

# 산소유리기의 뇌 손상작용에 대한 NMDA 수용체 길항제(MK-801)의 방어효과 — CO중독 흰쥐에 대한 고압산소 치료 과정에서 —

성애병원\*, 한양대학교 의과대학 예방의학교실

정대은\* · 류승호 · 조진아 · 송재철\*\* · 박항배

— Abstract —

## Protective Effects of the NMDA-receptor Antagonist (MK-801) for the Brain Injury by Oxygen Free Radical — In the Hyperbaric Oxygen Treatment of CO Poisoned Rat —

Dae Eun Jung\*, Seung Ho Ryu, Jin A Cho,  
Jae Cheol Song, Hung Bae Park

*Seong-ae Hospital\*, Department of Preventive Medicine,  
Hanyang University College of Medicine*

The effects of NMDA-receptor antagonist(MK-801) were assessed for the oxygen free radical mediated brain(hippocampus) injury with eighty rats which were exposed to carbon monoxide(CO) followed by hyperbaric oxygen(HBO) treatment. Superoxide dismutase(SOD) and malondialdehyde(MDA) were used as parameters of the oxygen free radical reaction. Experimental groups consisted of (1) control group(=breathing with air), (2) CO group(=exposed to CO after air breath), (3) CO-air group(exposed to CO after air breath followed by air breath), and (4) CO-HBO group(=exposed to CO after air breath followed by 3 ATA HBO). Each group was divided two subgroup according to the pretreatment(normal saline or MK-801).

CO, CO-air and HBO groups increased in SOD activity as compared with control group. And CO-air and HBO groups increased in MDA as compared with control and CO group. Pretreatment of MK-801 decreased SOD activities significantly(p-value<.05), but MDA amount not significantly(p-value=.107). These results suggest a useful protective effect of NMDA-receptor antagonist(MK-801) in CO induced hippocampal injury mediated by oxygen free radicals.

**Key Words** : Oxygen free radical reaction, Carbon monoxide, Hyperbaric oxygen, NMDA-receptor, MK-801

## I. 서 론

고압산소 치료의 과정에서 발생하는 산소중독은 이미 200여년 전부터 알려져 왔다. 1950년대 초 수정체 후 증식증(retrorenal fibroplasia)이 신생아에 대한 산소 치료 과정에서 발생된다는 사실이 밝혀진 이후 더욱 주목받고 있으며, Cross(1987)는 40개 이상의 질환이 산소중독에 기인하여 발생된다고 주장하였다.

산소중독의 기전은 조직에 직접 과량의 산소를 투여한 많은 실험에서 반응성산소대사산물의 증가가 관찰(Freeman & Crapo, 1981; Pryor, 1986; Raffin, 1981)됨으로써, 방사선 조사로 인하여 발생하는 생체 손상의 기전과 같은, 반응성산소대사산물에 의하여 유도되는 산소유리기반응(oxygen free radical reaction)일 것이라는 이론(Gerschman, 1954)이 가장 중요한 기전으로 인정되고 있다.

허혈-재관류 손상(ischemia-reperfusion injury)은 허혈 상태의 조직에 혈류가 다시 흐르는 과정에서 나타나는 장기의 손상으로 정의할 수 있는데 (Packer 등, 1990), 반응성산소대사산물은 허혈 조직의 재관류 때 많이 발생하며, 조직 손상에 가장 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Hall & Travis, 1988; Packer 등, 1990, Zhang & Piantadosi, 1992). 재관류 때 반응성산소대사산물이 발생하는 기전은 다양하게 설명되고 있으나, 조직의 xanthine oxidase의 역할이 가장 중요한 것(Kontos, 1989)으로 알려져 있다. 이 때의 대표적 손상 기관은 심장, 대뇌, 장, 췌장 등(Packer, Lester; Glazer, & Alexander, 1990)이고, 특히 고압산소를 이용한 치료 과정에서 발생하는 산소중독의 주요 손상기관은 중추신경계와 폐(Davis 등, 1977; Fisher, 1958)이다. 이는 조직의 산소 공급 및 소모량과 관계 있을 것이다. 즉 허혈-재관류의 과정에서 산소유리기반응이 일어나며, 이 반응을 유발하는 반응성산소대사산물의 생성은 산소 분압에 크게 의존(Jamieson 등, 1986)한다.

고압산소요법은 CO중독 환자에 대하여 추천되고 있는 최선의 치료법으로, 저산소 상태의 조직에 과량의 산소를 공급함으로써 조직의 재산소화를 촉진하기 위해 순수 산소로 절대 기압 3기압 정도에서 시행하

고 있다(윤덕로 등, 1981; Myers & Schnitzer, 1985). 이 때, CO에 의한 저산소 상태 이후 과량의 산소를 투여할 때의 현상과 허혈-재관류의 현상을 동일시하는 데는 이론의 여지가 있지만, 현재까지 밝혀진 허혈과 일산화탄소중독과 관련된 조직 손상의 기전은 저산소 상태의 조직에 공급되는 산소의 역할이 가장 중요할 것으로 생각된다. Torock 등(1984)의 연구결과에서도 허혈과 무관한 단순 저산소증에 이어지는 재산소화에서 허혈-재관류 때보다는 적으나, 다량의 반응성산소대사산물이 생성되어 이로 인한 손상의 작용 가능성을 제시하였다.

