

実験的脳虚血における脳血液量および 脳代謝に関する研究

京都大学医学部脳神経外科学教室（指導：半田 肇教授）

小 林 映

〔原稿受付：昭和60年9月17日〕

The Studies on the Cerebral Blood Volume and Brain Metabolism in the Experimental Brain Ischemia

AKIRA KOBAYASHI

Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Kyoto University
(Director: Prof. Dr. HAJIME HANDA)

Changes in cerebral blood volume (CBV) and oxygen metabolism in cerebral ischemia have been variously reported. On the one hand, "misery perfusion" has been reported by Baron et al.⁷⁾ in which increase of oxygen extraction fraction (OEF) and decrease of cerebral blood flow (CBF) and no change in cerebral metabolic rate for oxygen (CMRO₂) were observed. On the other hand, "low perfusion hyperemia" has been reported by Tomita et al.⁸⁾ in which increase of CBV was observed during cerebral ischemia using an experimental model of middle cerebral artery occlusion in cats. About the relationship between the CBV level and initial decrease of CMRO₂ using ischemic model has been also variously reported^{3,8,21,31,36,44,64)}.

This variety of change in the above mentioned parameters might originate in the selection of experimental models and types of cerebral ischemia. As compared with most of experimental models in which cerebral ischemia is of abrupt onset, clinical cerebral ischemia is thought to be rather insidious or gradual as in the case of cerebral thrombosis. In order to clarify the interrelationship among changes of CBF, CBV, CMRO₂, OEF, and high energy phosphate compound, we have adopted an experimental model of staged cerebral ischemia in which the common carotid arteries were occluded gradually after occlusion of the vertebral arteries and external carotid arteries on both sides in the rat (modified Pulsinelli's model⁷⁾ for the whole cerebral ischemia.

Regional CBF in the bilateral lateral parietal cortices and CBV in the left lateral parietal cortex were measured with the hydrogen clearance method and the tissue spectrum analyzer "TS-200"[®] respectively. By controlling the degree of stenosis in the bilateral common carotid

Key words: Cerebral blood flow (CBF), Cerebral blood volume (CBV), Cerebral metabolic rate for oxygen (CMRO₂) Oxygen extraction fraction (OEF), Cerebral ischemia.

索引語：脳血流量，脳血液量，酸素消費量，酸素摂取率，脳虚血。

Present address: Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan.

arteries, cortical CBF was decreased into three controlled stages; first to about 60 ml/100 g/min, second to about 40 ml/100 g/min, and finally to about 25 ml/100 g/min. A whole course of an experiment lasted for 7 hours; the first stage for 2 hours, the second stage for 3 hours, and the third stage for 2 hours.

CMRO₂ or OEF were measured using the difference in O₂ content between the carotid artery and the jugular vein.

Changes in high energy phosphate compounds [e. g. ATP, phosphocreatine (PCr), inorganic phosphate (Pi)] were followed in vivo using ³¹P-topical magnetic resonance (³¹P-TMR).

In the first CBF stage, CMRO₂ values and ATP tended to decrease. CBV and OEF varied slightly. In the second CBF stage, CBV was higher than the normal values (Fig. 3). CMRO₂ and ATP were lower than the normal values except after 2 hours of the second CBF stage. Two hours after the start of the second CBF stage, CMRO₂ and ATP recovered within the normal range (Fig. 9 & 14). At that time, OEF was higher than the normal values (Fig. 10). Pi tended to decrease. So the rate of Pi/ATP tended to decrease gradually (Fig. 13). In the third CBF stage, CBV, CMRO₂ and OEF were markedly lower than the normal values.

In conclusion, "misery perfusion" or compensatory state for cerebral ischemia were observed at the CBF level of 40 ml/100 g/min. However, at the CBF level of 25 ml/100 g/min, oxygen metabolism fell into the impairment.

結 言

従来、実験的脳虚血モデルによる脳血流量 (CBF), 酸素消費量 (CMRO₂) の変化については、諸家の報告があるが、実験モデルや使用した動物が、一定していないことから、これらの時間的変化一つをとっても、必ずしも一定した見解がえられていない^{2,3,4,11,13,16,19,20,21,22,25,31,36,37,38,44,48,49,51,55,60,63,68,80,82,83}。

我々は、ラットを使用して、Pulsinelli⁷³⁾ の脳虚血モデル変法を用い、段階的脳虚血を作成し CBF, CMRO₂, 脳血液量 (CBV), 脳エネルギー代謝に着目し、これらの parameter の関係を明らかにすることに着手した。

本実験の意義は、実際の臨床脳虚血が、従来のモデルのごとく、急激に閾値を超えた脳虚血ではなくて、脳血栓が脳塞栓の場合とはちがって、比較的緩徐に進行することを考え、上述の parameter の time course を in vivo で追跡することにより、的確な病態把握を行い、有効な治療への手がかりを得ようとする事にある。

本論文は、parameters がいくつかに分かれるため、便宜上、脳虚血における part I 脳血液量の変化、part II 酸素代謝の変化、part III 高エネルギーリン酸代謝の変化と3つの部分に分け、その後総括を試みる

事とする。

I. 段階的皮質血流低下における脳血液量

[材料および方法]

ウィスター系雄ラット、体重 250~350 g を用いた。Somnopentyl® 25.9 mg/kg を腹腔内投与して麻酔した。又、気管内の分泌物を防止する目的で硫酸アトロピン 0.1 mg/kg を筋注した。

Fig. 1のごとく、頸部前面正中縦切開にて気管を露出し、切開およびシリコンチューブを挿入して気道を確保した。両側総頸動脈分岐部を、顕微鏡下に剝離し、外頸動脈を6-0の monofilament nylon 糸にて、両側結紮した。そのうえで、occlusive device を総頸動脈に設置し、それを進めることにより、皮質血流を段階的に低下させた (Fig. 1)。

実験日前日に、頸部背面に正中切開を入れて、第一頸椎椎弓両側の alar foramen より、両側椎骨動脈を電気凝固して、閉塞した。

更に、³¹P-Topical Magnetic Resonance (³¹P-TMR) による高エネルギーリン酸化合物の測定に際し、筋肉の影響を排除する目的で、両側側頭筋を除去した。

皮質血流測定は、水素クリアランス法^{70,86)}を用い、測定用の白金電極 (150 μΦ) を両側 lateral parietal

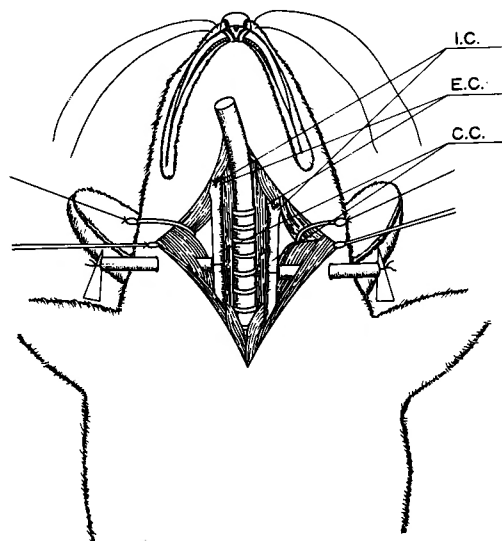


Fig. 1. Bilateral external carotid arteries are occluded to decrease the extracranial collateral circulation, and occlusive devices are set in the bilateral common carotid arteries. Silicon tube is inserted into the trachea for ensuring the air way.

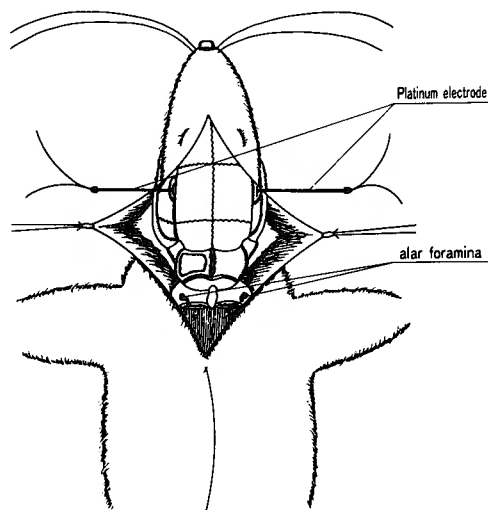


Fig. 2. Bilateral temporal muscles are removed. Platinum electrodes for hydrogen clearance method are set in the bilateral lateral parietal cortices. Burr hole is made adjacent to the electrode in the left convexity and probe of spectrophotometry is set. Bilateral vertebral arteries are occluded in the both alar foramina.

cortex に設置し、歯科用セメントにより固定した。CBV 測定は、住友電光社製組織スペクトラム分析器 TS-200 を用い、測定用の probe を左側 convexity の lateral parietal cortex に設置した。この時、硬膜は切除した (Fig. 2)。TS-200 は、白色光をファイバースケールを通して組織に照射し、反射光を同軸で分光器に導き、反射光スペクトルを検出するものである。ヘモグロビンによる吸収スペクトルを解析し、酸素飽和度 (O_2 -sat.) に影響されない波長の 569 nm, 586 nm (等吸収点) を用い、各スペクトルのピークの差を、CBV の指標としたものである。569 nm と 586 nm の等吸収点および、577 nm のオキシ型ヘモグロビンのピークを用いて、 O_2 -sat. を算出している。従って CBV, O_2 -sat. は、control を 0 とし、増減を%で表示した^{15,40,47,50)}

なお、呼吸は自発呼吸を用い、麻酔は当初浅く行い、意識下を企図して、皮質血流低下を開始する時点では、刺激により自ら動く程度とした。又、femoral artery に、ビニールチューブを挿入し、実験経過中の動脈血ガス分析および血圧のモニターとし、動脈内酸素分圧 (PaO_2)、動脈内二酸化炭素分圧 ($PaCO_2$)、PH の大きな異常を示したもの、あるいは、血圧の著しい変動を示したものは除外した。

又、体重 kg 当り、100 IU のヘパリンナトリウムを静注して、総頸動脈操作中における血栓形成を予防した。

以上の準備を終えた上で、両側総頸動脈を段階的に狭窄し、その都度、皮質血流を測定して、以下の各段階に、血流低下を試みた。

Control の皮質血流を 75 ml/100 g/min 以上とし、第一段階 (Stage 1. 以下 St-1 とする) を 60 ml/100 g/min の血流として 2 時間持続し、第二段階 (Stage 2 以下 St-2 とする) を 40 ml/100 g/min の血流として 3 時間持続し、第三段階 (Stage 3 以下 St-3 とする) を 25 ml/100 g/min の血流として 2 時間持続し、計 7 時間の経過中に、3 段階に皮質血流を低下させた。

なお、control の皮質血流が 75 ml/100 g/min 以下のもの、あるいは、両側の皮質血流に、各段階で 10 ml/100 g/min 以上の差を認めたものは除外した。

