

Mercuric chloride 유발 신부전에서 산소유리기에 미치는 Sodium selenite의 영향

김 형 춘·주 왕 기·허 인 회*

강원대학교 약학과, 중앙대학교 약학대학*

(Received, June 24, 1988)

Influence of sodium selenite on oxygen free radical in mercuric chloride induced renal failure

Hyoung-Chun Kim, Wang-Kee Jhoo and In-Hoi Huh.*

Department of pharmacy, Kang-Weon National University, Chun cheon 200-701 and College of pharmacy, Chung-Ang University,* Seoul 151-756, Korea.

Abstract—Oxygen free radical have recently been found to mediate cell injury after ischemia in the kidney. The purpose of our study was to determine whether selenium had an effect on damage mediated by oxygen free radical in inorganic mercury induced renal failure, toxic model of renal failure. Toxic renal failure model was produced by subcutaneous injection of mercuric chloride (4mg/kg) once a day for 7 consecutive days. In additionally, coadministration of sodium selenite (1mg/kg) was performed by the same condition. As a consequence of this study, we were able to detect partially unequivocal role of selenium as below depicted. The combination of sodium selenite showed that markedly inhibited production of superoxide radical in mercuric chloride alone. On the other hand, combined sodium selenite was unable to enhance against significantly lowered superoxide dismutase activity after mercuric chloride insult. However, simultaneous administration of sodium selenite was inclined to induce mitochondrial superoxide dismutase and catalase.

1860년 처음으로 수은으로 인한 독성이 보고¹⁾ 되었고, 그후 1953년의 일본 미나마타병, 1971년 이라크의 집단 수은중독사건 등 크고 작은 수은 중독사건이 최근까지도 계속어지고 있다.²⁻⁴⁾

오래전부터 수은은 농약, 의약품, 의약부의품, 보조제 및 도료 등의 제조에 불가피하게 이용되어 왔다. 최근에는 우리나라에서도 심각한 작업 환경 오염과 더불어 중금속 폐수가 상당량 하천으로 방류되고, 대기오염도가 선진국 수준을 크게 상회하는 등 환경 오염문제가 매우 심각하게 대두되고 있다. 1988년 5월 춘천시에서 어느 온도계 제조공장에서 발생된 수은 중독 사건이 알려지면서 전국적으로도 수은 취급 근로자의 약 20%가 수은 중독인것으로 나타났다. 수은 화합물은 유기와 무기화합물로 나뉘어지는데, 유기수은은

뇌혈관 장벽과 태반을 통과하여 중추에 치명적인 영향을 미치며⁵⁾, 무기 수은은 신장 장해를 유발시키는 대표적인 화합물^{6,7)}이다. 따라서, 무엇보다도 이와같은 수은 중독의 예방 및 치료를 위하여는 작업환경의 개선과 더불어 수은과 같은 중금속 중독 억제약물의 개발이 시급히 요청되고 있다.

본 고에서는 그 일차적인 연구로서 무기수은으로 인한 허혈성 신부전 모델⁸⁾에 셀레늄을 투여하여 변화되는 작용기작을 검색하였다.

실 험 방 법

시약 및 실험동물—Mercuric chloride는 Junsei 제품을, sodium selenite, cytochrome C, xanthine, xanthine oxidase, bovine serum albumin

Table I-Experimental group

Group	Animal number	Conditions
Control	10	Normal mouse
Se	10	Sodium selenite 1mg/kg injected by s.c. once a day for 7 consecutive days.
Hg	10	Mercuric chloride 4mg/kg injected by s.c. once a day for 7 consecutive days.
Hg+Se	10	Both mercuric chloride 4mg/kg and sodium selenite 1mg/kg injected simultaneously by s.c. once a day for 7 consecutive days.

Each mouse killed at 24 hr after last injection. And then, kidney sample is immediately taken.

은 sigma 제품을, potassium cyanide, potassium phosphate monobasic, potassium phosphate는 Merk 제품을 각각 사용하였으며, 그밖의 시약들은 시중의 일급 및 특급을 사용하였다.

시험동물로는 약 2주간 동일조건에서 사육한 ICR계의 숫컷 마우스를 사용하였으며, 실험군은 Table I과 같이 나누었다.

Superoxide 유리기 생성의 측정—Superoxide 유리기의 생성은 superoxide dismutase 억제할 수 있는 ferricytochrome C의 환원되는 속도로 측정했다.^{9,10)}

즉, 0.1mM EDTA를 함유한 phosphate buffer (pH 7.8) 420 μ l에 cyanide의 농도가 50 μ M이 되도록 20mM cyanide 용액을 가한후 37°C에서 10분간 보온하였다.

