生の分野ではラット、砂鼠等において、脳虚血後の短期および長期、部位別等、様々な報告が今日までになされている。^{15), 19), 20)} 虚血により DA は、早期には部位による差はあるものの高値を示し、その後低下し慢性期へと移行するといわれている。今回の低酸素負荷においても同様に負荷とともに、海馬を除く他の部位ではすみやかに上昇を認めている。DA 合成の律速酵素である tyrosine hydroxylase は、酸素に対する親和性が高いため酸素の欠乏下でも最小限の酸素を利用して活性が保たれている。^{21), 22)} またこの酵素は、cyclicAMP によっても活性化され DA の放出を促進するとされている。²³⁾ 低酸素負荷においても虚血と同様に ATP の低下 cyclicAMP の増加が認められており、DA の上昇については、DA 合成の律速酵素である tyrosine hydroxylase の活性化が関与しているものと思われる。

脳幹、線条体、および皮質は、低酸素負荷により血流量が増加するといわれているが、これらの部位においては DA の変化が著明であり、逆に血流の変化が少ないとされる海馬²⁴⁾ では、DA が全く上昇を認めないばかりか 120 時間を経ても低下したままであった。このことから DA の変化と血流の間に何らかの関連性が考えられた。

海馬は Kirino ら³⁾ により遅発性神経細胞壊死の部位としても注目されており、低酸素負荷においても虚血と同様の機序で DA の持続的低下が起こり得た可能性もあり、血流量とのかねあいも絡め、今後の検討の余地があると思われる。

5-HT は脳内の広範囲に大量に分布し、睡眠、学習、摂食等の脳の基本的な機能に携わる。これ以外にミオクロノス、偏頭痛、てん

かん等の病態にも関与するとされる²⁵⁾が、作用については十分に解明されてはいない。

今日、特に小児科領域においてトリプトファン代謝異常を含む栄養障害や、また出生時の asphyxia に伴う脳障害において脳内 5-HT の増加を認め、その因果関係に 5-HT の関与が示唆されている。²⁶⁾

通常、虚血脳において 5-HT の変動は少なく、病態に大きく関与しないとされている。しかし一過性の脳虚血モデルにおいては、再開通後上昇するとの報告もあり、その後の脳浮腫形成や血管攣縮に関与するとの報告もある。^{27), 28)} 今回の低酸素負荷において、最も注目すべき結果が得られたのは 5-HT の変動である。すなわち、5-HT は他の二者とは異なり、負荷中より徐々に上昇し、負荷後においてもすべての部位で高値を示し、しかも 120 時間を経てもなお高値を維持する部位が多かった。5-HT が遅発性に高値を示すことについては、二つの原因が考えられる。その一つは 5-HT 細胞の産生の亢進であり、もう一つは放出された 5-HT の代謝分解の低下である。臨床において Lans-Adam syndrome や hypoxic myoclonus には、5-HT が痙攣抑制に有効であるという報告²⁹⁾があり、このような低酸素においては抑

制性の伝達物質である 5-HT が生理的防御のために分泌が亢進する可能性もある。また 5-HT は他の二者と異なり分解が monoaminoxidase (MAO) のみにつかさどられることから、MAO は低酸素状態に対し脆弱性を有するかもしれないということが示唆される。さらに神経障害以外の理由として血小板の関与が挙げられる。5-HT は体内分布のうち全体の 90% が消化管に、約 10% が血小板にあり残り数% が脳内に分布しているとされている。虚血などにおいては 5-HT が虚血再開通後、比較的長期にわたり上昇し、その原因が脳血管や障害された脳実質に存在する血小板が影響しているとの報告もある。³⁰⁾ 低酸素負荷においても同様の機序が働く可能性も否定できない。いずれにせよ 5-HT の持続する上昇は、遅発性神経細胞壊死を含めた長期にわたる低酸素性脳障害に何らかの影響を及ぼす可能性も有り、今後さらに追究すべき課題と考えている。

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲をいただいた恩師である川崎医科大学救急医学教室 小濱啓次教授に謹んで感謝いたします。また同時に直接御指導いただいた同教室 中北和夫講師に深く感謝いたします。さらに同教室 藤井千穂教授はじめ教室員諸兄に感謝いたします。

文 献

- 1) Pelligrino, L. S., Pelligrino, A. S. and Cushman, A. J.: A stereotaxic atlas of the rat brain. 2nd ed. New York, Plenum Press. 1967
- 2) Ito, U., Spatz, M., Walker, T. J. and Klatzo, I.: Experimental cerebral ischemia in Mongolian gerbils. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 32: 209-223, 1975
- 3) Kirino, T.: Delayed neuronal death in gerbil hippocampus. *Brain Res.* 239: 57-69, 1982
- 4) Levine, S.: Anoxic-ischemic encephalopathy. *Am. J. Pathol.* 36: 1-17, 1960
- 5) Borgstrom, L., Johannsson, H. and Siesjo, B. K.: The relationship between arterial PO₂ and cerebral blood flow in hypoxic hypoxia. *Acta Physiol. Scand.* 93: 425-432, 1975
- 6) Welsh, F. A., Sims, R. E. and Mckee, A. N.: Effect of glucose of recovery of energy metabolism following hypoxia. *J. cereb. Blood Flow Metab.* 3: 486-493, 1983
- 7) 今泉茂樹, 鈴木二郎, 木内博之, 吉本高志: 低酸素障害に対する penytoin の卓越性. *脳神経外科* 38: 135-143, 1986
- 8) Reid, K. H., Schurr, A., Tseng, M. and Edomond, H. L., Jr.: Resistance to hypoxia in the rat hippocampal slice. *Brain Res.* 30: 387-391, 1984
- 9) 金 秀浩, 半田 肇, 石川正恒, 平井 収, 吉田真三: 脳虚血急性期における局所脳エネルギー代謝とカテ