以上の実験操作により、St-1~3 の各段階の皮質血流をよく制御できたラットは 5 匹であった。又、St-3 の変化と対照させる目的で以下の実験を行った。control の皮質血流から一気に St-3 の皮質血流の段階に CBF を低下させた。その結果、目的通りに CBF を低下できたものは、5 匹であった。この 2 つのグループは、control の値の段階では、少なくとも、分散、平

Table 1. Physiological parameters in control animals subjected to either bilateral vertebral artery occlusion or gradual four-vessel-occlusion ischemia

| | control | 24 hrs. after bil. VA occl. | rCBF decreasing gradually | | | | | | | |
|--------------------------|-----------|-----------------------------|---------------------------|-----------|-----------|---|---|---|---|---|
| rCBF (ml/100 g/min.) | 84.9±4.5 | 85.2±4.9 | 58.0±5.3 | 38.3±6.1 | 24.3±3.5 | | | | | |
| | | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| MABP (mmHg) | 144±5 | 145±4 | 143±6 | 146±5 | 147±7 | | | | | |
| PaO ₂ (mmHg) | 120±5 | 115±3 | 117±2 | 130±6 | 135±5 | | | | | |
| PaCO ₂ (mmHg) | 38.7±1.2 | 37.6±1.0 | 39.2±0.9 | 35.4±1.3 | 36.2±1.5 | | | | | |
| pH | 7.38±0.03 | 7.39±0.02 | 7.40±0.01 | 7.42±0.02 | 7.44±0.03 | | | | | |

Values are means±SD. MABP, mean arterial blood pressure; rCBF, regional cerebral blood flow; VA, vertebral artery; bil., bilateral; occl., occlusion. n=5

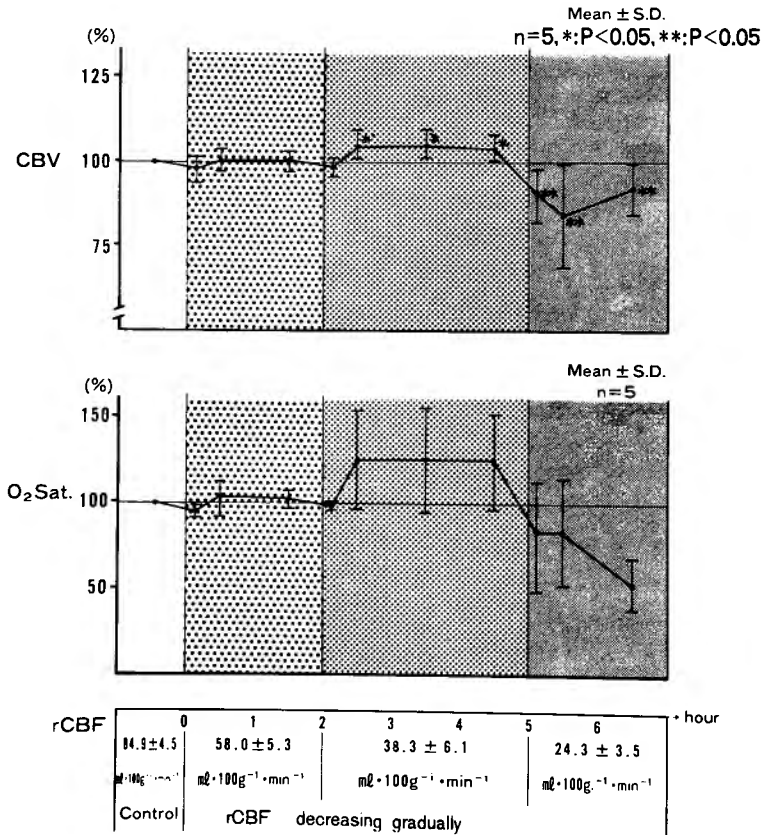


Fig. 3. In the second CBF stage, CBV is higher than the normal values immediately after an initial decrease (*: P<0.05, paired T test). In the third CBF stage, CBV is lower than the normal values (**: P<0.05, paired T test). O₂-sat. tend to be higher than the normal values in the second CBF stage and to be lower than the normal values in the third CBF stage.

均値に有意の差は認めなかった。

〔結果〕

〈生理学的パラメーター〉

皮質血流低下の程度が、進行するにつれ、呼吸性のアルカローシスの傾向を示し、血圧も上昇傾向を示したが、各段階間に、統計的有意な変化は認めなかった (Table 1).

〈CBV, O₂-sat.〉

CBV は、St-1 で有意な変化はなく、St-2 で、操作直後低下の後、control に比較して有意に上昇し、この状態は、St-2 の操作中は持続した。しかし、St-3 の皮質血流では、もはや、CBV の上昇は見られず、control に比べ、有意に低下した。

一方、同時に測定できる O₂-sat. は、CBV と同様に St-2 で増加し、St-3 で減少の傾向を示したが、統計的に有意とはならなかった (Fig. 3).

又、St-3 での CBV の低下が、St-1 および St-2 の段階を前提としているため、比較の意味で control より直接 St-3 に皮質血流を低下させたところ、やはり control より CBV は減少した (Fig. 4).

〔小括〕

従来より、CBV と CBF の関係については、多くの報告^{30,53,54,64,78,79,84)}があり、脳虚血時の CBF と CBV の関係を記した報告に富田⁸⁸⁾らの報告がある。すなわち、彼らは、ネコ中大脳動脈結紮時に、CBV の増加を報告しており、これを“low perfusion hyperemia”と名付けている。この現象の成因のメカニズムとして、以下の2点をあげている。1) 静脈系における血液のうっ滞が、血液流体力学的に障害を起し、ヘマトクリットが上昇して、transit time の増加を促す。2) 一部組織の hypoxia が、局所の vasoparalysis を引き起こす。又、彼らはこの“low perfusion hyperemia”を起こす際の CBF も測定しており、30~40 ml/100 g/min の血流であったとしており、著者らの皮質血流値と一致した。その上、我々の今回のデータから、皮質血流値が 25 ml/100 g/min では、CBV の減少を見たことは重要な所見である。すなわち“low perfusion hyperemia”という現象は、CBF からみた場合、閾値らしき値を持っていると考えられる。

臨床面では、Positron Emission CT を用いて Martin⁶⁴⁾らは、急性期の脳梗塞患者で、患側の CBV の増加を報告している。その中には、CBF, CMRO₂

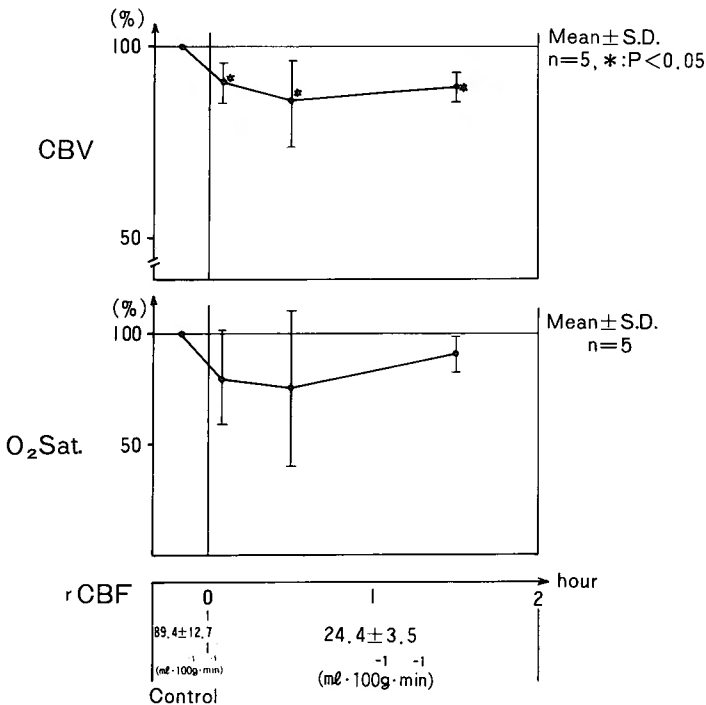


Fig. 4. When cortical CBF is rapidly reduced to 25 ml/100 g/min, CBV is lower than the normal (*: P < 0.05, paired T test). O₂-sat. tend to be lower than the normal.

の減少したものが含まれているが、又、CBFの減少していないものでもCBVの増加のある例も含まれている。このCBFの低下していない症例に対し、動脈狭窄部より遠位の血管が実質内で拡張して代償的にvascular bedが拡張している可能性を報告している。

又、同じようにPositron Emission CTを使用して、STA-MCA anastmosisの手術前後でCBF、CBV、CMRO₂や酸素摂取率(OEF)を比較検討し、術前のCBVの上昇、OEFの上昇を、酸素代謝維持の代償作用であると推定している報告もある^{8,26,32,72,94}。

なお参考までに、今回のラットのモデルでの、両側総頸動脈の狭窄に対するCBFとCBVの時間的変化を知る目的で、両側椎骨動脈、両側外頸動脈を結紮した上で、一側総頸動脈を一気に閉塞した。この際CBFは、閉塞直後は、方法論的に測定不能だが、10分後には閉塞前値より、両側性に上昇し、閉塞後30分程度で、徐々に閉塞前値へと減少していった。その際、CBVの変化は、総頸動脈閉塞の同側と、反対側で変化に差

を生じた。閉塞直後は、両側性に一過性のCBVの減少を起こした。同側では、減少後徐々に回復し、数分で閉塞前値近くまで回復した後、再びゆっくりと減少し、閉塞前値の1割程度の減少を示した。一方反対側では、CBVが閉塞直後の減少を経て、数分で閉塞前値以上のCBVとなり、その後徐々に減少した。CBFの上昇が閉塞前値にもどった時、CBVの上昇も閉塞前値に落ち着いた。この一連の経過中に全身血圧は、軽度の上昇を認めたものの、CBFが変化するautoregulation^{9,24,69,71}を逸脱する程度の上昇は認めなかった(Fig. 5)。

以上の一側総頸動脈の閉塞によるCBFとCBVの変化は、以下のことを示唆していると考えられる。つまり、主幹動脈の閉塞により、CBFの値が、脳虚血症状を起こす値に達しない場合でさえ、代償性にCBFとCBVの一過性の上昇を起こす。