반응성산소대사산물의 생체에 대한 유해작용은 효소 활성도의 변화 및 조직학적 변화 등 여러 방법을 통하여 확인할 수 있는 데, McCord(1969)에 의해 발견된 SOD은 산소유리기반응에 대항하는 효소로서, 반응의 지표로 널리 사용되며, 또한 불포화지방산 특히, Malondialdehyde(MDA) (Haugaard, 1968; Jamieson 등, 1986)의 측정이 가장 널리 사용되는 방법이다.

항상성(homeostasis)이 유지되는 조건에서도 흡입한 산소의 5-10%가 반응성산소대사산물로 대사되지만(Clark, 1986) superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase와 같은 생체 내 항산화 효소와 lactoferrin, transferrin과 같은 철 결합 단백질(iron binding protein) 등에 의해 보호된다. 항산화제로는 vitamin E,  $\beta$ -carotene, ascorbic acid와 합성 butylated hydroxyanisole(BHA) 등이 사용되고 있는데, 특히 Clineschmidt(1982) 등에 의해 발견된 MK-801 (+)-5-methyl 10-,11-dihydro-5H-dibenzo[a, d] cyclohepten-5,10-imine은 항산화 효과가 있는 NMDA 수용체 길항제로서 blood brain barrier(BBB)의 투과가 용이하여, 항 경련제로도 쓰이고 있다(Woodruff 등, 1987).

본 연구에서 이용된 해마는 산소 결핍에 쉽게 손상 받는 기관(Diemer & Siemkowicz, 1981; Pulsinelli 등, 1982a)으로 재관류 또는 재산소화의 연구에 유리하고(Beckman 등, 1986), 특히 일산화탄소중독 환자들에 있어서 회복 후 후유증이 생기는 대표적 장기이다(Choi, 1983; Smith & Brandon, 1973). 또한 MK-801은 중추신경계를 쉽게 투과할 수 있을 뿐 아니라, 해마에 특이적 결

합 장소 즉 MK-801에 대한 NMDA 수용체가 많기(Woodruff 등 1987, Wong 등1986) 때문에 실험 설계상의 장점이 있다.

이 연구는 흰쥐를 이용하여 일산화탄소 호흡으로 인한 저산소상태의 동물에게 고압산소를 투여할 때, 효소 및 관련 대사산물의 발생량 변화를 지표로 산소유리기반응의 증가를 검증하고 이에 대한 NMDA 수용체 길항제(MK-801)의 방어효과를 구명하기 위한 것이다.

## II. 연구 방법

실험 동물은 200-250gm의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 사용하였고, 각 조건에 10마리씩 실험하였다. 일산화탄소는 흰쥐의 LD50으로 보고(송 등, 1991)된 4,000ppm의 농도를, 고압산소는 100%의 료용을 사용하였다. NMDA 수용체 길항제인 MK-801은 체중(Kg) 당 5mg을 복강 내 주입하였다. 생리식염수와 MK-801 전 처리군을 각각 4가지 폭로 조건으로 나누어 총 8군으로 하였다(Table 1).

폭로 장치는 내경 37cm, 외경 40cm, 길이 80cm의 원통형 아크릴 수지로 제작된 실험용 고압 폭로 장치를 사용하였다. 초기에 CO 또는 대기, 산소를 실험조건에의 농도로 상승시키기 위하여 분당 30리터로 10분간 관류한 후 각 조건에서 30분씩 폭로하였다(Fig. 1). 동일 실험군에서 조건을 바꿀 때에도 역시 분당 30리터로 10분간 관류한 후, 해당 조

**Table 1.** Experimental conditions and number of animals for measuring SOD activity and MDA amount in hippocampus of the rats

| Group  | Condition*    | pretreatment  |        |
|--------|---------------|---------------|--------|
|        |               | Normal Saline | MK-801 |
| Air    | Air*⇒Air⇒Air  | 10            | 10     |
| CO     | Air⇒CO**      | 10            | 10     |
| CO-Air | Air⇒CO⇒Air    | 10            | 10     |
| CO-HBO | Air⇒CO⇒HBO*** | 10            | 10     |

