

[Original Paper]

The new corrected edition of a qualitative and quantitative analysis of gamma-Hydroxybutyrate in human cerebrospinal fluid

Mitsuharu Arai*

* Department of Psychiatry, Aino Hanazono Hospital

Abstract

This is the corrected edition of Arai M.'s previous report on gamma-Hydroxybutyrate (GHB), which has been discovered to have errors in several parts including its title and data. GHB is a pharmacologically important and interesting substance, and Arai first identified its existence in human cerebrospinal fluid (CSF). The existence of GHB in serum, which was wrongly denied in the previous report, still needs further confirmation, though GHB has already been identified in whole blood. Also, in this new report the concentration of GHB in human CSF has been corrected about 6.22-36.36nmol/ml.

Key words : gamma-Hydroxybutyrate, short chain fatty acid derivatives, isotope dilution method

〔原 著〕

人脳脊髄液中の gamma-Hydroxybutyrate の定性及び 定量方法の訂正版

荒 井 光 治*

【要 旨】 荒井らのガンマヒドロキシ酪酸の先のレポートは、タイトル、データその他の数ヶ所で間違っていた。今回の報告は前回の訂正版である。ガンマヒドロキシ酪酸は薬理学的に重要で興味ある物質である。人脳脊髄液中のガンマヒドロキシ酪酸の存在は始めて荒井らが証明した。前回のレポートでは血清中のガンマヒドロキシ酪酸の存在について否定した。そして人脳脊髄液中のガンマヒドロキシ酪酸の濃度を間違えて報告した。人血清中のガンマヒドロキシ酪酸の存在は著者のデータでは明確でない。しかし今日では血液中のガンマヒドロキシ酪酸の存在が明らかにされている。今回の報告で人脳脊髄液中のガンマヒドロキシ酪酸の濃度は約 6.22 ~ 36.36 nmol/ml と訂正した。

キーワード：ガンマヒドロキシ酪酸，低級脂酸誘導体，同位体希釈法

はじめに

Gamma hydroxybutyrate (GHB) は, Gamma-aminobutyric acid (GABA) の代謝産物である低級脂酸誘導体で, 有力な脳に存在する中枢神経抑制的学伝達物質である事がよく知られている¹⁾。GABA 機能の研究は血液脳関門を通過せず研究が邪魔されてきたが, 血液脳関門を速やかに通過する GABA 類似物が Laborit により合成され²⁾その GABA 代謝産物である GHB³⁾ が人の脳脊髄液中に存在する事を荒井らが証明した⁴⁾。GABA 類似物である GHB は明確な中枢神経鎮静作用⁵⁾や睡眠作用^{2,6,7)}等の薬理学的効果を示し初期には一般麻酔薬として使用された⁸⁾が明白な多幸を誘発する薬剤^{9,10)}としても民間で広まり, 特に燃える様な色彩のクラブで使用されたり運動家に秘密に使用されたり^{11,12)}催淫薬として不法に広まった¹³⁾。又 “date rape” 薬物としても使われた¹⁴⁾。荒井らの

前回の報告のデータは間違っており未だ人の脳脊髄液中での GHB の定量についての正確な報告はない。著者は RI ligand を用いた同位体希釈法により極めて精度の高い定量法を開発したが, 今回の報告はタイトル, データ, データの基礎となる比放射能値及び血清中の存在等についての前回の報告の訂正版である。本法は脳機能の解明に関して, 今後の薬理学的研究の進歩に益すると考える。

対象と方法

生物標本

血清については, 早朝空腹時に年齢 25 ~ 30 歳位の健康者男子の肘静脈より採取して, 直ちに氷冷し, 0°C にて 2,000 rpm で約 20 分遠沈して得た血漿 1.0 ml を測定に用いた。