이 용액에 신장 균질액 10 μ l과 0.1mM cytochrome C 50 μ l을 넣어 온도조절기가 장치된 spectrophotometer (Gilford 260)로 cuvette를 37°C로 유지시키면서 550nm에서 흡광도변화를 2분간 관찰하였다. 이때 환원되는 cytochrome C의 양은 분자흡광계수 19,500M⁻¹cm⁻¹로 계산하였다.

Superoxide dismutase(SOD) 활성도 측정—

1) 세포질의 SOD : 신장조직에 함유된 SOD의 추출은 Lee¹¹⁾ 및 Weisiger와 Fridovich¹²⁾의 방법에 의했다. 신 조직 일정량을 취하여 미리 냉각시킨 0.1mM-EDTA가 함유된 5mM-phosphate buffer(pH 7.8)를 4배 용량으로 첨가한후 균질화하여 0°C에서 700xg로 5분간 원심분리하여 핵을 제거하고, 상층액은 다시 14,000xg로 15분간 원심분리하여 세포질과 사립체를 분리하였다. 이렇게 얻은 상층액은 구리와 아연을 함유

한 SOD의 효소원으로 사용하였다. 모든 추출조작을 0°~4°C에서 실시하였다.

2) 사립체의 SOD : 사립체에 함유되어 있는 SOD는 Weisiger와 Fridovich의 방법¹²⁾에 의해 추출하였다. 즉, 앞에서 분리한 조사립체(crude mitochondria)를 0.25M-sucrose가 함유된 10mM-phosphate buffer에 부유시킨 후 15,000xg에서 15분간 원심분리하여 상층액을 제거하였다. 이와같이 2회 반복세척하여 사립체를 정제한후 0.1mM EDTA 함유 50mM phosphate buffer (pH 7.8) 5배용량에 부유시켰다. 이 사립체 분획을 얼리고 녹이는 과정을 2회 반복후 Branson cell disruptor를 사용해 50 watt로 15분간 sonication 하고, 20,000xg에서 60분간 원심분리한 상층액을 망간을 함유한 SOD의 효소원으로 하였다.

이상의 모든 추출조작은 0°~4°C에서 실시하였다.

3) SOD 활성도 측정 : xanthine과 xanthine oxidase의 존재하에서 생성되는 superoxide에 의하여 ferricytochrome C의 환원을 억제시킨다는 반응원리를 이용하여 SOD 활성도를 측정하였다.⁹⁾

즉, 3ml 용량의 Cuvette에 0.1mM-EDTA 함유 50mM-phosphate buffer (pH 7.8) 2.3ml, 0.5mM-xanthine 0.3ml, 0.1mM-ferricytochrome C 0.3ml씩을 잘 혼합하고, 25°C 물증탕에서 내용물이 평형을 이루게 하였다. 이 혼합액에 xanthine oxidase를 첨가한 후 파장 550nm에서 흡광도가 증가되는 속도를 측정하였다. 이때 흡광도 증가가 매분당 0.020되게 xanthine oxidase의 농도를 조정하였다.

또한 다른 cuvette에는 앞의 조건으로 세포질

및 사립체에서 추출한 SOD를 각각 0.1ml씩 가하고, 파장 550nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 이 효소의 활성도는 위와 같은 반응조건에서 ferricytochrome C의 환원속도를 50% 억제시키는데의 효소의 양을 1 unit로 하였다.

Catalase 생성의 측정—Aebi의 방법¹³⁾에 따라 측정하였다. 즉, 혈액이 제거된 신조직 일정량을 50mM-phosphate buffer (pH 7.0) 5배 용량에 부유시켜 균질화 시켰다. 그후 4°C, 600xg에서 10분간 원심분리하고 상층액을 취해 엷한 여액을 이용하여 catalase의 활성도를 측정하였다. 즉, H₂O₂(30mM/l)의 O.D.가 1.2되도록 조절하고 50mM-phosphate buffer (pH 7.0) 2.0 ml, 균질액 10 μ l 혼액에 H₂O₂ 1.0ml를 첨가하고 그로부터 1분간 240nm에서 분해되는 H₂O₂의 양을 측정하였다. 이때의 H₂O₂의 분자흡광계수는 43.6M⁻¹ cm⁻¹로 계산했다. 이 모든 추출조작은 0°~4°C에서 실시하였다.