コラミンの変動. 脳神経外科 36 : 167—174, 1984

- 10) Akiguchi, I., Horie, R. and Yamori, Y.: Role of central aminergic fibers in experimental cerebral ischemia. *Stroke* 11 : 383—388, 1980
- 11) Davis, J. N. and Carlson, A.: The effect of hypoxia on monoamine synthesis, levels and metabolism in rat brain. *J. Neurochem.* 21 : 783—790, 1973
- 12) 永津郁子, 永津俊治: モノアミン・ニューロンの組織化学の最近の進歩. 神経進歩 31 : 241—254, 1987
- 13) 木村 宏, 富本秀和: 視床下部における古典的神経伝達物質の分布. 神経進歩 31 : 371—385, 1987
- 14) Goodman, L. S. and Gilman, A. G.: The pharmacological basis of therapeutics. 7th ed. New York, Macmillan Publishing Comp. 1985, pp. 66—99
- 15) Robinson, R. G., Shoemaker, W. J. and Schlumpf, M.: Time course of change in catecholamine following right infarction. *Brain Res.* 181 : 202—208, 1980
- 16) Busto, R., Harik, S. I., Yoshida, S. and Scheinberg, P.: Cerebral norepinephrine depletion enhances recovery after ischemia. *Ann. Neurol.* 18 : 329—336, 1985
- 17) Kogure, K., Shheiberg, P., Matsumoto, A., Busto, R. and Reinmuth, O. M.: Catecholamines in experimental brain ischemia. *Arch. Neurol.* 32 : 21—24, 1975
- 18) 金子大成, 中村紀夫, 田村 晃: ラット局所脳虚血による脳内カテコラミンの変動. 脳神経外科 37 : 1079—1085, 1985
- 19) Matsumoto, M., Kimura, K., Fujisawa, A., Matsuyama, T., Yoneda, R., Fukunaga, R., Wada, H. and Abe, H.: Differential effect of cerebral ischemia on monoamine content of brain regions of the Mongolian gerbil. *J. Neurochem.* 42 : 647—651, 1984
- 20) 梶原四郎: 実験的脳虚血時の脳 Catecholamine および cAMP に関する研究. 広島大医誌 33 : 1135—1146, 1985
- 21) Odarjuk, J., Hetey, L. and Gross, J.: Synaptosomal uptake and release of dopamine in rat striatum after hypoxia. *J. Neurochem.* 48 : 1115—1120, 1987
- 22) Okuno, S. and Fujisawa, H.: A new mechanism for regulation of tyrosine-3-monooxygenase by end product and cyclic AMP-dependent protein kinase. *J. Biol. Chem.* 260 : 2633—2635, 1985
- 23) 藤田省三, 内藤笑美子, 佐藤由起夫, 遠藤 裕, 下地恒毅: 内在性オピオイドの脳内分布に対する低酸素の影響. 麻酔 34 : 767—772, 1985
- 24) Salford, L. G. and Siesjo, B. K.: The influence of a terial hypoxia and unilateral carotid artery occlusion upon regional blood flow and metabolism in the rat brain. *Acta Physiol. Scand.* 92 : 130—141, 1974
- 25) Woert, M. H., Magnussen, I., Lowe, Y. H. and Hwang, E. C.: Study of serotonin in neuropsych disorders. *J. Histochem. Cytochem.* 30 : 824—827, 1982
- 26) 石村和久: 発育期の脳におけるセロトニン系の免疫組織学的研究. 京都府医大誌 94 : 1313—1323, 1985
- 27) 河野輝昭, 三宅仁志, 堤 圭介, 森 和夫: 虚血ラットにおける尾状核内モノアミンの変動. *Neurol. Med. Chir.* 28 : 217—222, 1988
- 28) Voldby, B., Ergbaek, F. and Enevoldsen, E. M.: CSF serotonin concentrations and cerebral arterial spasm in patient with ruptured intracranial aneurysm. *Stroke* 13 : 184—189, 1982
- 29) Woert, M. H. and Rosenbeum, D.: L-5-hydroxytryptophan therapy in myoclonus. *Adv. Neurol.* 26 : 107—122, 1979
- 30) Mrsulja, B. B., Mrsulja, B. J., Spatz, M., Ito, U., Walker, J. T., Jr. and Klatzo, I.: Experimental cerebral ischemia in Mongolian gerbils. *Acta Neuropathol.* 36 : 1—8, 1976