人の脳脊髄液は, 腰椎穿刺により得て, 臨床病理学

* 藍野花園病院精神科

教室に診断の為提出され不要になった CSF を分けてもらい、凍結保存し、使用にあたって再度溶解し、1.0 ml を測定に供した。

実験材料及び試薬

使用したクロロホルム、アセトニトリル、トルエン、ヘキサン、アセトン、ベンゼン、エチルアルコール等の溶媒は、すべて和光純薬工業の特級試薬を用い、必要に応じては精製して用いた。一次元の展開溶媒は [1] クロロホルム：ヘキサン：アセトニトリル：ベンゼン = 6 : 6 : 3 : 2 (V/V)、あるいは、[2] ヘキサン：アセトン = 1 : 1 (V/V) とし、二次元の展開溶媒は、[3] トルエン：アセトニトリル：クロロホルム：アセトン = 2 : 1 : 1 : 1 (V/V) の割合の混合溶媒を用いた。Dansyl semi piperazide は、蒸留器を用いて蒸留して再結晶して精製したものをを用いた。Dansyl semi piperazide は、クロロホルム溶液として保存し、使用にあたっては 31.1 $\mu\text{mol/ml}$ の Dansyl semi piperazide-クロロホルム溶液として使用した。

(1- ^{14}C) GHB は Na 塩として、Service des Molécules Marquées Fabriqué par CEA-FRANCE より購入した。原液の比放射能は 10 mCi/mmol (22,200 dpm / nmol) である。使用は 30,800 dpm (1.387 nmol)/0.1 ml の (1- ^{14}C) GHB とし蒸留水に溶解させた。

放射能の測定に用いたシンチレーターは、5 g の 2-5-diphenyl oxazol と 0.3 g の 1-4-bis [2-(4-methyl-5-phenyl-oxazolyl)]-benzene を 1000 ml の Toluene 中に含んでいる。

薄層クロマトグラフィ用のシリカゲルは、ワコーゲルの B-10 を用い、20 cm \times 20 cm で、0.5 mm の厚さとし、110°C で 24 時間処理して活性化させたものをを用いた。

測定器具

放射能の測定には、Packard-Tricarb 液体シンチレーションカウンターの 3,330 Model を用いた。

薄層クロマトグラフィ上のスポットの蛍光の識別には 3650 Å の長波のマナスライトを用いた。希釈に用いた基準の比放射能値は厳密には 22,206 dpm/nmol が正しい値であるが、計算の都合上 22,200 dpm/nmol とした。

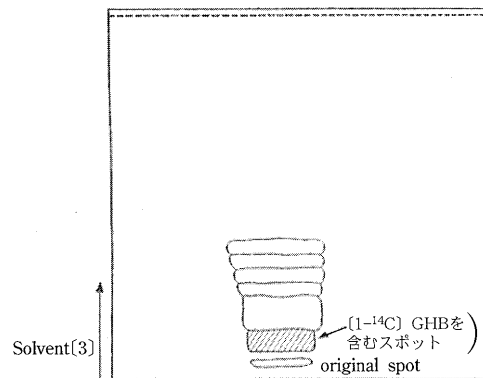


Fig. 1 GHB 展開図 1

既知量の (1- ^{14}C) GHB 標準液を加えた CSF or Serum 中の Fatty acids と Dansyl-piperadine 反応物の溶媒 [3] を用いた 1 次元展開図

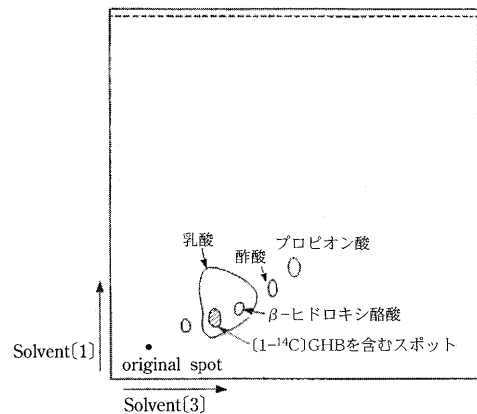


Fig. 2 GHB 展開図 2

1 次元展開で同位置に重なった (1- ^{14}C) GHB dansyl piperazide を含む spot の抽出物の 2 次元展開による低級脂酸の分離図