단백정량—각 신장조직의 균질액, 세포질 분획 및 사립체 분획의 단백질량은 bovine serum albumin을 표준물질로 하여 Lowry법¹⁴⁾으로 측정하였다.

실험결과 및 고찰

셀레늄의 항산화작용, 지질과산화의 억제작용¹⁵⁾, 그리고, 수은, 카드뮴, 은 등 약 15종의 중금속 중독에 대한 길항작용이^{16,17)} 알려지고 있으나, 그 효과에 대한 작용기전은 아직 정확히 밝혀지지 않은 상태이다. 셀레늄은 그 자체의 독성도 인정되며, 대로는 기형유발요인일 가능성 까지도 내포하고 있다.¹⁸⁾ 셀레늄의 독성은 저농도의 수은이 제거해주고, 역으로 고농도의 수은중독은 셀레늄이 제거시킨다고 하였다.¹⁹⁾

인체의 경우, 수은중독의 척도는 모발에 측정된 농도를 기준으로 한다.

일본 참치어선원의 모발에 치사량의 2배에 달하는 수은이 검출되었는데도 수은 중독에 가 전혀 나타나지 않은 것을 연구자들은 참치내에 수은과 더불어 함유된 셀레늄의 효과로 평가하고 있다.^{20,21)} 본 연구의 실험과정에서도 인정되었

고, 다른 연구자들도 수은단독 투여시에 보여지는 치사율을 셀레늄이 동시에 병용됨으로써 현저히 감소되는 것은 확인하였다.²²⁻²⁴⁾ 셀레늄염 중에서는 아셀렌산염의 효과 발현이 가장 탁월하다.¹⁶⁾

무기수은 중독의 해독목적으로 셀레늄을 투여할때 동일 몰 농도로 동시에 투여하면서 투여 용량이 일정량을 초과하지 않아야 현저한 독성 경감 효과가 관찰된다.¹⁶⁾

마우스의 경우는 무기수은과 아셀렌산염이 각각 25 μ mol/kg이하 용량으로 동시에 투여될 때 상호의 독성 경감 효과가 관찰된다. 각각 30 μ mol/kg 이상을 동시에 투여 한다면 수은 단독투여시보다도 독성이 증강될 수 있다.

수은과 셀레늄이 독성경감 작용을 나타낼지라도 신장내의 수은 농도는 수은 단독투여시보다 증가되는 점도 고려해야 한다.^{16,25)} 그러나, 이

Cytochrome c reduction
(μ mol/min/wet kidney g)

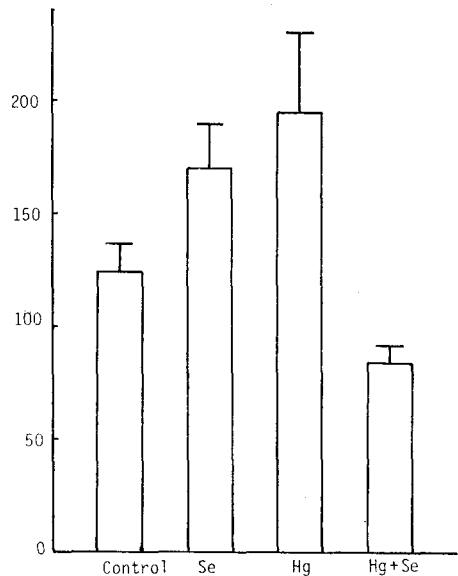


Fig. 1—Effects of sodium selenite on generation of superoxide radical in mercuric chloride intoxicated kidney. Superoxide formation was calculated from the rate of cytochrome C reduction was inhibited by superoxide dismutase. Each value shows mean \pm S.E. of 10 animals.

* $p < 0.01$, VS, the HgCl₂ group.