従って、我々の実験におけるCBFとCBVの測定は、上述の反応が落ち着いた時点と考えられる。又、

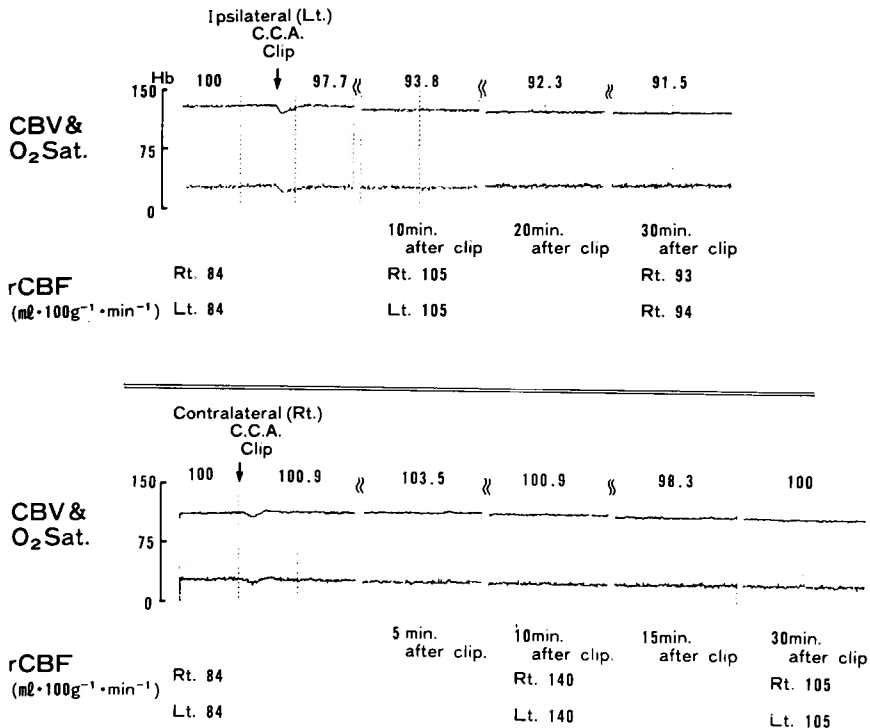


Fig. 5. In the upper row, ipsilateral common carotid artery is occluded (↓). Bilateral cortical CBF increases after common carotid clipping. And CBV decreases. In the lower row, contralateral common carotid artery is occluded (↓). Bilateral cortical CBF and ipsilateral CBV increase immediately after an initial decrease.

一側総頸動脈の閉塞の際に認めた反対側のCBVの一過性の上昇は、従来の報告で perfusion pressure が低下した際の pial vessel の拡張であるとする報告^{23,76,96}があり、一側総頸動脈閉塞により、一過性に脳内 perfusion pressure が低下したことによるCBVの上昇と考えられる。

なお、脳における動静脈の神経支配を考えると、頸部交感神経刺激により、脳血管が収縮するとの報告はすでによくなされているところである^{6,17,23,89,91}。我々の実験モデルにおいても、総頸動脈の閉塞は、頸動脈洞を刺激していると考えられ、上述のCBVの変化を調節している一因と考えられる。他にも、dorsal medullary reticular formation の刺激により、脳血管が拡張するという報告⁴⁹や、神経支配以外に、脳血管自体の脳虚血、あるいは、CO₂ に対する反応性^{9,24,26,69}もCBVあるいは、CBFの変化に影響していると考えられる。

一般に、CBF とCBV の関係は、Meier ら⁶⁹ により、 $CBV = CBF \times t$ ($t = \text{transit time}$) の式が与えられている。Gibbs ら²⁸ は、この式と実際の諸家の報告を考慮して、理論的には、CBV は、autoregulation の範囲内で、perfusion pressure の低下とともに増加し、その範囲以下に perfusion pressure が低下すれば、CBV は増加しないと説明した。その上で、CBF/CBV の値が perfusion pressure と、autoregulation の範囲を超えて、直線的に相関することを示した。

このGibbs の報告の中で、autoregulation の範囲以下の段階では、CBF と perfusion pressure が直線的に相関している。我々の今回の実験でも CBF/CBV (perfusion pressure の指標) と、CBF の関係を見ると、ほぼ直線的な関係となり、Gibbs らの CBF と perfusion pressure の関係とよく一致した。しかし、Gibbs らの推定に反し、我々の実験では、St-3 (皮質血流が 25 ml/100 g/min 前後) において、CBV は減

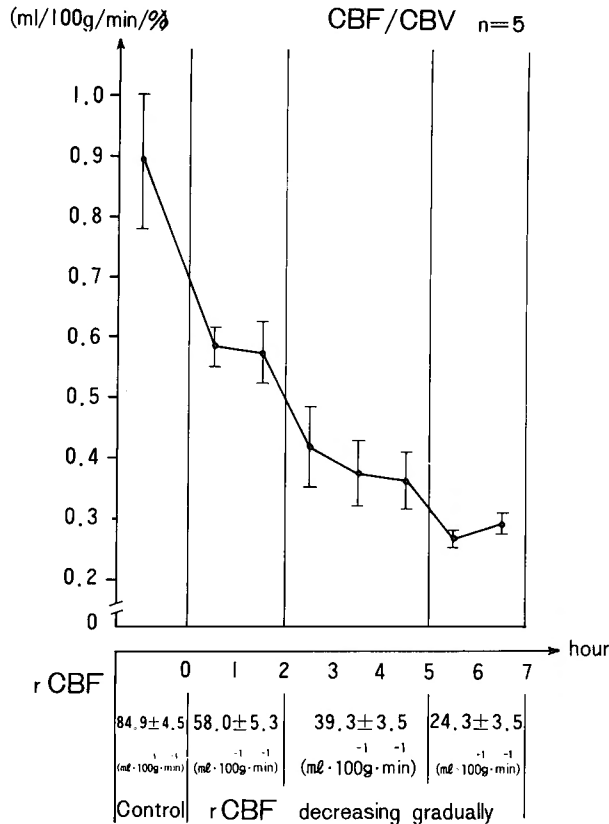


Fig. 6. CBF/CBV values of the normal and initial points of each CBF stage tend to be correlated with each CBF.

少したことは注目に値する (Fig. 6).

II. 段階的皮質血流低下における酸素代謝

〔材料および方法〕

前節の材料および実験方法に加えて、全脳における酸素代謝を検討するために、以下の操作を行った。又、実験に用いたラットは7匹であった。

頸動脈血中と、頸静脈血中(頸静脈球における)のヘモグロビンを測定し、ガス分析器により双方の酸素含有量 (O₂-content) を求めた。それに、両側皮質血流の平均値を、CBFの指標として、 $CMRO_2 = CBF \times AVDO_2$ (the difference in O₂ content between the carotid artery and jugular vein) より、 $CMRO_2$ を算出した。又、OEFは、 $OEF = AVDO_2 / O_2$ content in the carotid artery により値を算出した^{29,33,34,35,42,46,66,75}。

なお、St-2をそのまま持続した場合には、St-3における $CMRO_2$ およびOEFの変化が、起きないことを確認するため、ラット5匹をSt-2の皮質血流にて、5時間持続した。

又、頻回の採血により、貧血となり、ひいては、血圧の変動を招くことを予防する目的で、後述のごとく処理した血液を、各採血ごとに、femoral veinより、採血量に見合うだけ輸血した。すなわち、血液は、あらかじめ同種のラットよりヘパリン採血した上で、実

験動物の血液と交叉試験を試み、溶血あるいは凝固の起こらないものを用意した。

以上の実験中、St-2を5時間継続した5匹のラットと、St-2の皮質血流の段階を3時間と、St-3の段階を2時間経過した7匹のラットは、controlの値で、分散および平均値の上で有意な差のないことを確認した。

なお、 $CMRO_2$ の算出に際し、皮質血流を使用しているが、全脳のCBFを皮質血流で代表させることの妥当性を検討するため、以下の方法でautoradiographyを求めた。St-1~3およびcontrolの皮質血流を測定する時期に一致して、各々3匹ずつについて、autoradiographyを作成した。femoral veinより、¹⁴C-iodoantipyrineを100 μ ci/kg one shotで投与し、数秒を経ずして断頭した。続いて、脳を取り出し、carboxy methyl celluloseにドライアイスを用い、凍結包埋した。その上で、20 μ mのスライスを作成乾燥した後、あらかじめ¹⁴Cの標準線源で、エネルギーに対する黒化度の直線性を確認したフィルムに密着した。その後、2週間で現象した⁸¹¹。

〔結果〕

〈Perfusion Pattern〉

Fig. 7に示されるように、perfusion patternは両側皮質血流がよく制御されたものはcontrolと同様のperfusion patternを示した (Fig. 7)。

一方、両側皮質血流の差が、10 ml/100 g/min 以上

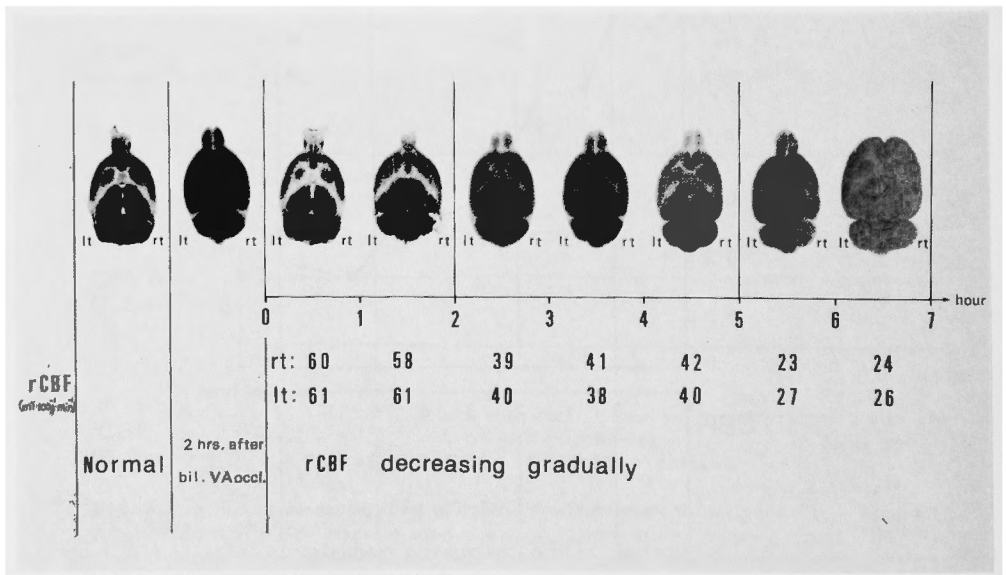


Fig. 7. The autoradiographs (¹⁴C-iodoantipyrine) at each stage reveal the same perfusion pattern.

のものは、Fig. 8のごとく、やはり全体的に perfusion pattern の上でも左右差が顕著であった (Fig. 8).

以上の結果より、全脳の CBF を皮質血流で代表させることが妥当と考えられた。

〈CMRO₂, OEF〉

主題の酸素代謝に関しては、以下のごとくとなった。

CMRO₂ は、control より皮質血流の減少とともに減少した。しかし、St-2 つまり皮質血流が 40 ml/100 g/min になると、操作後 2～3 時間で、control と有意差のない状態にまで回復した。この回復は、St-2 の皮質血流を 5 時間持続したものは、CMRO₂ の回復もそのまま持続し、St-3 の皮質血流に低下させたものは再び大きく CMRO₂ の減少を起し、St-2 初期よりも

control から大きく減少した (Fig. 9).