測定方法及び結果

方法は蛍光物質の Dansyl-piperadine を、N-N' dicyclohexyl-Carbodiimide (DCC) の存在下で、既知量の (1- ^{14}C) GHB を CSF 又は血清に加えて、内在性の GHB と混合させてから、DCC の存在下で Dansyl-piperadine と反応させ、その放射能を含む GHB-dansyl-piperazide として抽出し、何度も展開して、薄層クロマトグラフィ上で単独の GHB のスポットに分離するまで 2 次元展開を行う。抽出された GHB に更に Diketene を反応させアセト酢酸エステルを形成させて、薄層クロマトグラフィ上で、誘導された Acetoacetyl-gamma-oxybutyric acid dansyl-piperazid のスポットとして検出し、GHB としての同定を更に確実にした上で、そのスポット部分の比放

射能の希釈率の測定を行う同位体希釈法によって試料中の GHB の定性定量を可能にした。即ち脳脊髄液 (CSF) あるいは血清の 1.0 ml を 25 ml の目盛りつき共栓試験管中に採取して、(1-¹⁴C) GHB 溶液 0.1 ml (30,800 dpm / 1.387 nmol) を添加する。1 N-H₂SO₄ を 0.1 ml 加えて酸性としてから Chloroform 5 ml 加える。これに Acetonitrile を総量が 25 ml となる様に加えてよく混和してから無水塩化カルシウムを約 1.5 g 加える。軽く混和して 30 分間放置する。この上清または濾液の沈下物を除いた全量を取り、Dansyl semi piperazide のクロロホルム溶液を 1.0 ml (31.1 μmol) 及び 150 mg の DCC を加えて、混和して、室温に 30 分間放置する。

析出する沈下物を除去した混合液を 30°C 以下の湯浴にてナスコルベンを用いてエバポレーターにて約 0.1 ml 位に減圧濃縮する。濃縮した混合液を全量薄層板上に線状にスポットする。これを溶媒 [3] を用いて 1 次元展開を行う。放射能をもつ蛍光のある (1-¹⁴C) GHB を含んだスポットは原点近くに出現する (Fig. 1)。その部分を削り取り、約 10 ml のエタノールで抽出する。この全量を出来るだけ少量に濃縮し、その全量を薄層板上に点状にスポットし、溶媒 [1] を用いて 1 次元展開をし、溶媒 [3] を用いて 2 次元展開を施す。

蛍光のあるスポットが (Fig. 2) の様に出現する。乳酸、β-ヒドロキシ酪酸、酢酸、プロピオン酸等の低級脂酸及び低級脂酸誘導体の Dansyl-piperazide が GHB-dansyl-piperazide と共に検出される。このうち放射能のあるスポットが乳酸の Dansyl-piperazide の薄く広がったスポット中に重なって現われるので乳酸のスポットを全部削り取りエタノールで抽出し、エタノール抽出液はコルベン中で減圧乾固し、0.5 ml の CCl₄ を加えて溶解する。これに 0.1 ml の Diketene を添加して Acetoacetyl 化させる。溶媒をエバポレーターを用いて殆ど溜去する。残留物を極少量のエタノールに溶解してその全量を薄層板上にスポットし、溶媒 [1] と [3] を用いて、2 次元展開する。

薄層板上に、4 つのスポットが出現する (Fig. 3)。この 4 つのスポットのうち、放射能はスポット①と③に出現する。スポット①と③は Authentic の γ-hydroxybutyric acid から調整した γ-hydroxybutyric acid dansyl-piperazide 及び γ-acetoacetyl-o-butyr-ic acid dansyl-piperazide にそれぞれ一致した。各々のスポットの抽出液について放射活性量を測定した (Table 1)。Table 1 の A は CSF に、B は Serum