\* 30 minutes exposure for each subcondition

\* Air 21% O<sub>2</sub>, 1 ATA

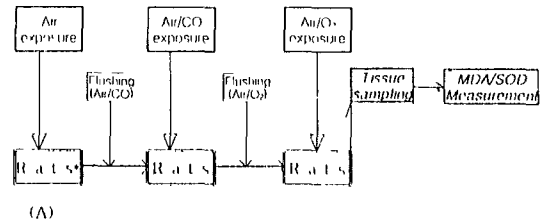
\*\* CO 4000PPM

\*\*\* HBO · 100% O<sub>2</sub> 3ATA

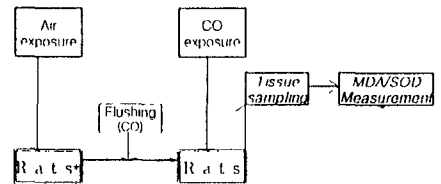
건의 가스의 관류를 분당 10리터로 유지하였고, 폭로 종료 후 시료 처리의 시간을 줄이기 위하여 5마리를 한 실험 단위로 시행하였다.

정량을 위한 시료 처리를 위하여 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KCl로 potassium phosphate buffer(PB)를, PB와 NaCl로 potassium phosphate buffer red saline(PBS)을 제조하여 사용하였다. 폭로를 마친 즉시 절두법으로 동물을 희생시킨 후 해마를 분리하여 적출한 조직을 potassium phosphate buffer (pH7.3)로 균질화(homogenization)하여 초음파 세포막 분쇄기(ultrasonic cell membrane disrupter, Sonics & Materials Co. Danbury, USA)로 세포막을 파괴한 후 정량하였다. SOD의 활성도와 MDA의 정량은 단백질 1mg에 대한 활성도와 함량으로 표시하였다.

해마 조직의 단백질 정량은 Lowry 등(1951)의 방법, SOD활성도는 pyrogallol(Sigma)의 자가산화(auto-oxidation) 억압을 이용한 Marklund & Marklund(1974)의 방법 그리고 MDA정량은 시료 1ml를 thiobarbituric acid(Sigma)를 이용한 Shah 등(1983)의 방법으로 정량하였다.



(A)



(B)

**Fig. 1.** Experimental design for measuring SOD activity and MDA amount, (A) for the air-air-air, air-Co-air, and air-CO-HBO exposure groups and (B) for air-CO exposure group. \*rats were pretreated with normal saline or MK-801. (CO : 4000 ppm carbonmonoxide in air, HBO : 100% O<sub>2</sub> 3ATA, Air: 21% O<sub>2</sub> in pure nitrogen).

### III. 결 과

#### 1. 해마의 SOD 활성도

생리식염수 전 처치 실험에서 CO군, CO-대기군, CO-HBO군의 SOD 활성도는 대조군보다 유의하게 높았다(p-value<0.05, one-way ANOVA & Tukey's HSD test, Table 2). CO군, CO-대기군, CO-HBO군간의 SOD의 활성도는 CO군, CO-대기군, CO-HBO군의 순으로 높았으나 서로 유의한 차이를 보이지 않았다.

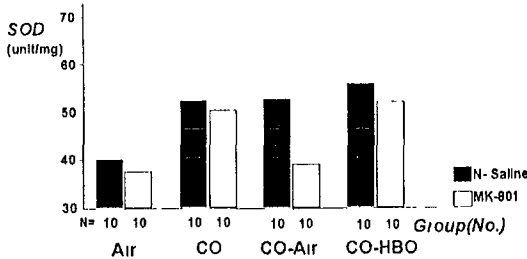
MK-801 전 처치 실험에서는 대기군, CO-대기군에 비하여 CO군, CO-HBO군의 SOD 활성도가 유의하게 높았으나(p-value<0.05 one-way

**Table 2.** SOD activity in hippocampus by experimental groups  
(mean±S.E., unit/mg protein)

| Group <sup>#</sup> | pretreatment <sup>#</sup> |              |
|--------------------|---------------------------|--------------|
|                    | Normal Saline             | MK-801       |
| Air                | 40.31±3.40*               | 36.64±0.71*  |
| CO                 | 52.17±2.12**              | 51.01±2.13** |
| CO-Air             | 53.45±4.75**              | 38.88±5.75*  |
| CO-HBO             | 55.89±4.55**              | 52.18±1.56** |

\*. \*\*. Each groups are regarded as homogeneous if the same markings are on the data. (one-way ANOVA followed by Tukey's HSD test, p-value<0.05 within each pretreatment groups)

# . group effect - p<0.01, pretreatment effect - p<0.05, group & pretreatment interaction - p>0.05 (by two-way ANOVA)



**Fig. 2.** SOD activity in hippocampus by experimental groups.

ANOVA & Tukey's HSD test, Table 2), 각각의 두 실험군 내에서는 유의한 차이를 보이지 않았다.

MK-801 투여군은 생리식염수 투여군에 비해 SOD 활성도가 유의하게 저하되었고(p-value<0.05 two-way ANOVA, Table 2), 폭로 조건과 전 처치의 상호작용은 없었다(p-value>0.05 two-way ANOVA, Table 2).