すなわち、CMRO₂ は、皮質血流が 40 ml/100 g/min 程度では、代償機能を持ち、25 ml/100 g/min では、代償不全に陥入ったと考えられた。

OEF は、Fig. 10 に示したごとく、control に比べて、St-1 および St-2 の 2 時間までは、有意な変化を認めなかった。しかし、CMRO₂ の回復した時期には、OEF の増加を示した。この OEF の増加は、St-2 の皮質血流を 5 時間持続したものは、OEF の増加も持続し、St-3 の皮質血流に低下させたものは、OEF も control より有意に減少した (Fig. 10).

すなわち、皮質血流が 40 ml/100 g/min 程度では、OEF の増加をおこし、25 ml/100 g/min 程度では、

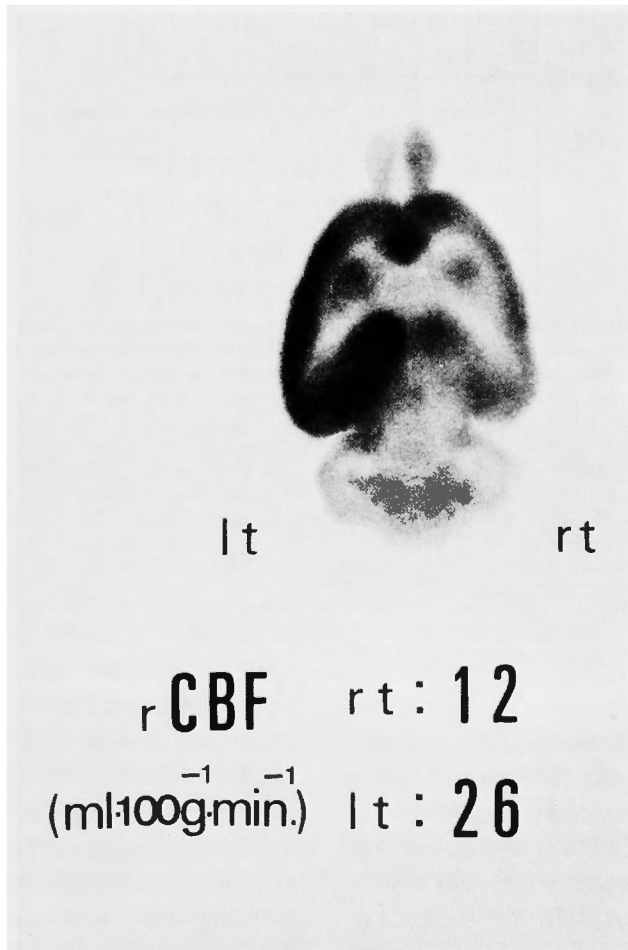


Fig. 8. In this case, the difference of cortical CBF between right and left lateral parietal cortices is more than 10 ml/100 g/min. The heterogeneity in the perfusion image is marked.

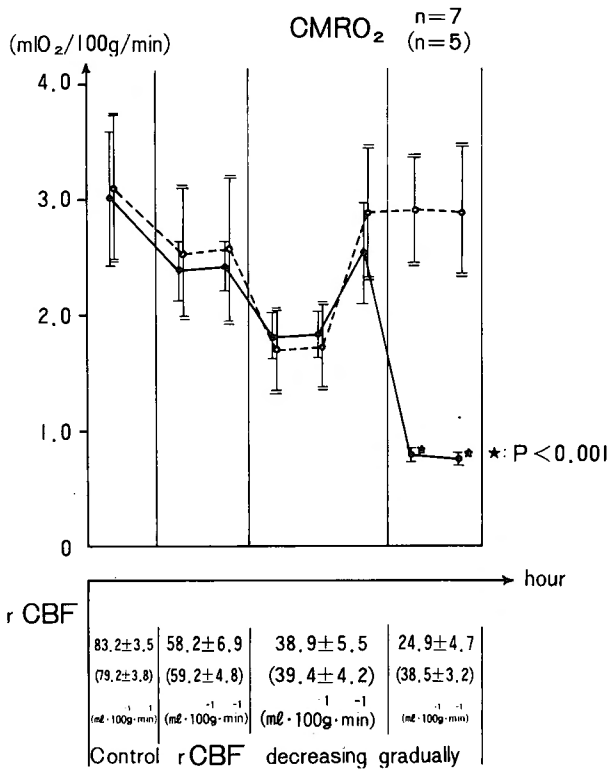


Fig. 9. Ordinate shows CMRO₂. Abscissa shows the time course and each CBF stage. Solid line shows the changes of CMRO₂ in three controlled CBF stages. Broken line shows the changes of CMRO₂ in the group in which the bilateral cortical CBF at the level of 40 ml/100 g/min is kept for 5 hours. In the first CBF stage, CMRO₂ tends to decrease. In the second CBF stage, CMRO₂ is lower than the normal values except after 2 hours of the second CBF stage. Two hours after the start of the second CBF stage, CMRO₂ recovers within the normal range. In the broken line group, such recovery lasts for 3 hours. On the other hand, in the solid line group, CMRO₂ is markedly lower than the normal (*: P < 0.001, paired T test). Vertical lines show the mean ± one standard deviation. The number in the parentheses reveals the CBF in the broken line group.

OEF の減少をおこした。

【小括】

Positron Emission CT の発達により、臨床の場で、酸素代謝および CBF の関係が、三次元的にイメージ化され、定量化することも可能となった。Baron^{7,8)}らの示した脳梗塞の患者における“misery perfusion”は、OEF の上昇した状態であり、その後の STA-MCA anastomosis の前後における報告^{9,28,72,94)}とあわせ、OEF と CBV の上昇が CBF の低下に対する代償機能であると報告している。このことは、我々の実験モデルでは、St-2 の OEF の上昇と CBV の上昇に伴う

CMRO₂ の回復とよく一致する。

一方、実験的には、CMRO₂ が、CBF の低下あるいは perfusion pressure の低下に対し、変動することは、諸家の意見^{3,4,8,21,31,36,44,51,68)}が分かれるところである。今回、我々の実験モデルでは、St-2 の皮質血流で、CMRO₂ が有意な変化を起こし始めると考えられる。この St-2 の脳循環障害の程度は、CBF で正常の 50%弱、perfusion pressure は、CBF/CBV として、やはり 50%弱の値を示している。Hoyer⁴¹⁾らは、全身血圧を低下させる方法で perfusion pressure を低下させ、CMRO₂ の低下を引き起こしたが、その脳循環障

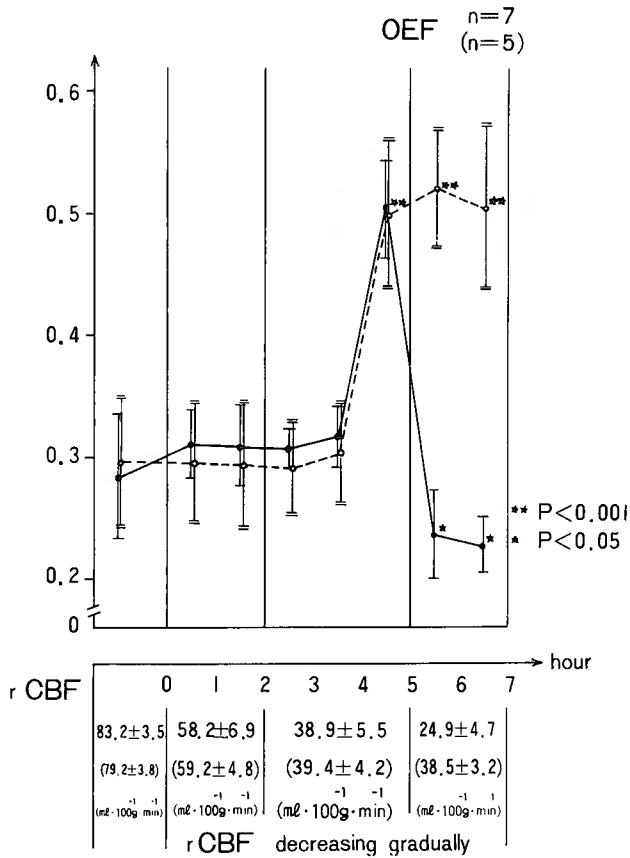


Fig. 10. Ordinate shows OEF. Ablissa shows the time course and each CBF stage. Solid line shows the changes of OEF in three controlled CBF stages. Broken line shows the changes of OEF in the group in which the bilateral cortical CBF at the level of 40 ml/100 g/min is kept for 5 hours. In the first and second CBF stages, OEF varies slightly, but in the second CBF stage, OEF increases significantly after 4.5 hours (**: $P < 0.001$, paired T test). In the broken line group, such increase lasts for 3 hours. On the other hand, in the solid line groups, OEF is lower than the normal (*: $P < 0.05$, paired T test). Vertical lines show the mean \pm one standard deviation. The numbers in the parentheses reveal the CBF values in the broken line group.

害の程度は、上述の我々の St-2 の脳循環障害の程度に近いと考えられる。しかし、我々の実験モデルでは、時間とともに St-2 で $CMRO_2$ が回復することより、代償機能を持つ段階とも解釈できる。St-1 の $CMRO_2$ の変化に関しては、OEF、CBV の変動もないことより、従来の解釈に従えば、 $CMRO_2$ の低下する段階とは考えにくい^{3,4,8,21)}。そこで、強いて、 $CMRO_2$ の値を低下させる可能性を考えると、方法論の問題点が掲げられる。つまり、静脈血中の O_2 content を求める際に、脳以外からの血流が混入する可能性があり、脳

内静脈血中の O_2 content のわずかな変化は捕えにくい。一方、皮質血流は、比較的精度が高いため、静脈血中の O_2 content のわずかな低下、つまり $AVDO_2$ のわずかな増加は mask されて、 $CMRO_2$ の式に反映され難い。そのため、皮質血流の20%程度の低下が、そのまま反映されると考えられる。又、OEF の増加あるいは $CMRO_2$ の回復が、St-2 の皮質血流低下から、2時間程度経過して起こったことの原因としては、以下のことが考えられる。i) 脳虚血に対して、血管の反応性と、酸素代謝を含めた脳代謝の反応性に時間的

に差異が考えられる。たとえば、主幹動脈の閉塞後、CBF は直ちに低下するが、代謝物は、数秒のズレを生じて枯渇するし、逆の場合の閉塞血管の再開通では、CBF は、速やかに reactive hyperemia となるが、代謝産物は徐々に回復することが知られている^{52,56,74,85)}。ii) OEF の増加が St-2 の操作直後より始まっているも、OEF と CMRO₂ の算出法に由来する限界により捕えられない場合がある。例えば、脳実質自体の静脈系ではなく、頸静脈からの採血のため、もし AV シャント^{39,77)} に類したことが起これば、OEF の増加により、本来の脳実質静脈血液の O₂ content を減少させても、シャントによる動脈血が静脈血に入り、O₂ content を増加させて、計算上軽度の OEF の増加や、CMRO₂ の回復は捕えられない。具体的には、従来か