に既知量の C ((1-¹⁴C) GHB) を加えてから前記処理を行って得られたクロマトグラフィー上のスポットで、C は添加する (1-¹⁴C) GHB の試料をそのまま処理して出来たそれぞれのスポットについての蛍光あたりの比放射能である。C のスポットでは用いた (1-¹⁴C) GHB の比放射能が 22,200 dpm であり、これから出来た Dansyl 化物の比放射能は Spot. ①の gamma hydroxybutyric acid dansyl-piperazide も、それを更に Aceto-Acetyl 化した Spot. ③も比放射能はそれぞれ 21,000 dpm と 21,735 dpm で使用した標準の (1-¹⁴C) GHB に殆ど相等しい比放射能を示している。しかし A の CSF の場合には 3 例について何れも比放射能は 3 分の 1 から 10 分の 1 に低下している。このことは CSF においては内在性の GHB によって添加した (1-¹⁴C) GHB の比放射能の希釈されたものと考えられる。Spot. ①と Spot. ③の比放射能の一致は Spot. ①が gamma hydroxybutyric acid dansyl-piperazide である事を Spot. ③の Acetoacetyl 化物によってさらに確認したもので、CSF 中には gamma hydroxybutyrate が存在する事を定性的に確かめたものである。これに対して、血清中では比放射能の希釈が殆ど認められず症例数が少ない為に、GHB の血清中の存在は手技の誤差もあり、早朝空腹時の血清においては明らかな存在は不明である。微量存在する可能性も否定出来ない。最近では血液中に存在するとの報告が出ている。さらに Table 2 に示す様に、添加した (1-¹⁴C) GHB の希釈度から内在性の GHB の存在量を計算する事が出来る。計算は公式により算出する事ができる。公式は著者の前回の報告⁴⁾を参照されたい。(Table 2) の C は放射能測

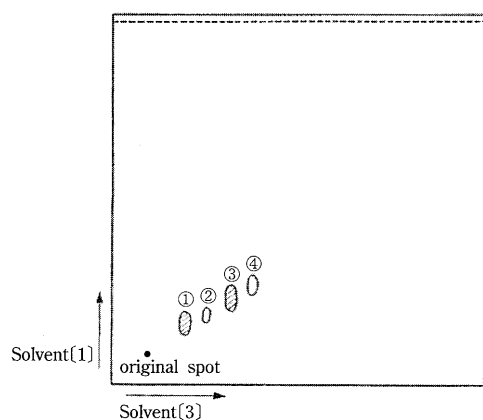


Fig. 3 GHB 展開図 3
(1-¹⁴C) GHB を含む GHB dansyl-piperazide 及び乳酸 dansyl piperazide とそれぞれのエステル化物の 2 次元展開図

定の液体シンチレーションカウンターで求めた値である。

公式により CSF 中の GHB の濃度を求めた。又血清では手技の誤差もあり比放射能の希釈が不明のため濃度の計算を行わなかった。尚使用した CSF は東京医科大学脳外科学教室において臨床の診断の為に臨床病理検査室に提出され、検査済みで不要になった CSF を凍結保存しておいてもらい実験に供した。

実験に供した 8 例の値は約 6.22 ~ 36.36 nmol/ml である。測定した 8 例の CSF 中の濃度は Table 2 の通りであり、これは全部疾患の症例ばかりである。CSF は、無作為に抽出したものであり、研究当初は、年齢、性別、疾患の種類等は、GHB が人に存在するか、研究が成功するかだけを考えて注意する余裕がなかった。年齢、性別、罹患する疾患あるいは、その他の因子により、中枢神経系内の GHB 値が変動する事も十分考えられる。Fig. 3 のスポット②とスポット④は蛍光スポットとして重なりあっていた乳酸ダンシルピペラジッドと Diketen により精製した Acetoacetyl lactic acid dansyl-piperazide である。この方法の測定精度は放射活性測定法の精度に律せられるから非常に高精度が得られる。

考 察

以上の実験で明らかのように GHB は、人脳脊髄液中に約 6.22 ~ 36.36 nmol/ml の濃度で存在する。又、著者の実験した血液及びリコールの GHB の濃度の値でも解る様に、血液では存在しても濃度が微量でリコールの数分の一しかなく、GHB は中枢神経系で主に作用する物質と思われる。GHB の脳内分布としては黒質、視床、視床下部に大量に含まれ大脳皮質のある部位と小脳には少量である^{15,16)}。GHB の移動率は分布状況と同様のパターンを示し、GABA と GHB の容量とは良い相関関係がある¹⁶⁾。4-ヒドロキシ酪酸尿症では大量の succinic semialdehyde が GHB に転換しており、軽度から中等度の精神遅滞、失調症、痙攣、言語障害を来す¹⁷⁻²⁰⁾。もっと重症の神経症状としては、抹消神経症状として網膜の損傷、錐体外路症状、痙攣が報告されている²¹⁾。他の遺伝的異常では、startle disease が知られているが異常な GHB 機能を示し、Berthier et al²²⁾ らは GHB の容量が極めて高く、GHB の薬剤の麻酔効果では死ななかつたと報告している。GHB は実験動物で異常脳波である癲癇小発作を引き起こす²³⁻²⁵⁾。かなりの高容量の GHB 投与で、異なる脳の部位でアセチルコリンのレベルが増加する²⁶⁾。動物への GHB の投与で、ドパミン系活動が脳の第一次神経節では減少する^{27,28)}。GHB は成長ホルモンの放出を増加させる^{29,30)}のでボディビルダーと