#### 2. 해마의 MDA 정량

생리식염수 전 처치 실험에서 CO-대기군과 CO-HBO군의 MDA양은 대조군과 CO군에 비해 유의하게 높았다(p-value<0.01, one-way ANOVA & Tukey's HSD test, Table 3). 각각의 두 실험군 내에서는 유의한 차이를 보이지 않았다.

MK-801 전 처치 실험의 경우 CO-대기군과 CO-HBO군의 MDA양은 각각 대조군과 CO군에 비해 유의하게 높았다(p-value<0.01, one-way ANOVA & Tukey's HSD test, Table 3). 각각의 두 실험군간에는 유의한 차이를 보이지 않았다.

MK-801 전 처치에 의한 MDA 정량 결과는 생리식염수 투여군에 비해 유의한 차이를 보이지 않았고(p-value=0.107, two-way ANOVA, Table 3), 폭로조건과 전 처치의 상호작용은 없었다(p-value>0.05 two-way ANOVA, Table 3).

**Table 3.** Amount of MDA in hippocampus by experimental groups  
mean±S.E. (nMol/mg protein)

| Group <sup>#</sup> | pretreatment <sup>#</sup> |             |
|--------------------|---------------------------|-------------|
|                    | Normal Saline             | MK-801      |
| Air                | 7.03±0.40*                | 6.98±0.59*  |
| CO                 | 7.25±0.20*                | 6.76±0.25*  |
| CO-Air             | 8.17±0.30**               | 7.93±0.22** |
| CO-HBO             | 8.51±0.26**               | 7.78±0.19** |

\*. \*\*. Each groups are regarded as homogeneous if the same markings are on the data (one-way ANOVA followed by Tukey's HSD test, p-value<0.05 within each pretreatment groups).

# : group effect - p<0.01, pretreatment effect - p=0.107, group & treatment interaction - p>0.05 (by two-way ANOVA)

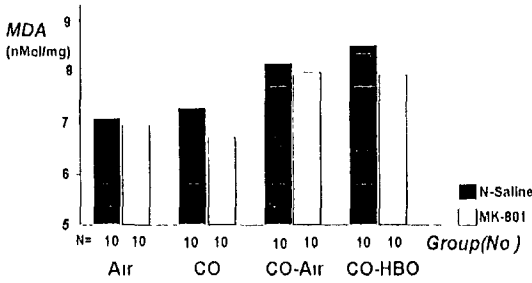


Fig. 3. Amount of MDA in hippocampus by experimental groups.

#### IV. 고 찰

저산소 상태에 투여한 산소에 의하여 산소유리기 반응이 증가한다는 Thom(1990[A], [B]; 1992) 및 Zhang과 Piantadosi(1992)의 연구와 일산화탄소 폭로 후 투여하는 산소의 분압이 높을수록 산소유리기반응이 더 많이 일어난다는 송(1995)의 연구 등으로 볼 때, 저산소 상태의 조직에 대한 재산소화는 허혈-재관류의 상황과 동일하다고 할 수는 없지만 다량의 반응성산소대사산물이 발생하는 결과에 있어서는 일치한다고 생각된다. 따라서 일산화탄소 중독 상태의 생체에 과량의 산소를 투여할 때 생성되는 반응성산소대사산물의 영향을 차단함은 과다산소의 투여 중 또는 투여 후에 나타나는 부작용 및 후유증의 예방과 치료에 도움이 될 것이다.

정상적인 대기 호흡상태에서도 반응성산소대사산물이 발생한다(Clark, 1986). 흡입된 산소의 대부분은 미토콘드리아내의 cytochrome oxidase에 의해 반응성산소대사산물이 발생되지는 않으나 흡입한 산소의 5-10%가 다른 경로를 통해 반응성산소대사산물로 대사 되어 생체에 손상을 줄 수 있는 것으로 알려져 있다(Ian, 1986). 본 실험의 대조군에서 검출된 산소유리기반응 관련 물질도 이과정의 결과로 생각된다.

생리식염수로 전 처치한 CO군, CO-대기군, CO-HBO군의 SOD 활성도는 대조군의 SOD 활성도에 비해 유의하게 높았으며(p-value<0.05 one-way ANOVA), CO-HBO군의 SOD 활성도는 CO군, CO-대기군과 유의한 차이를 보이지는 않았으나 상대적으로 높은 경향을 보였다. 이러한 결과는 CO중독과 고압산소요법에 의한 재산소화 과정이 반응성

산소대사산물을 많이 발생할 가능성이 있음을 의미하며, 결과적으로 중추신경계손상을 가져 올 수 있음을 시사한다. 또한 허혈과 무관한 다른 저산소증에 이어지는 재산소화에서 허혈-재관류 때보다는 적으나 다량의 반응성산소대사산물이 발생함을 관찰하였다는 Torock 등(1984)의 연구결과와 일치한다. 또한 송(1995)의 연구에서 CO군에서 대조군에 비하여 SOD 활성도가 높게 나온 결과와도 일치하였다.