らいわれるところの AV シャント^{39,77)} 以外に以下のことも考えられる。すなわち、“low perfusion hyperemia” の生成メカニズムとして挙げられている hypoxia による vasoparalysis の場合である。つまり、動脈血内酸素が消費されないで静脈血内へ流入し、いわゆる “red venous blood”^{10,92,95)} となり、頸静脈内 O₂ content を上昇させて、見かけ上、OEF の増加、あるいは、CMRO₂ の軽度回復は捕えられないことになる。今回我々の実験でも、I で述べたごとく、St-2 で脳実質の O₂-sat が上昇を示す傾向を認め、“low perfusion hyperemia” の際、red venous blood の状態が存在しうることを示唆した。

又、頸静脈血液のデータを検討すると、St-2 の皮質血流で、OEF が増加し、CMRO₂ が回復するまでの状

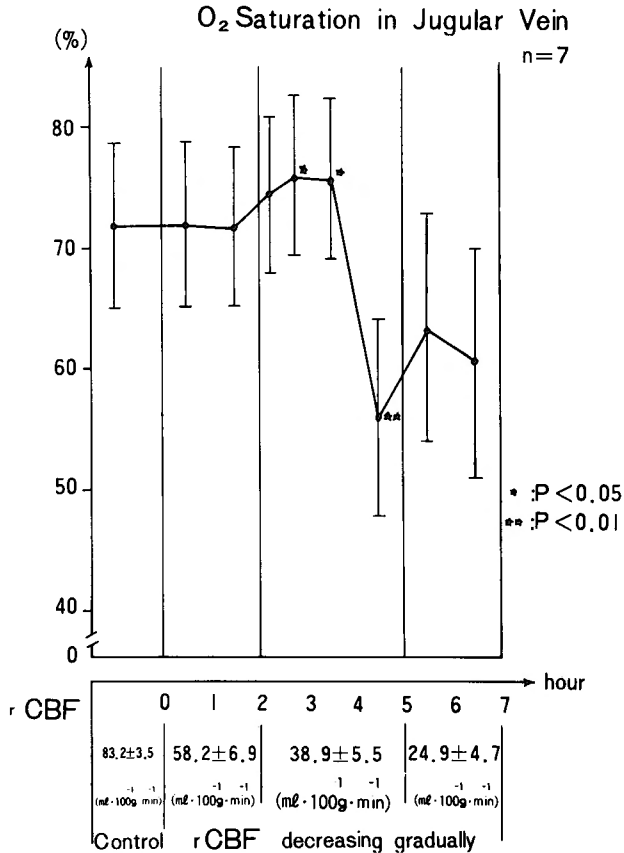


Fig. 11. Ordinate shows O₂ saturation in the jugular vein. Abscissa shows the time course and each CBF stage. Vertical lines show the mean ± one standard deviation. In the second CBF stage, O₂-sat. values are higher than the normal values (*: P < 0.05, paired T test) except after 4.5 hours when a marked decrease is noted (**: P < 0.01, paired T test).

態は, Fig. 11 のごとく, pH が control より上昇し, O_2 -saturation も control より高い傾向を示している. このことは, AV シャントに類した反応が起こらなければ, 説明しがたい (Fig. 11).

但し, この頸静脈血あるいは脳実質の O_2 -sat の上昇は, 代償性に動脈系が拡張して CBV が上昇し, 脳実質への動脈血の供給が増加した場合にも考えられる. つまり, i) のごとく, OEF の増加が CBV の増加に比べて軽い間は, 相対的に動脈血が静脈系へ流入し, 脳実質あるいは頸静脈の O_2 -sat を増加させるからである.

以上の結果として, 見かけ上 OEF の増加や, $CMRO_2$ の回復が, 皮質血流低下後, 数時間を経過して起こったと考えられる. 次に St-3 では, OEF が control 値より減少し, 酸素代謝の障害が CBF の低下を上回り, 脳組織が "luxury perfusion"⁵⁷⁾ (Lassen らが初めに, この luxury perfusion の概念を使用した段階では, CBF の上昇, $CMRO_2$ の低下を指すが, ここでは, CBF と $CMRO_2$ 双方が低下して酸素代謝が不全に陥った状態をさす)^{58, 59, 93)} に陥ったと思われる. 従来, 脳虚血による代謝障害を起こす CBF の閾値としては, 動物モデルにより様々な報告^{5, 19, 58, 59, 63, 63)}

があるが, 通常 10~20 ml/100 g/min 程度が多い. 我々の閾値は, 25 ml/100 g/min となっているが, perfusion pattern として, 比較的高い血流を保つ皮質血流を用いたため, 従来より高くなったと思われる.

以上の我々の実験から, 酸素代謝と CBF の関係は段階的に変化しうることがわかる. すなわち, St-1 では, CBF と酸素代謝が並行した状態, St-2 では, CBF の低下に対して CBV および OEF が上昇して代償しうる状態, そして, St-3 では, CBF の低下に対して, CBV あるいは OEF では代償しがたい状態に移行するのである^{58, 59, 93)}.

III. 段階的皮質血流低下における高エネルギーリン酸化合物

〔材料および方法〕

前節における材料および方法に加えて, 全脳における高エネルギーリン酸化合物を in vivo で追跡するために, 以下の操作を行なった.

リン局所核磁気共鳴 (^{31}P -TMR) 測定法^{14, 67, 90)} を使用するために, ラットを仰臥位に固定するアクリル樹脂製の固定台を考案し, 計測途中でラットを出し入れしても, 測定対象となる脳の位置が変化しないようにし

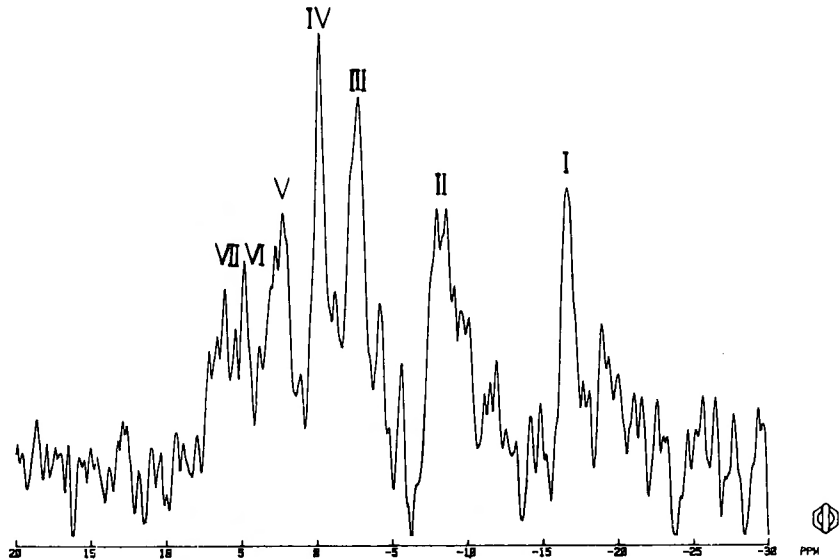


Fig. 12. Control ^{31}P -nuclear magnetic resonance spectrum of a normal rat brain. Assignment of the resonant peaks is shown. I: β -ATP. II: α -ATP, α -ADP, NAD^+ / $NADH$. III: γ -ATP, β -ADP. IV: phosphocreatine (PCr). V: phosphodiester (PD). VI: inorganic phosphate (Pi). VII: sugar phosphate, AMP.

た。又、設置した白金電極が、 ^{31}P -TMR に対し、影響のないことを、電極と ATP の標準液でスペクトルを求め確認した。

高エネルギーリン酸化合物の測定は、リン核磁気共鳴法を用い、TMR 32/200 スペクトロメーター (磁場強度1.8テスラ、 ^{31}P の共鳴周波数 32.5 MHz, Oxford Research Systems 社製) を使用した。磁場成形コイルに流す電流を調節し、直径約 20 mm の球状の検出容積とした。ラジオ波の送受信には、直径約 10 mm の double turn の表面コイル¹⁾ を使用した。パルス幅は 13 μsec 。パルス繰り返し時間は 1 秒間であり、観測周波数帯域は 4000 Hz、データポイント4096で、1回のデータ集収時間は 0.512 msec であった。

以上の条件で得られた自由誘導減衰 (FID) を、磁場の均一度に応じて180-300回の加算を行なった、信号/雑音比を改善し、得られた信号をフーリエ変換し

て、 ^{31}P -NMR スペクトルを得た。1回の測定時間は、約3~5分であった。

Fig. 12 に示すごとく、クレアチンリン酸 (PCr) を基準とした化学シフト値から、共鳴信号の帰属を決定し、低磁場側から、糖リン酸 (SP)、無機リン酸 (Pi)、リン酸 2 エステル (PDE)、ATP の γ 、 α 、 β -位のリンと同定された (Fig. 12)。又、共鳴信号の面積が個々の物質のモル濃度に比例するため、面積比から各物質の相対量を求めた。

γ -ATP、 α -ATP のスペクトルには、ADP のスペクトルにも含まれるため、 β -ATP のスペクトルを用いた。又、Pi, PCr, β -ATP を計100%として表示した。又、Pi の化学シフト値より、細胞内 pH⁸⁷⁾ を算出した。

信号/雑音比が異なる際、不均一磁場領域からの信号が、数学的手法 (deconvolution 法²⁷⁾) で除去しえな

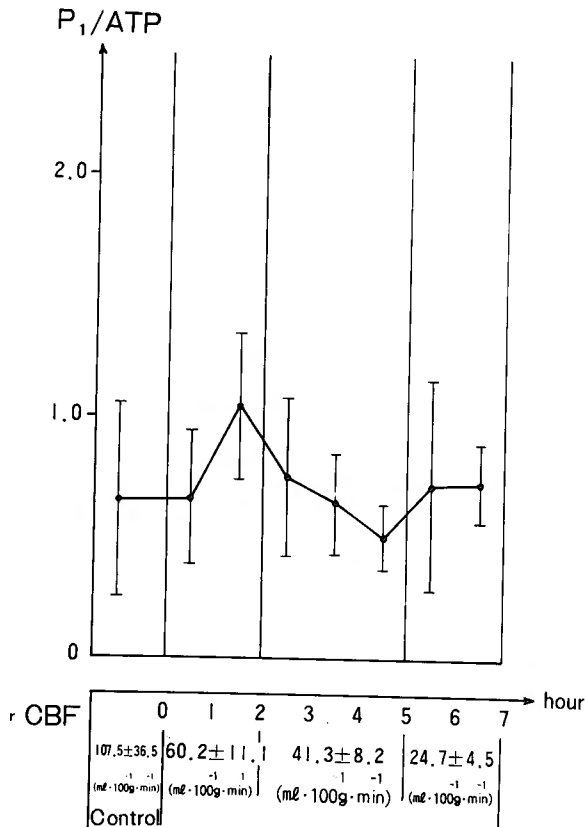


Fig. 13. The changes of Pi/ATP are shown. In the first CBF stage, the rate tends to increase. In the second CBF stage, such rate tends to decrease. In the third CBF stage, such rate tends to increase again.