Table 1 GHB の希釈：CSF or Serum による (1-¹⁴C)GHB の比放射能の希釈。各々 Dansyl piperazide 化したもの、更にその Acetoacetyl 化したもののクロマトグラフィ上の比放射能を示す。

資料 No.	A (CSF+C)			B (Serum+C)		C((1- ¹⁴ C)GHB)
	(1)	(2)	(3)	(1)	(2)	対照 (22,200 dpm)
spot. 1 dpm/FI	2.213	6.137	2.627	24,100	23,230	21,000
spot. 3 dpm/FI	2.127	6.661	3.010	20,690	22,330	21,735

Table 2 CSF 中の GHB の希釈と濃度

Case	(A) 添加した (1- ¹⁴ C)GHB の比放射能 (dpm/n mol)	(B) CSF に添加した (1- ¹⁴ C)GHB 量 (n mol)	(C) CSF を添加した事により 希釈された(1- ¹⁴ C)GHB 誘導体の比放射能 (dpm/n mol)	$\left(\frac{A}{C}-1\right) \times (B)$ 同位体希釈法により計 算した CSF 中濃度 (n mol/ml)
1	22,200	6.935	6,661	16.178
2	22,200	6.935	8,327	11.55
3	22,200	1.387	2,627	10.334
4	22,200	6.935	7,200	14.448
5	22,200	6.935	9,005	10.16
6	22,200	6.935	9,200	9.799
7	22,200	6.935	11,700	6.22
8	22,200	6.935	3,556	36.36

健康食品嗜好者にとって不適当な使用をさせる様になった³¹⁾。又 GHB はダイエットへの補助と不眠の治療をする人に使用された³²⁾。GHB は大きな噂を呼び多幸を引き起こす薬剤として民間で自己服用する様になった。Dyer⁹⁾、Chin³²⁾ らが幾つかの GHB の副作用について観察した。症状はうとうと (傾眠)、昏睡、一般的な発作、徐脈、めまい等である。Roth³³⁾ は GHB の過剰服用で、単独あるいはアルコールと一緒に服用して、昏睡状態に至ったケースを報告している。1992 年迄におよそ 40 症例、GHB のレクリエーション的使用で神経中毒が報告され、その当時では使用が増加していると報告している³⁴⁾。又レクリエーション的使用で 6 例死亡例が報告され GHB の服用と関係があると報告している¹⁴⁾。GHB の身体依存の症例が少なくとも 1 例報告されている。30 歳の女性が GHB の毎日の服用を 1 年続け止めようとした所、振戦と不眠を伴う不安を経験した。GHB からの離脱のせいである³⁵⁾。GHB により引き起こされた Wernicke-korsakoff 症候群の例が報告されている。数ヶ月の GHB の

慢性的使用で失調及び知覚と眼球運動の問題を引き起こした³⁶⁾。この患者は thiamine で治療され 2～3 日後に良くなった。ナルコレプシーの睡眠発作とその随伴症状としてのカタプレキシー、麻痺は GHB での治療でその症状が軽減される³⁷⁻⁴⁰⁾。それでナルコレプシーの症状のカタプレキシーの治療薬として唯一の薬剤として認可された。又繊維筋痛症の治療薬としても計画されている。GHB はアルコール依存症の治療薬や他の薬物耽溺の治療薬として有効かもしれない。GHB は動物ラットのアルコール依存を示すアルコール自己服用ラットの離脱症状を減じた^{41,42)}。この薬物依存の GHB での治療には、さらなる研究を待たねばならない。以上の考察は、Tunnicliff⁴³⁾ 氏の論文を参考にした。