MDA를 정량한 결과는 생리식염수 전 처치 시 CO-Air군과 CO-HBO군에서 대조군과 CO군에 비해 유의하게 높았다(p-value<0.01 one-way ANOVA). 이러한 결과는 일산화탄소 폭로 후 대기호흡이나 고압산소에 의한 재산소화 시 반응성산소대사산물이 증가하여 조직 내 불포화지방산과의 산소유리기반응이 활발했음을 의미한다. 생리식염수로 전 처치한 CO-Air군 및 CO-HBO군이, 대조군 및 CO군과 유의한 차이를 보이고 각 두 군간에는 차이를 보이지 못하였으며, 지질과산화반응이 일산화탄소폭로 즉 후에는 증가되지 않다가 폭로 후 대기호흡으로 전환되어야만 비로소 증가한다는 Thom(1990)과 송(1995)의 연구 결과와도 일치한다. 이러한 결과는 지질과산화반응이 SOD활성도와 달리 반응성산소대사산물에 의해 즉시 일어나지 않았음을 의미하며, 일산화탄소 폭로 후 대기호흡이나 고압산소에 의한 재산소화 과정에서 반응성산소대사산물이 증가하여 이로 인하여 중추신경계가 손상될 가능성을 시사한다.

CO중독을 포함한 중추신경계의 허혈이나 저산소증 발생 후 신경세포(neurons)가 손상 받게 되는 기전에 관한 최근의 많은 연구는 흥분성 아미노산(excitatory amino acid) 특히 glutamate에 초점이 맞추고 있다. (Olney, 1978). 특히 많은 연구들이 허혈 시 그리고 허혈 후 glutamate의 세포외 농도가 증가됨을 보여주었고(Benveniste 등, 1984; Hillered 등, 1989), 이런 glutamate의 영향에 길항하는 약물이 허혈로 인한 신경학적 손상(neurologic deficits)을 감소시켰다고 보고하였다(Kochhar 등, 1988). Glutamate는 NMDA, AMPA( $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole). 그리고 kainate, quisqualate 등 최소 네 가지 아류형의 수용체(postsynaptic receptor)에

작용하며 (Watkins 등, 1990), 특히 NMDA 수용체가 저산소-허혈로 인한 신경세포손상과 관련돼 있다고 알려져 있다 (Marek & David, 1994).

glutamate가 신경세포(neurons)에 미치는 작용기전은 허혈이나 저산소증 발생후 세포부종(cell swelling)으로 인한 초기 손상을 가져오고, 이후 세포 내에 증가된  $Ca^{2+}$ 과 arachidonic acid에 의해 생성된 반응성산소대사산물에 의해 신경세포의 괴사를 가져온다(Marek 와 David, 1994) (Fig. 6). 이때 발생하는 반응성산소대사산물을 차단하는 것이 중추신경계손상을 예방하는 데 중요한 역할을 할 것으로 기대된다. 많은 연구들에서도 MK-801 투여로 허혈, 저산소증, 저 혈당 등으로 인한 신경변성질환에 대해 신경보호효과가 나타남을 보고하고 있다 (Park 등, 1988; Kochhar 등, 1988; Bielenberg, 1989).

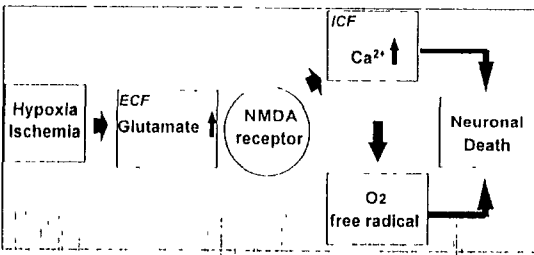


Fig. 4. Possible pathways of neuronal death by excessive activation of NMDA receptor in ischemic or hypoxic condition.

실험 결과 MK-801 투여군이 생리식염수 투여군에 비해 SOD 활성도가 유의하게 감소되었고 (p-value < 0.05 two-way ANOVA), 폭로 조건과 전 처치의 상호작용은 없었다 (p-value > 0.05 two-way ANOVA). 즉 NMDA 수용체 길항제인 MK-801을 전 처치함으로써 CO중독과 이후 과량의 산소 투여에 의한 재산산화 과정에서 발생하는 반응성산소대사산물에 의한 중추신경계 손상을 막아 줄 수 있음을 시사한다. 이는 허혈이나 저산소증에서 NMDA 수용체 차단에 의해 신경계 손상이 감소되었다는 기존의 연구 결과와 일치한다 (Bielenberg, 1989; Kochhar 등, 1988; Park 등, 1988). 그러나 MK-801 전 처치에 의한 MDA 정량 결과는 생