い部分もあると思われる。そこで、 P_i/ATP , PCr/ATP の相対比も合わせ求めた。

通常、筋肉内の ATP は、脳実質内の 3 倍量認めるとされている。そこで本実験を開始する前に、両側側頭筋を残したラット 3 匹と除去したラット 3 匹を、 ^{31}P -TMR の測定機器内で KCl により死亡させて、経過観察した。その結果、両側側頭筋を除去したものは、直後より無機リンのスペクトルのみとなり、側頭筋を残したものは、数十分を経ても、ATP のスペクトルを認めた。このことにより、少なくとも、検出容積内に筋肉等の影響はないものと思われた。

以上の実験操作を行ったところ、両側皮質血流をよく各段階に制御しえたラットは、10 匹であった。

〔結果〕

St-1 では、大きな変化はスペクトル的には見られ

なかったが、 P_i/ATP のピークの比を見ると、St-1 ですでに上昇傾向が見られていた。St-2 では、初期 P_i のピークが上昇し β -ATP の低下が見られたが、次第に P_i のピークが低下し、 β -ATP のピークが回復した。皮質血流に関しては、TMR 測定の前後で測定したが、変化は見られなかった。St-3 では、再び P_i/ATP の比が上昇した (Fig. 13, 14, 15)。なお、St-2 の PCr のピークは、ATP の回復と一致せず、むしろ、ATP の回復に先行して PCr のピークの上昇が見られた。すなわち、高エネルギーリン酸化合物である ATP は、St-2 の皮質血流で、脳虚血に対する代償機能により、回復しうが、St-3 では、次第に低下した。

〔小括〕

従来より、実験的脳虚血における高エネルギーリン酸化合物を *in vitro* で定量し、変化を追跡した報告は

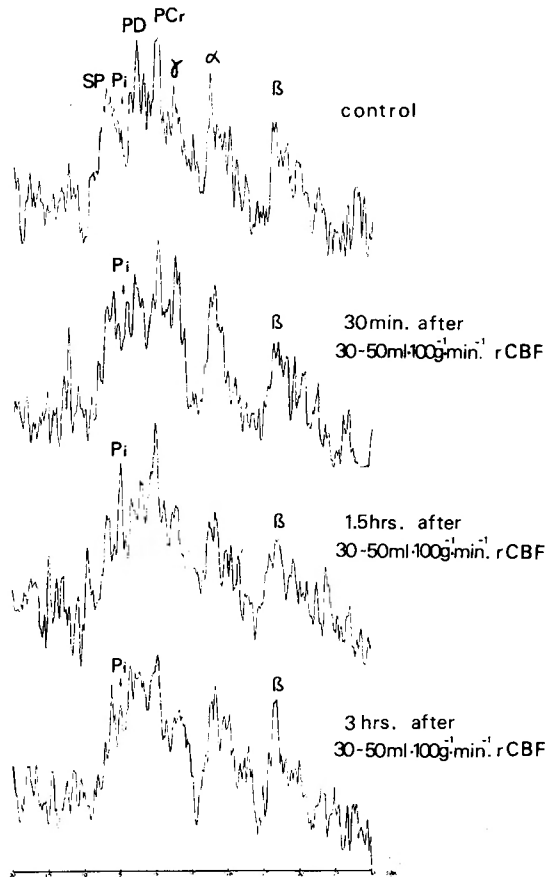


Fig. 14. The spectrum in the second CBF stage is shown. The peak of P_i tends to decrease and the peak of β -ATP to increase with time.

多い^{12,18,19,20,23,41,43,54,55}。

しかし, *in vivo* では方法論に限界があり, 高エネルギーリン酸化合物を追跡することは困難であった。ところが, ³¹P-TMR の開発により, *in vivo* で ATP, PCr 等の高エネルギーリン酸化合物が経時的に追跡できるようになった。このことは, 同一固体で, 同時に数種類のリン酸化合物を捕えることができ, 生体内で各種の化合物が相互に反応し, 影響し合うことを考えれば, 最適の方法といえる。

ただ, 現時点で, 以下に掲げるいくつかの問題点がある。その一つは, 測定しようとする脳実質以外の組織が, 検出容積内に含まれる可能性を持つことである。ATP 含量の多い筋肉に関しては, 先に述べたように, 側頭筋の有無で確認した。他に血液に関しては, 流体効果のため, 関与が少なく, 又, 体積比が数%以下で

あるので, 問題とならないと考えてよい。赤血球に見られる 2,3-DPG の信号が認められなかったことも先の見解を支持する。すなわち, 測定対象が脳以外である可能性は低い。

又, 各スペクトルの面積を求める際, 不均一磁場領域の信号が数学的処理でも完全に無視出来ないため, 基線の歪み, スペクトルの分離が不完全となり得る。従って, 各化合物の時間的経過を追跡する際, 軽度の増減は誤差に含まれてしまう可能性が高い。また, 同じ程度の虚血であっても, 解剖学的な場所により, 障害の程度は異なることがある^{12,18,19,20,22,41,43}。すなわち, selective vulnerability である。mongolian gerbil によれば半球虚血でも, hippocampus の障害の程度が強いと報告されており, このことは今回の model のような全脳虚血では, たとえ perfusion pattern が同じでも,

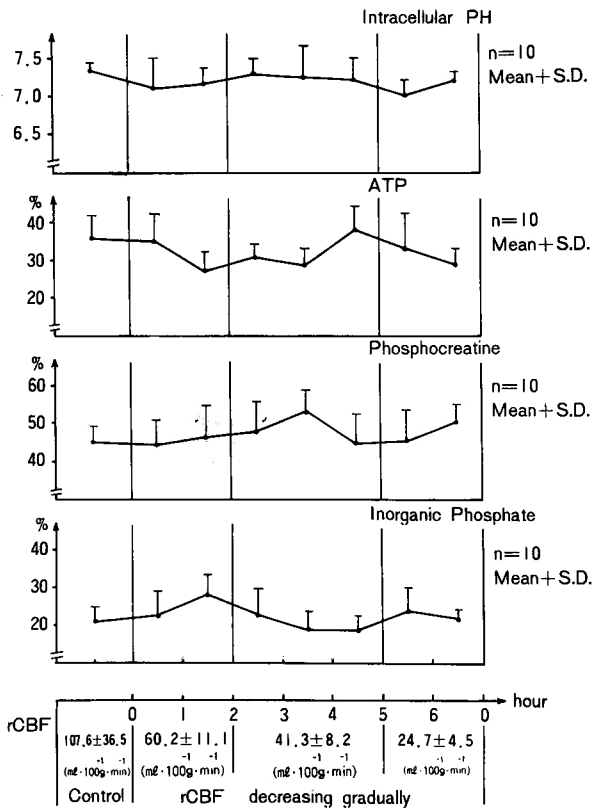


Fig. 15. Ordinate shows the percent of ATP, Pi and PCr, and intracellular pH. Abscissa shows the time course and each CBF stage. Vertical lines show the mean ± one standard deviation. In the first CBF stage, ATP tends to decrease and Pi to increase. In the second CBF stage, ATP tends to decrease. In the third CBF stage, ATP tends to decrease again, and Pi to increase.

エネルギー代謝の障害程度は様々な程度を含む可能性を持つ。以上のような方法論上の問題はあがるが、我々の実験における ATP の変化は、前節の酸素代謝の St-2 の経過と動向の一致をみた。しかも ATP は control に比べ、St-2 初期は有意に低下し、その後 control 近くまで回復している。これは $CMRO_2$ の変化と一致している。すなわち、実際におこっているエネルギー代謝産物の消長を示していると考えられる。ただ、ATP の回復と、PCr の回復は時間的にズレがあった。むしろ ATP の回復に先行して、PCr プールの回復が見られるように思われる。一方、Lowry ら^{54,55} は、断頭による完全虚血の際、高エネルギー化合物の消費には順番があり、PCr → glucose → (ATP glycogen) と枯渇していくと報告している。従って、ATP の減少と $CMRO_2$ の減少は密接に結びつくと考えられるが、PCr の動態とは差異がある可能性を認め、我々の実験結果は妥当であると考えられた。しかし依然として、高エネルギー化合物の分布が、血流分布と一致しないとする報告^{12,18,19,20,23,41,43} は多く、ATP, PCr, Pi の不均等分布による可能性も否定できない。今後 in vitro の実験と、我々のような in vivo の実験を対照させることにより、高エネルギーリン酸化合物の詳細な経時変化を解明できると思われる。

以上のことより、³¹P-TMR 測定法で、ATP, Pi, PCr の各リン酸化合物が、生体内で脳虚血に対し、微妙に変化し合う状態を、in vivo で繰り返し測定できることにより観察できたと考えられる。

[総括]

Pulsinelli 変法によるラット虚血において段階的脳血流の減少程度にしたがい、Stage 1 から Stage 3 に分類し、脳血流と密接に関係しあう CBV, 酸素代謝、高エネルギーリン酸代謝の変化に着目して得た実験結果を以下のごとく位置づけることができると考える。

生体の脳虚血に対する反応は、全身的な反応 (e. g. 全身血圧等) を除けば、以下の要素が考えられる。

i) 血液を供給する側としての脳循環：

これは、動脈から始まり、毛細血管、静脈を指す。実験的に脳局所をとり上げれば、hemodynamics を観察できる parameter として、CBF, CBV, perfusion pressure, resistance で規定され、3つの要素が決まれば、残り1つも規定される。従って、虚血の程度を表示しようとするれば、CBF, CBV および perfusion pressure を表示することが必要となる。今回、我々の