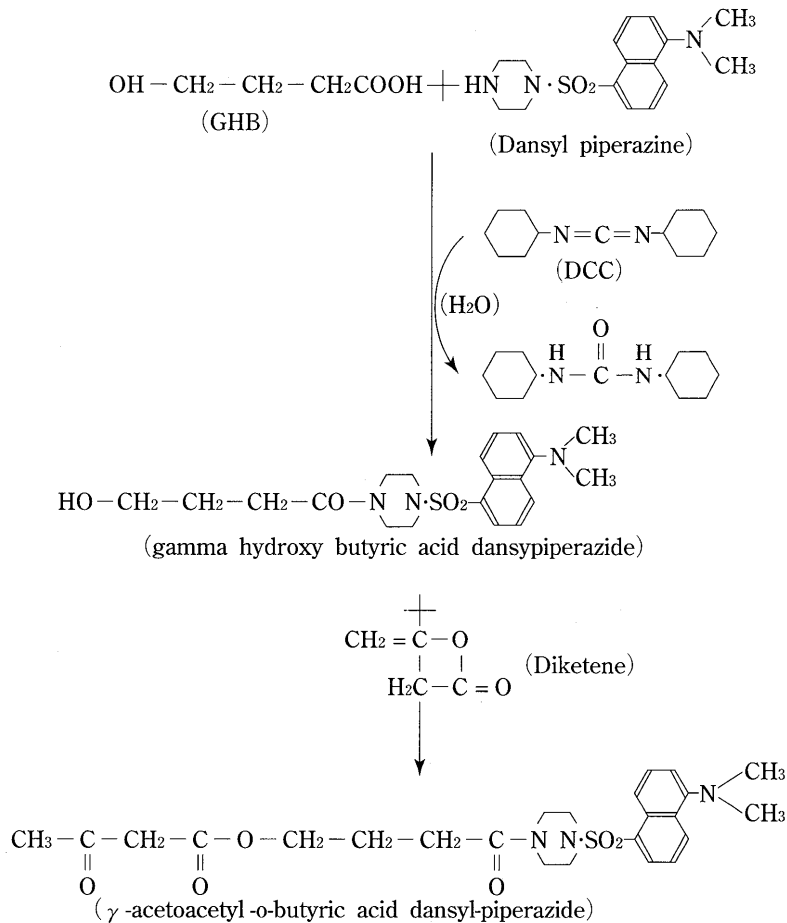


Fig. 4 反応原理

ま と め

GHBはドパミン系神経を調節する抑制的神経伝達物質である。

GHBは明らかな薬理的効果を示す中枢神経抑制物質である。

GHBは、血液では症例数が少ないが、早朝空腹時の食事の影響を排除された状態では中枢神経に移行して、殆んど含まれないと考える。この事については再度の確認を要する。

GHBは人の脳脊髄液中に約6.22～36.36 nmol/ml存在する。これは疾病の人脳脊髄液を検体として使い推論であって断定は出来ないという意見もあるがGHBは人の脳組織では動物脳より濃度が高いと考えられないだろうか。間接的作用かも知れないが人では動物より性の周期が短く回数が多いという事と関係ないだろうか、今後の研究がまたれる。敢えて暴論を述べてみた。

GHBは昏睡状態を引き起こす性質を持っているので、アルコールと一緒に混ぜられて“date rape”薬物として不正に使用された。

臨床医はGHB服用による臨床症状と副作用について知っておかねばならない。民間人での不正使用と乱用は中毒学者にとってのっぴきならぬ事態となる。従ってGHBの不正販売と乱用は規制されてしかるべきであるが、GHBについては中枢神経抑制物質として今後の更なる薬理学的研究の進歩が待たれると共に幸福をもたらす作用についてさらなる研究の進歩を期待する。