리식염수 투여군에 비해 감소되는 경향을 보였지만, 유의한 차이를 보이지 않았고 (p-value = 0.107, two-way ANOVA), 폭로 조건과 전 처치의 상호작용은 없었다 (p-value < 0.05 two-way ANOVA). 이러한 결과는 CO 폭로와 이후 고압산소소법에 의한 재산산화 과정에서 증가하는 반응성산소대사산물을 NMDA 수용체 길항제가 억제하지 못한다기보다는 CO 자체가 지질과산화반응에 미치는 영향으로 미토콘드리아 내 cytochrome oxidase를 억제 (박항배, 1986)함으로써 증가된 반응성산소대사산물이 지질과산화산물을 증가시킨다고 볼 수 있다.

조직에 손상을 줄 수 있는 반응성산소대사산물은 주로 superoxide와 hydroxyl radical이다. 정상적인 대기 호흡에서 흡입한 산소도 반응성산소대사산물을 형성하게 되지만, 일산화탄소에 의한 저산소 상태에서는 cytochrome oxidase의 작용을 방해 (박항배, 1989)하여 조직의 산소 이용 (tissue oxygen utilization)을 억제함으로써 cytochrome oxidase system에 의한 주 경로 (major pathways)가 아닌 경로 (minor pathways)를 거쳐 superoxide와 hydroxyl radical 형태의 반응성산소대사산물을 많이 발생시킬 것으로 추측된다. 본 실험에서 MK-801 투여군이 생리식염수 투여군에 비해 MDA가 저하되는 경향은 보였지만 유의한 차이를 보이지 못한 것은, 저산소 후 NMDA 수용체 차단에 의한 반응성산소대사산물의 생성은 차단되었지만 일산화탄소 자체가 cytochrome oxidase를 억제함으로써 더 많이 발생한 반응성산소대사산물을 충분히 차단하지 못했을 가능성이 있다. 물론 반응성산소대사산물에 의한 직접적인 영향에 의해 SOD 활성도가 유의하게 감소한 경우와는 달리, MDA는 이차적으로 또 한번의 조직 반응 (지질과산화반응)이 있어야 하기 때문에 이때 소요되는 시간도 고려해야 할 것이다. 이상의 과정으로 볼 때 재산산화로 생긴 반응성산소대사산물에 의한 지질의 과산화를 효과적으로 억제하기 위해서는 vitamin E, 합성 glutathione, 또는 지질과산화반응의 억제제인 non-glucocorticoid 21-aminosteroid (U-78517F, U-74500A) 등을 병용 투여할 필요가 있을 것으로 생각된다.

MK-801을 전 처치한 실험군 내에서는 SOD 활성도 및 MDA 함량의 분석에서 산소 분압에 따른 반

응성산소대사산물의 증가라는 가설에 부합하는 경향을 볼 수 없었다. 이는 일산화탄소에 폭로된 흰쥐에 대한 MK-801의 투여량과 부작용이 아직 충분히 검증되지 않았기 때문에 실험동물에서의 기타 작용을 고려하지 못한 때문일 것으로 생각한다. 그러나 모든 실험 조건에서 MK-801이 반응성산소대사산물을 억제하는 경향을 보인 것은 이 약제의 효과를 인정하기에 충분할 것으로 생각한다.

결론적으로 CO중독 흰쥐에 대한 과다 산소 투여가 뇌(해마)의 산소유리기반응을 증가시켰으며, 따라서 조직에 많은 손상을 초래할 가능성이 있다. 또한 MK-801 전 처치로 뇌의 손상을 억제할 수 있을 것으로 나타났다. 즉 NMDA 수용체 길항제의 투여는 기존에 알려져 있는 저산소증에 의한 중추신경계 손상을 예방할 뿐만 아니라, 고압산소치료에 의한 재산산화 과정에서 발생하는 반응성산소대사산물에 의한 손상도 억제할 수 있을 것으로 생각한다.

## V. 결 론

일산화탄소(CO)에 폭로된 동물에서, 저산소 상태 및 과다 산소 투여에 의한 효소 및 관련 대사산물의 발생량 변화를 지표로 산소유리기반응의 증가를 검증하고, 이에 대한 NMDA 수용체 길항제(MK-801)의 방어효과를 구명하기 위하여, 80마리의 흰쥐를 이용한 실험을 하였다. 생리식염수 또는 MK-801을 복강내에 각각 전 처치하고, CO에 폭로시킨 흰쥐에 대기와 치료 목적으로 사용되는 3기압 고압산소(HBO)를 투여하고, 뇌(해마, hippocampus) 조직으로부터 Superoxide dismutase(SOD) 활성도와 Malondialdehyde(MDA)를 측정하였으며, SOD의 활성도와 MDA의 함량은 각각 분광광도계(Spectrophotometer)를 이용한, Marklund & Marklund의 방법과 Shah의 방법으로 정량하였다.