実験では、CBF, CBV, そして perfusion pressure のおよその指標として、CBF/CBV を用いた。そして我々の実験中、この血液供給の因子で虚血に対する代償機能として、CBV の増加があげられる。この CBV の増加は“low perfusion hyperemia”として実験的には報告⁸⁸されているところであり、静脈系の関与として解釈された。しかし、今回我々の実験から推定されるごとく、単に静脈系の関与のみでなく、動脈系あるいは毛細血管系での関与も否定できないと思われる。この CBV の増加に、動脈系あるいは毛細血管系の関与する可能性は、臨床での Position Emission CT を用いた脳梗塞の患者における所見に関する報告と一致する。我々の実験結果で大切なことは、CBV の代償機能は CBF の値に関して閾値らしき値をもつことであると思われる。その閾値は、皮質血流で 40 ml/100 g/min 前後に当り、それ以上の脳虚血、少なくとも、25 ml/100 g/min 程度以下では、もはや、CBV の増加となりえないことがわかった。

ii) 血液を受け取る側で、血管内から細胞膜を通過するまで：

我々の実験では、酸素代謝を窺う指標として、OEF と $CMRO_2$ を取り上げた。

代謝機能の上昇は、OEF の上昇という形で表現され、CBF が低下しているので、Baron らの報告した“misery perfusion”^{7,8} と思われる。この OEF の上昇が、CBF としては、i) の代償期である CBV の増加と一致したことは、“脳”全体として CBF の 40 ml/100 g/min という値が、脳虚血に対する代償機能を發揮している時期と考えられる。それ以上の虚血、つまり 25 ml/100 g/min では CBV と同様 OEF も低下を示し、神経細胞が代償不全乃至損傷を被った状態^{57,58,59,93} と考えられた。CBF が低下するにつれて OEF が変化し、その結果として $CMRO_2$ の一度低下後の回復、あるいは、より CBF が低下した際の $CMRO_2$ の大きな低下が起こったと考えられる。

iii) 神経細胞内で、ミトコンドリア等の細胞内、オルガネラ：

今回、我々の実験では、酸素代謝の変化と直接結びつく高エネルギーリン酸化合物を in vivo で示した。結果はやはり、酸素代謝の代償期には、ATP も $CMRO_2$ と同様に回復し、 $CMRO_2$ の低下とともに低下し、CBV, OEF の代償機能と高エネルギーリン酸化合物の変化とは、密接に関連していると考えられる。

以上をまとめると、CBF の段階的な低下による脳虚

血で、40 ml/100 g/min では、脳の代償機能が発揮されるが、25 ml/100 g/min になると、代償しえないことを、同一個体を用いた実験で示したと考える。

稿を終えるに臨み御指導、御校閲を賜りました恩師半田肇教授に深甚なる謝意を捧げるとともに、終始御討論、御鞭撻を戴きました米川泰弘助教授に深謝致します。

最後に、実験を手伝っていただいた滝 和郎博士、山形 専博士、三宅英則博士、安里令人博士、上田 徹学兄、後藤泰伸学兄に厚く御礼申し上げます。又、快く実験の場を与えて下さり、御慈愛あふれる御指導をいただいた京都大学核医学科鳥塚亮爾教授、米倉義晴博士に厚く御礼申し上げます。

References

- 1) Ackerman JJH, Grove TH, et al: Mapping of metabolites in whole animals by ^{31}P NMR using surface coils. *Nature* **283**: 167-170, 1980.
- 2) Adams JH, Brierley JB, et al: The effect of systemic hypotension upon the human brain. Clinical and neuropathological observations in II cases. *Brain* **89**: 235-268, 1966.
- 3) Alexander SC, Cohen PJ, et al: Cerebral carbohydrate metabolism during hypocarbia in man. Studies during nitrous oxide anesthesia. *Anesthesiology* **26**: 624-632, 1965.
- 4) Alexander SC, Smith TC, et al: Cerebral carbohydrate metabolism of man during respiratory and metabolic alkalosis. *J Appl Physiol* **24**: 66-72, 1968.
- 5) Astrup J, Siesjö BK, et al: Thresholds in cerebral ischemia. The ischemic penumbra. *Stroke* **12**: 723-725, 1981.
- 6) Auer LM, Kuschinsky W, et al: Sympathoadrenergic influence on pial veins and arteries in the cat. In *Cerebral Blood Flow: Effects of Nerves and Neurotransmitters* edited by Heistad DD, Marcus ML. New York, Elsevier, 1982, p. 291-300.
- 7) Baron JC, Bousser MG, et al: Reversal of focal "misery perfusion syndrome" by extra-intracranial arterial bypass in hemodynamic cerebral ischemia. A case study with ^{15}O positron emission tomography. *Stroke* **12**: 454-459, 1981.
- 8) Baron JC, Bousser MG, et al: Noninvasive tomographic study of cerebral blood flow and oxygen metabolism in vivo. 'Potentials, limitations, and clinical applications in cerebral ischemic disorders'. *Eur Neuro* **20**: 273-284, 1981.
- 9) Betz E: Cerebral blood flow; its measurement and regulation. *Physiol Rev* **52**: 595-630, 1972.
- 10) Blair RDG, Waltz AG: Regional cerebral blood flow during acute ischemia. Correlation of autoradiographic measurements with observations of cortical microcirculation. *Neurology (Minneapolis)* **20**: 802, 1970.
- 11) Borgström L, Johannsson H, et al: The relationship between arterial PO_2 and cerebral blood flow in hypoxic hypoxia. *Acta Physiol Scand* **93**: 423-432, 1975.
- 12) Brierley JB: Pathology of cerebral ischemia. In *Cerebral Vascular Diseases* edited by McDowell FH, Brennan RW, New York, Grune and Stratton, p. 59-75, 1973.
- 13) Brierley JB, Brown AW, et al: Brain damage in the rhesus monkey resulting from profound arterial hypotension. I. Its nature, distribution and general physiological correlates. *Brain Res* **13**: 68-100, 1969.
- 14) Chance B, Eleff S, et al: Phosphorus NMR. In *Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Imaging* edited by Partin CL, et al., WB Sanders Company, p. 399-445, 1983.
- 15) Chance B, Legallais V, et al: A versatile time-sharing multichannel spectrophotometer, reflectometer and fluorometer. *Biochem* **66**: 498-514, 1975.
- 16) Cohen PJ, Alexander SC, et al: Effects of hypoxia and normocarbica on cerebral blood flow and metabolism in conscious man. *J Appl Physiol* **23**: 183-189, 1967.
- 17) D'Alecy LG, Feigl EO: Sympathetic control of cerebral blood flow in dogs. *Circ Res* **31**: 267-283, 1972.
- 18) Eklöf B, MacMillan V, et al: Cerebral energy state and cerebral venous PO_2 in experimental hypotension caused by bleeding. *Acta Physiol Scand* **86**: 515-527, 1972.
- 19) Eklöf B, Siesjö BK: The effect of bilateral carotid artery ligation upon the blood flow and the energy state of the rat brain. *Acta Physiol Scand* **86**: 155-165, 1972.
- 20) Eklöf B, Siesjö BK: The effect of bilateral carotid artery ligation upon acid-base parameters and substrates levels in the rat brain. *Acta Physiol Scand* **86**: 528-538, 1972.
- 21) Eklöf B, Lassen NA, et al: Blood flow and metabolic rate for oxygen in the cerebral cortex of the rat. *Acta Physiol Scand* **88**: 587-589, 1973.
- 22) Eklöf B, Siesjö BK: Cerebral blood flow in ischemia caused by carotid artery ligation in the rat. *Acta Physiol Scand* **87**: 69-77, 1973.
- 23) Fitch W, MacKenzie ET, et al: Effects of decreasing arterial blood pressure on cerebral blood flow in the baboon. *Circ Res* **37**: 550-557, 1975.
- 24) Folkow B: Description of the myogenic hypothesis. *Circ Res* **15** (suppl): 287-297, 1964.
- 25) Freeman J, Ingvar DH: Elimination by hypoxia of cerebral blood flow autoregulation and EEG relationship. *Exp Brain Res* **5**: 61-71, 1968.
- 26) Fujishima M, Scheinberg P, et al: The relation

- between cerebral oxygen consumption and cerebral vascular reactivity of carbon dioxide. *Stroke* **2**: 251-257, 1971.
- 27) Gadian DG: The theoretical basis of the n.m.r. experiment. In *Nuclear Magnetic Resonance and its Application to Living System*, Oxford, Clarendon, p. 78-98, 1982.
- 28) Gibbs JM, Wise RJS, et al: Positron emission tomography studies in acute stroke and in patients with carotid occlusion: Pathophysiology of cerebral ischemia and diminished perfusion reserve. In *Progress in Stroke Reserch 2* edited by Greenhaigh RM, Rose FC, London, Pitman Books Limited, 1983, p. 214-226.
- 29) Gleichman U, Ingvar DH, et al: Regional cerebral cortical metabolic rate of oxygen and carbon dioxide, related to the EEG in the anaesthetized dog. *Acta Physiol Scand* **55**: 82-94, 1962.
- 30) Grubb RL, Hernandez-Perez MJ, et al: The effects of iodinated contrast agents on autoregulation of cerebral blood flow. *Stroke* **5**: 155-160, 1974.
- 31) Grubb RL, Raichle MW, et al: Effects of increased intracranial pressure on cerebral blood volume, blood flow, and oxygen utilization in monkeys. *J Neurosurg* **43**: 385-398, 1975.
- 32) Grubb RL, Ratcheson RA, et al: Regional cerebral blood flow and oxigen utilization in superficial temporal-middle cerebral artery anastomosis patients: An exploratory definition of clinical problems. *J Neurosurg* **50**: 733-741, 1979.
- 33) Häggendal E, Jóhansson B: Effect of arterial carbon dioxide tension and oxygen saturation on cerebral blood flow autoregulation in dogs. *Acta Physiol Scand* **66** (suppl. 258): 27-53, 1965.
- 34) Häggendal E, Nilsson NT, et al: Effect of blood corpuscle concentration on cerebral blood flow. *Acta Chir Scand* **364** (suppl): 3-12, 1966.
- 35) Häggendal E, Norback B: Effect of blood pressure and hematocrit on the cerebral metabolic rate for oxygen. *Acta Chir Scand* **364** (suppl): 23-31, 1966.
- 36) Hamer J, Hoyer S, et al: Cerebral blood flow and cerebral metabolism in acute increase of intracranial pressure. *Acta Neurochir* **28**: 95-110, 1973.
- 37) Harper AM, Glass HI: Effects of alterations in the arterial carbon dioxide tension on the blood flow through the cerebral cortex at normal and low arterial blood pressure. *J Neurol Neurosurg Psychiat* **28**: 449-452, 1965.
- 38) Harper AM: Autoregulation of cerebral blood flow: influence of the arterial blood pressure on the blood flow through the cerebral cortex. *J Neurol Neurosurg Psychiat* **29**: 398-403, 1966.
- 39) Hasegawa T, Ravens JR, et al: Precapillary arteriovenous anastomoses. "Thoroughfare channels in brain." *A.M.A. Arch Neurol Psychiatry* **16**: 217-224, 1967.
- 40) Hayashi N: In vivo studies on the hemodynamics and oxygen utilization in the livers of patients with chronic liver diseases. Analysis by reflectance spectrophotometry *Jpn J Med* **68**: 20-27, 1979.
- 41) Holmin T, Johannsson H, et al: Effects on cerebral energy state of arterial hypotension in rats with portacaval anastomosis. *Acta Physiol Scand* **90**: 345-357, 1974.
- 42) Homburger E, Himwich WA, et al: Effect of "Pentothal" anesthesia on canine cerebral cortex. *Am J Physiol* **147**: 343-345, 1946.
- 43) Hossmann KA, Mies G, et al: Multiparametric imaging of blood flow and metabolism after middle cerebral artery occlusion in cats. *J Cereb Blood Flow Metabol* **5**: 97-107, 1985.
- 44) Hoyer S, Hamer J, et al: The effect of stepwise arterial hypotension on blood flow and oxidative metabolism of the brain. *Pflügers Arch ges Physiol* **351**: 161-172, 1974.
- 45) Iadecola C, Nakai M, et al: Global cerebral vasodilatation elicited by focal electrical stimulation within the dorsal medullary reticular formation in anesthetized rat. *J Cereb Blood Flow Metabol* **3**: 270-279, 1983.
- 46) James IM, MacDonnel L: Factors affecting the cerebrovascular response to noradrenaline in the dog. *Brit J Pharmacol* **54**: 129-143, 1975.
- 47) Jobsis F, Keizer J, et al: Reflectance spectrophotometry of cytochrome aa₃ in vivo. *J Appl Physiol* **43**: 858-872, 1977.
- 48) Johannsson H, Siesjö BK: Cerebral blood flow and oxygen consumption in the rat in hypoxic hypoxia. *Acta Physiol Scand* **93**: 269-276, 1975.
- 49) Kassik A, Nilsson L, et al: The effect of arterial hypotension upon the lactate, pyruvate and bicarbonate concentrations of the brain tissue and cisternal CSF, and upon the tissue concentrations of phosphocreatine and adenine nucleotides in anesthetized rats. *Acta Physiol Scand* **78**: 448-458, 1970.
- 50) Kamada T, Sato N, et al: Non invasive measurement of the rate of O₂ consumption in living liver in situ —Application of reflectance spectrophotometry. *肝臓* **20**: 303, 1979.
- 51) Kety SS, Schmidt CF: The effects of altered arterial tensions of carbon dioxide and oxygen on cerebral blood flow and cerebral oxygen consumption of normal young men. *J Clin Invest* **27**: 484-491, 1948.
- 52) Kogure K, Busto R, et al: The dissociation of cerebral blood flow, metabolism, and function in