文 献

- 1) Krnjevic K. Significance of GABA in brain function. In: GABA Mechanisms in Epilepsy Tunnicliff G, Raess BU, eds., New York: Wiley-Liss, 1991: 47-87.
- 2) Laborit H. Sodium 4-hydroxybutyrate. *Int. J. Neuropharmacol* 1964; 3: 433.
- 3) Roth RH, Giarman NJ. Conversion in vivo of gamma amino butyric acid to Gamma Hydroxybutyric acid in the Rat. *Biochemical Pharmacology* 1969; 18: 247-50.
- 4) 荒井光治, 山根基輝. 人脳脊髄液の Gamma-hydroxy-butyrate の定量方法ならびに正常含有量. *東医大誌* 1988; 46 (3): 432-7.
- 5) Roth RH, Giarman NJ. Evidence that Central Nervous System depression by 1,4-butanediol is mediated through a metabolite, Gamma-hydroxybutyrate. *Biochem Pharmacol* 1968; 17: 735-9.
- 6) Laborit H et al. Sur un substrat metabolique action centrale inhibitrice le 4-hydroxybutyrate de Na. *Presse med* 1964; 68: 1967.
- 7) Jouvet M et al. Effects du 4-butyrolactone et du 4-hydroxybutyrate de sodium sur-1 E. E. G. et al *comportment du Chat. C. R. Soc Biol* 1961; 155: 1313.
- 8) Laborit G, Larcan A, Kind A. Le gamma hydroxybutyrate en anesthesia neuro-chirurgicale. 1962; 8: 104-7.
- 9) Dyer JE. γ -Hydroxybutyrate: a health-food product producing coma and seizurelike activity. *Am J Emerg Med* 1991; 9: 321-4.
- 10) Stell JM, Ryan JM. Gamma-hydroxybutyrate is a new recreational drug that may lead to loss of consciousness. *BMJ* 1996; 313: 424.
- 11) Viera AJ, Yates SW. Toxic ingestion of gamma-hydroxybutyric acid. *South Med J* 1999; 92: 404-5.
- 12) Suner S, Szlatenyi CS, Wang RY. Pediatric gamma hydroxybutyrate intoxication. *Acad Emerg Med* 1997; 4: 1041-5.
- 13) Li J, Stokes SA, Woeckener A. A tale of novel intoxication: seven cases of gamma-hydroxybutyric acid overdose. *Ann Emerg Med* 1998; 31: 723-8.
- 14) Ropero-Miller JD, Goldberger BA. Recreational drugs. Current trends in the 90s. *Clin Lab Med* 1998; 18: 727-46.
- 15) Snead OC, Morley BJ. Ontogeny of γ -hydroxybutyric acid. I. Regional concentration in developing rat, monkey and human brain. *Brain Res* 1981; 227: 579-89.
- 16) Vayer P, Ehrhardt J-D, Gobaille S, Mandel P, Maitre M. Gamma-hydroxybutyrate distribution and turnover rates in discrete brain regions of the rat. *Neurochem Int* 1988; 12: 53-59.
- 17) Jacobs C, Bojasch M, Monch E, Rating D, Siemes H, Hanefeld F. Urinary excretion of gamma-hydroxybutyric acid in a patient with neurological abnormalities. *Clin Chim Acta* 1981; 111: 169-78.
- 18) Divry P, Baltassat P, Rolland MO, Cotte J, Hermier M, Duran M, Wadman SK. A new patient with 4-hydroxybutyric aciduria, a possible defect of 4-aminobutyrate metabolism. *Clin Chim Acta* 1983; 129: 303-9.
- 19) Onkenhout W, Maaswinkel-Mooij PD, Poort-