1. 일산화탄소 폭로 및 이후에 투여한 과량의 산소는 산소유리기반응을 증가시키며, 이로 인해 조직에 손상을 초래할 가능성이 있다. 따라서 고압산소치료시에 발생할 수 있는 반응성산소대사산물로 인한 중추신경계의 손상 가능성을 고려해야 할 것이다.

2. NMDA 수용체 길항제인 MK-801 투여로 SOD 활성도의 유의한 억제 효과를 보였고, MDA 함량은 폭로 조건에서 유의한 수준은 아니지만 전체적으로 감소하는 경향을 보였다. 따라서 일산화탄소 중독을 포함한 허혈이나 저산소증에 대한 고압산소치료 과정에서 MK-801을 투여함으로써 저산소증에 의한 중추신경계손상을 예방할 수 있을 것으로 생각한다.

## REFERENCES

- 박항배. 각종 중독과 고압산소요법. 대한의학협회지 1989;32(2):134-138
- 송재철, 김영오, 박항배. 일산화탄소 폭로시 농도와 치사시간의 관계에 관한 실험적 연구. 대한산업의학회지 1991;3:51-57
- 송재철, 조수현, 정명희, 윤덕로. 호기 중 에탄 측정을 통한 산소중독시 지질과산화 평가에 관한 실험적 연구. 예방의학회지 1987,20(2):221-227
- 송재철. 산소분압에 따른 일산화탄소중독 백서의 산소유리기반응에 관한 연구. 박사학위 논문, 한양대학교 대학원, 서울, 1995
- 윤덕로. 고압산소요법. 신평출판사, 서울, 1981
- 윤여규. 지질과산화에 대한 maltol의 항산화 효과에 관한 연구. 박사학위 논문, 서울대학교 대학원, 서울, 1986
- Beckman JS, Campbell GA, Hannan CJ, Karfias CS, Freeman BA. Superoxide and SOD in chemistry, biology and medicine. Elsevier Science, N. Y., 1986
- Benveniste H, Drejer J, Schousboe A, Diemer NH. Elevation of extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis. J. Neurochem 1984;43:1369-1374
- Bielenberg H, Drejer J, Schousboe A, Diemer NH. Elevation of the extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis. J. Neuro-chem 1984;43:1369-1374
- Choi IS. Delayed neurologic sequelae in carbon monoxide poison. Arch Neurol 1983;40:433-435
- Clark IA. Tissue damage caused by free oxygen radicals. Pathology 1986;18:181-186
- Clark JM, Lamberstein CJ. Pulmonary oxygen toxicity, a review. Pharmacol Rev 1971;23:37-133