- the early stages of developing cerebral infarction. *Ann Neurol* **8** : 278-290, 1980.
- 53) Kuhl DE, Reivich M, et al: Local cerebral blood volume determined by three-dimensional reconstruction of radionuclide scan data. *Circ Res* **36** : 610-619, 1975.
 - 54) Ladurner G, Auer LM: Alterations of the cerebral blood volume. In *The Cerebral Venous System and its Disorders* edited by Kapp JR, Schmidek HH. Orlando, Grune & Stratton, Inc. p. 229-249, 1984.
 - 55) Lambertsen CJ, Kough RH, et al: Oxygen toxicity. Effects in man of oxygen inhalation at 1 and 3.5 atmospheres upon blood gas transport, cerebral circulation and cerebral metabolism. *J Appl Physiol* **5** : 471-486, 1953.
 - 56) Lang R, Zimmer R, et al: Post-ischemic O₂-availability and O₂-consumption of the isolated perfused brain of the dog. *Pflügers Arch ges Physiol* **334** : 103-113, 1972.
 - 57) Lassen NA: Measurement of cerebral blood flow and metabolism. *Clin Sci* **62** : 567-572, 1982.
 - 58) Lenzi GL, Frackowiak RSJ, et al: CMRO₂ and CBF by the oxygen-15 inhalation technique results in normal volunteers and cerebrovascular patients. *Eur Neurol* **20** : 285-290, 1981.
 - 59) Lenzi GL, Frackowiak RSJ, et al: Cerebral oxygen metabolism and blood flow in human cerebral ischemic infarction. *J Cereb Blood Flow Metabol* **2** : 321-335, 1982.
 - 60) Lindenberg R: The pathology of the arterial border zones of the brain. *J Neuropathol Exp Neurol* **18** : 348-349, 1959.
 - 61) Lowry OH, Passonneau JV, et al: Effect of ischemia on known substrates and cofactors of the glycolytic pathway in brain. *J Biol Chem* **239** : 18-30, 1964.
 - 62) Lowry OH, Passonneau JV: The relationship between substrates and enzymes of glycolysis in brain. *J Biol Chem* **239** : 31-42, 1964.
 - 63) Marshall LF, Welsh F, et al: Experimental cerebral oligemia and ischemia produced by intracranial hypertension. Part 3: Brain energy metabolism. *J Neurosurg* **43** : 323-328, 1975.
 - 64) Martin WRW, Baker RP, et al: Cerebral blood volume, blood flow, and oxygen metabolism in cerebral ischemia and subarachnoid haemorrhage: An in vivo study using positron emission tomography. *Acta Neurochir* **70** : 3-9, 1984.
 - 65) Meier P, Zierler KL: On the theory of the indicator dilution method for measurement of blood flow and volume. *J Appl Physiol* **12** : 731-744, 1954.
 - 66) Michemfelder JD, Messick JM, et al: Simultaneous cerebral blood flow measured by direct and indirect methods. *J Surg Res* **8** : 475-481, 1968.
 - 67) Naruse S, Horikawa Y, et al: In vivo ³¹P NMR studies on cerebral infarction using topical magnetic resonance (TMR) —Time course of high energy phosphorus compounds content in ischemic and recirculated brain. *Brain Nerve (Tokyo)* **35** : 603-609, 1983.
 - 68) Novack P, Shenkin HA, et al: The effects of carbon dioxide inhalation upon the cerebral blood flow and cerebral oxygen consumption in vascular disease. *J Clin Invest* **32** : 696-702, 1953.
 - 69) Olesen J: Cerebral blood flow methods for measurement regulation, effects of drugs and changes in disease. Thesis, University of Copenhagen, FADLs Forlag, Copenhagen-Arthus-Odense, 1974.
 - 70) Pasztor E, Symon L, et al: The hydrogen clearance method in assessment of blood flow in cortex, white matter and deep nuclei of baboons. *Stroke* **4** : 556-567, 1973.
 - 71) Paulson OB: Cerebral apoplexy (stroke): Pathogenesis, pathophysiology and therapy as illustrated by regional blood flow measurements in the brain. *Stroke* **2** : 327-360, 1971.
 - 72) Power WJ, Martin WRW, et al: Extracranial-intracranial bypass surgery: Hemodynamic and metabolic effects. *Neurology (Cleveland)* **34** : 1168-1174, 1984.
 - 73) Pulsinelli WA, Brierley JB: A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. *Stroke* **10** : 267-272, 1979.
 - 74) Pulsinelli WA, Levy DE, et al: Regional cerebral blood flow and glucose metabolism following transient forebrain ischemia. *Ann Neurol* **11** : 499-509, 1982.
 - 75) Purves MJ, James IM: Observations on the control of cerebral blood flow in the sheep fetus and newborn lamb. *Circ Res* **25** : 651-667, 1969.
 - 76) Purves MJ: *The Physiology of the Cerebral Circulation*, Cambridge University Press, 1972.
 - 77) Ravens JR: Anastomoses in the vascular bed of the human cerebrum. In *Pathology of Cerebral Microcirculation* edited by Navarro JG, Berlin, de Gruyter, p. 26-38, 1974.
 - 78) Reivich M: Arterial PaCO₂ and cerebral haemodynamics. *Am J Physiol* **206** : 25-35, 1964.
 - 79) Risberg J, Ancrì D, et al: Correlation between cerebral blood volume and cerebral blood flow in the cat. *Exp Brain Res* **8** : 321-326, 1969.
 - 80) Romanul FCA, Abramowicz A: Changes in brain and pial vessels in arterial border zones. *Arch Neurol (Chic)* **11** : 40-65, 1964.
 - 81) Sakurada O, Kennedy C, et al: Measurement of local cerebral blood flow with iodo [¹⁴C] antipyrine. *Am J Physiol* **234** (1): H59-H66, 1978.

- 82) Siesjö BK, Zvetnow NN: The effect of hypovolemic hypotension on extra- and intracellular acid-base parameters and energy metabolites in the rat brain. *Acta Physiol Scand* **79**: 114-124, 1970.
- 83) Siesjö BK, Zvetnow NN: Effects of increased cerebrospinal fluid pressure upon adenine nucleotides and upon lactate and pyruvate in the rat brain. *Acta Neurol Scand* **46**: 187-202, 1970.
- 84) Smith AL, Neuffeld GR, et al: Effect of arterial CO₂ tension on cerebral blood flow, mean transit time, and vascular volume. *J Appl Physiol* **31**: 701-707, 1971.
- 85) Snyder JU, Nemoto EM, et al: Global ischemia in dogs: intracranial pressures, brain blood flow and metabolism. *Stroke* **6**: 21-27, 1975.
- 86) Tamura A, Asano T, et al: Measurement of cerebral blood flow with hydrogen clearance method. *Brain Nerve (Tokyo)* **30**: 47-54, 1978.
- 87) Thulborn K, du Bouley GH, et al: In vivo, non invasive measurements of energy metabolism and pH by ³¹P-NMR in experimental stroke: Correlation with cerebral oedema. *J Cereb Blood Flow Metabol (suppl 1)* **1**: S80, 1981.
- 88) Tomita M, Gotoh F, et al: "Low perfusion hyperemia" following middle cerebral artery occlusion in cats of different age groups. *Stroke* **11**: 629-636, 1980.
- 89) Traystman RJ, Rapela CE: Effect of sympathetic nerve stimulation on cerebral and cephalic blood flow in dogs. *Circ Res* **36**: 620-630, 1975.
- 90) Ueda T, Asato R, et al: Research on experimental cerebral infarction in cats with in vivo TMR approach. *Brain Nerve (Tokyo)* **36**: 589-594, 1984.
- 91) Ulrich K, Auer LM: Cat pial vasoconstriction by topical microapplication of norepinephrine. *J Cereb Blood Flow Metabol* **2**: 109-111, 1982.
- 92) Walts AG, Sundt TMJ: The microvasculature and microcirculation of the cerebral cortex after arterial occlusion. *Brain* **90**: 681, 1967.
- 93) Waltz AG: Effect of blood pressure on blood flow in ischemic and nonischemic cerebral cortex: The phenomenon of autoregulation and luxury perfusion. *Neurology (Minneapolis)* **18**: 613-621, 1968.
- 94) Wise RJS, Bernardi S, et al: Serial observations on the pathophysiology of acute stroke: The transition from ischemia to infarction as reflected in regional oxygen extraction. *Brain* **106**: 197-222, 1983.
- 95) Yamaguchi T, Waltz AG, et al: Hyperemia and ischemia in experimental cerebral infarction: Correlation of histopathology and regional blood flow. *Neurology (Minneapolis)* **21**: 565-578, 1971.
- 96) Zvetnow NN: Effects of increased cerebrospinal fluid pressure on the blood flow and on the energy metabolism of the brain. An experimental study. *Acta Physiol Scand (suppl 339)*, 1970.