- huis BJHM. 4-Hydroxybutyric aciduria: further clinical heterogeneity in anew case. *Eur J Pediatrics* 1989; 149: 194-6.
- 20) Rating D, Hanefeld F, Siemes H, Kneer J, Jacobs C, Mermier M, Divry P. 4-Hydroxybutyric aciduria: a new inborn error of metabolism. I. Clinical review. *J Inherited Metab Dis* 1984; 7 (Suppl): 90-2.
- 21) Rahbeeni Z, Ozand PT, Rashed M, et al. 4-Hydroxybutyric aciduria. *Brain Dev* 1994; 16 (Suppl): 64-71.
- 22) Berthier M, Bonneau D, Desbordes J-M, Chevrel J, Oriot D, Jaeken J, Laborit H. Possible involvement of a gamma-hydroxybutyric acid receptor in startle disease. *Acta Paediatr* 1994; 83: 678-80.
- 23) Winters WD, Spooner CE. Various seizure activities following gamma-hydroxybutyrate. *Int J Neuropharmacol* 1965; 4: 197-200.
- 24) Godschalk M, Dzoljic MR, Bonta IL. Slow wave sleep and a state resembling absence epilepsy induced in the rat by γ -hydroxybutyrate. *Eur J Pharmacol* 1977; 44: 105-11.
- 25) Snead OC. γ -Hydroxybutyrate model of generalized absence seizures: Further characterization and comparison with other absence models. *Epilepsia* 1988; 29: 361-8.
- 26) Giarman Nj, Schmidt KF. Some neurochemical aspects of the depressant action of γ -butyrolactone on the central nervous system. *Brit J Pharmacol* 1963; 20: 563-8.
- 27) Anden N-E, Magnusson T, Stock G. Effects of drugs influencing monoamine mechanisms on the increase in brain dopamine produced by axotomy or treatment with gamma-hydroxybutyric acid. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1973; 278: 363-72.
- 28) Walters JR, Rosh RH, Aghajanian GK. Dopaminergic neurons: Similar biochemical and histochemical effects of γ hydroxybutyrate and acute lesions of the nigro-neostriatal pathway. *J Pharmacol Exp Ther* 1973; 186: 630-9.
- 29) Takahara J, Yunoki S, Yakushiji W, Yamane, Ofuji T. Stimulatory effects of gamma-hydroxybutyric acid on growth hormone and prolactin release in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1977; 44: 1014-17.
- 30) Gerra G, Marcato A, Fertonani Affini G, et al. Gamma-hydroxybutyric acid (GHB) and neuroendocrine function in humans. *Neuroendocrinol Lett* 1994; 16: 55-63.
- 31) Steele MT, Watson WA. Acute poisoning from gamma-hydroxybutyrate (GHB). *Mc Med* 1995; 92: 354-7.
- 32) Chin M-Y, Kreutzer RA, Dyer JE. Acute poisoning from γ -hydroxybutyrate in California. *West J Med* 1992; 156: 380-4.
- 33) Roth TM. Gamma-hydroxybutyrate overdose: Two cases illustrate the unique aspects of this dangerous recreational drug. *J Em Nursing* 1995; 21: 374-6.
- 34) Carter J, Mofenson H, Caraccio T, et al. Gamma-hydroxybutyrate use-New York and Texas. 1995-1996. *Morb Mortal Wkly Rep* 1997; 46: 281-3.
- 35) Galloway GP, Frederick SL, Staggers F. Physical dependence on sodium oxybate. *Lancet* 1994; 343: 57.
- 36) Friedman J, Westlake R, Furman M. "Grievous bodily harm": Gamma-hydroxybutyrate abuse leading to a Wernicke-Korsakoff syndrome. *Neurology* 1996; 46: 469-71.
- 37) Broughton R, Mamelak M. The treatment of narcolepsy-catalepsy with nocturnal gamma-hydroxybutyrate. *Can J Neurol Sci* 1979; 6: 1-6.
- 38) Scharf MB, Brown D, Woods M, Brown L, Hirschowitz J. The effects and effectiveness of γ -hydroxybutyrate in patients with narcolepsy. *J Clin Psychiatr* 1985; 46: 222-5.
- 39) Mamelak M, Scharf MB, Woods M. Treatment of narcolepsy with γ -hydroxybutyrate. A review of clinical and sleep laboratory findings. *Sleep* 1986; 9: 285-9.
- 40) Lammers GJ, Arends J, Declerck AC, Ferrari MD, Schouwink G, troost J. Gamma-hydroxybutyrate and narcolepsy: A double-blind placebo-controlled study. *Sleep* 1993; 16: 216-20.
- 41) Fadda F, Argiolas A, Melis MR, De montis G, Gessa GL. Suppression of voluntary ethanol consumption in rats by gamma-butyrolactone. *Life Sci* 1989; 32: 1471-7.
- 42) Fadda F, Mosca E, Colombo G, Gessa GL. Suppression by gamma-hydroxybutyric acid of ethanol withdrawal syndrome in rats. *Alcohol Alcoholism* 1989; 24: 447-51.
- 43) Tunnicliff G. Sites of action of Gamma-Hydroxybutyrate (GHB) - a neuroactive drug with abuse potential. *J Toxicol Clin Toxicol* 1997; 35 (6): 581-90.