- Chneschmidt BV, Martin GE and Bunting PR. Anticonvulsant activity of (+)-5-methyl 10-,11-dihydro-5H-dibenzo(a,d) cyclohepten-5,10-imine(MK-801), a substance with potent anticonvulsant, central sympathomimetic and apparent anxiolytic properties. *Drug Dev Res* 1982;2: 123-134
- Cross CE. Oxygen radicals and human disease. *Ann of Intern Med* 1987;107:526-545
- Davis WB, Hunt TK. *Hyperbaric oxygen therapy*. Undersea Medical Society, Maryland, 1977
- Diemer NH, Siemkowicz E. Increased 2-deoxyglucose uptake in hippocampus, globus pallidus and substantia nigra after cerebral ischemia. *Acta Neurol Scand* 1980;61:56-63
- Diemer NH, Siemkowicz E. Regional neurone damage after cerebral ischemia in normo- and hypoglycemic rats. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1981;7:217-227
- Fisher AB, Hyde RW, Puy RSM, Lambertsen CJ. Effect of oxygen at 2 atmospheres on the pulmonary mechanics of normal men. *J Appl Physiol* 1958; 24(4):529-536
- Freeman BA, Crapo JD. Hyperoxia increases oxygen radical production in rat lungs and lung mitochondria. *J Biochem Chem* 1981;256:10986-10992
- Fukuki Y, Alane A, Takahashi S, et al. Derivative spectrophotometric studies on cytotoxic effects of carbon monoxide. *Forensic Sci Int* 1987;33:75-82
- Woodruff GN, Foster AC, Gill R, Kemp JA, Wong EHF, Iversen L.L. The interaction between MK-801 and receptors for N-Methyl-D-Aspartate. *Neuro-pharmacology* 1987;26:903-909
- Gerschman R, Gilbert DL, Nye SW, Dwyer P, Penn W. Oxygen poisoning and x-irradiation a mechanism in common. *Science* 1954;119:623-626
- Hall ED, Travis MA. Inhibition of arachidonic acid-induced vasogenic brain edema by the non-glucocorticoid 21-aminosteroid U74006F. *Brain Res* 1988;451:350-352
- Hall ED. Effects of the 21-aminosteroid U7406F on posttraumatic spinal cord ischemia in cats. *J Neurosurg* 1988;68: 462-465
- Haugaard N. Cellular mechanism of oxygen toxicity. *Physiol Rev* 1968;48(2):311-373
- Hillered L, Hallstrom A, Segersaard S, Persson L, Ungerstedt U. Dynamics of extracellular metabolites in the striatum after middle cerebral artery occlusion in the rat monitored by intracerebral microdialysis. *J Cereb Blood Flow Metab* 1989;9:607
- Ian AC. Tissue damage caused by free oxygen radicals. *Pathology* 1986;18:181-186
- Jamieson D, Chance B, Cadenas E, Boveris A. The relation of free radical production to hyperoxia. *Ann Rev Physiol* 1986; 48:703-719
- Kindwall EP. Carbon monoxide poisoning and cyanide poisoning. in *Hyperbaric oxygen therapy*. Davis JC, Hunt TK eds., Undersea Medical Society, Maryland, 1977, pp:177-190
- Kochhar A, Zivin JA, Lyden PD and Mazzarella V. Glutamate antagonist therapy reduces neurologic deficits produced by focal central nervous system ischaemia. *Arch Neurol* 1988;45:148-153
- Kontos SA. Oxygen radicals in CNS damage. *Chem Biol Interact* 1989;72:229-255
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randal RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-275
- Ludbrook GL, Helps SC, Gorman DF, Reilly PL, North JB, Grant C. The relative effects of hypoxic hypoxia and carbon monoxide on brain function in rabbits. *Toxicology* 1992;75:71-80
- Marek S. and David A. Triggering and execution of neuronal death in brain ischaemia:two phases of glutamate release by different mechanisms. *Trends in neurosciences* 1994;17:359-365
- Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 1974;47:469-474
- Marklund S. Oxygen toxicity and protective system. *Clin Toxicol* 1985;23:289-298
- McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase, An enzymic function of erythrocyte. *J Biol Chem* 1969;244:6049-6055
- Myers RA, Schnitzer BM. Hyperbaric oxygen use. *Postgrad Med* 1984;76(5):83-95
- Olney JW. Neurotoxicity of excitatory amino acids, in:kainic acid as a tool in neurobiology, eds. McGeer EG, Olney JW and. McGeer PL 1978:95
- Packer L, Glazer AN. *Oxygen radicals in biologic system*. Academic Press, San Diego, 1990
- Packer L. *Oxygen radical in biologic system*



from Method in enzymology, vol. 105. Academic Press, N. Y., 1984

Park CK, Nehls DG, Graham DI, Teasdale GM, McCulloch J. The glutamate antagonist MK-801 reduces focal ischaemic brain damage in the rat *Ann Neurol* 1988;24:543-551

Pryor WA. Oxygen-radicals and related species, their formation, life times and reactions. *Ann Rev Physiol* 1986;48:657-667

Pulsinelli WA, Briereley JB, Plum F. Temporal profile of neuronal damage in a mode of transient forebrain ischemia. *Ann Neurol* 1982a;11:491-498

Raffin TA. Oxygen toxicity, etiology. *Int Anesthesiol Clin* 1981;19(3):169-177

Shah SV, Cruz FC, Baricos WH. NADPH induced chemiluminescence and lipid peroxidation in kidney microsome. *Kidney Int* 1983;23:691-698

Smith JS, Brandon S. Morbidity from acute carbon monoxide poisoning at three year follow-up. *Br J Med* 1973;1:318-321

Thom SR. Antagonism against carbon monoxide mediated brain lipid peroxidation by hyperbaric oxygen. *Toxicol Appl Pharmacol* 1990;105:340-344(A)

Thom SR. Carbon monoxide-mediated lipid peroxidation in the rat. *J Appl Physiol* 1990;68(3):997-1003(B)

Thom SR. Dehydrogenase conversion to oxidase and lipid peroxidation in brain after carbon monoxide poisoning. *J Allp Physiol* 1992;73(4):1584-1589

Torok B, Roth E, Tigyi A, Zsoldos T, Matkovics B, Szabo L. Membrane perturbations in myocardium: oxygen radicals mediate injuries in experiments. *Acta Chir Hung* 1984;25:185-192

Watkins JC, Krogsgaard LP, Honoré T. Structure-activity relationships in the development of excitatory amino acid receptors agonists and competitive antagonist. *Trends Pharmacol Sci* 1990;11:25

Wong EH, Kemp JA, Priestley T, Knight AR, Woodruff GN, Iversen LL. The anticonvulsant MK-801 is a potent N-methyl -D-aspartate antagonist. *Proc natn Acad Sci U.S.A.* 1986;83 7104-7108

Zhang J, Piantadosi CA. Mitochondrial oxidative stress after carbon monoxide hypoxia in rat brain. *J Clin Invest* 1992;90:1193-1199