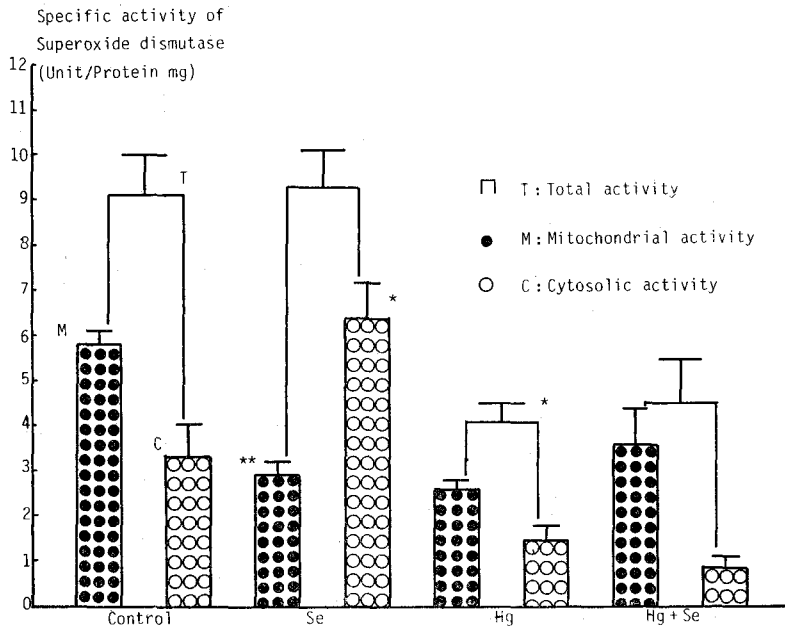


Fig. 2-Effects of sodium selenite on activities of superoxide dismutase in mercuric chloride intoxicated kidney. A Unit was defined as the quantity of superoxide dismutase required to produce 50% inhibition of the rate of reduction of cytochrome C under the specified conditions. Each value shows meant±S.E. of 10 animals.

* $p < 0.05$, VS, Control group.

** $p < 0.01$, VS, Control group.

와 같은 부작용은 셀레늄의 노출 농도가 미량이라면 거의 문제되지 않을 것이다.

본 연구에서는 paller 등의 신부전 모델⁸⁾을 수정하여 거의 비가역적인 신부전을 제작하였다. Fig. 1에서와 같이 아셀렌산염 처리시에는 정상 마우스 신조직(cytochrome C 환원속도로서 신조직에서 분당 $124.72 \pm 12.33 \mu\text{mol}$)에서 보다 superoxide 유리기(O_2^-)가 약 1.4배 생성($169.91 \pm 20.64 \mu\text{mol}$)되었고, 승홍처리시에는 정상 마우스 보다 약 1.6배 생성($194.65 \pm 35.86 \mu\text{mol}$)이 되었다. 승홍과 아셀렌산염을 동시에 처리시에는 승홍처리시에 증가되었던 superoxide 생성이 유의하게 억제($p < 0.01$)되어 약 0.4배 생성($84.02 \pm 7.51 \mu\text{mol}$)되었다. glutathione peroxidase의 구성 성분인 셀레늄³⁶⁾은 의외적으로 투여되어도 현저하게 산소독성을 억제할 수 있음을 보여주었다.

호기성 산화반응에서 생성되는 superoxide 유리기를 보다 반응성이 약한 H_2O_2 로 전환시키는

superoxide dismutase(SOD)는 세포질의 Cu, Zn-SOD와 사립체의 Mn-SOD로 구분된다.⁹⁾ Fig. 2에서와 같이 정상 마우스($9.11 \pm 0.86 \text{unit/protein mg}$)와 아셀렌산 처리 마우스($9.30 \pm 0.83 \text{unit/protein mg}$)는 같은 수준의 SOD 총 활성도를 나타내었다. 정상마우스에 비하여 승홍처리시에는 SOD 총 활성도가 유의하게 억제($p < 0.05$)되어 약 0.4배($4.07 \pm 0.47 \text{unit/protein mg}$)로 되었다. 승홍과 아셀렌산염을 동시에 투여($4.45 \pm 0.96 \text{unit/protein mg}$)시에도 SOD 총 활성도에는 변화가 거의 일어나지 않았다.

그러나, 미세 분획별로 보면 정상마우스 신장 사립체에는 SOD 총 활성의 64%인 $5.84 \pm 0.30 \text{unit/protein mg}$, 세포질에는 SOD 총 활성의 36%인 $3.27 \pm 0.78 \text{unit/protein mg}$ 의 활성을 보였으나, 아셀렌산염 처리시에는 정상 마우스에 비하여 사립체에서 유의한 감소($p < 0.01$)를 나타내어 SOD 총 활성의 31%인 $2.92 \pm 0.28 \text{unit/protein mg}$, 세포질에는 유의하게 증가($p < 0.05$)

하여 SOD 총 활성의 69%인 6.38 ± 0.82 unit/protein mg을 나타내었다. 아셀렌산염만을 투여 시에는 선택적으로 세포질의 SOD가 현저히 유도되었다. SOD 총 활성이 현저히 저하된 승홍처리 마우스 신장은 사립체에 SOD 총 활성의 64%인 정상 마우스 신장과 분포 비율은 유사하나, 주로 사립체 SOD의 활성이 저하되어 총 활성도가 저하됨을 알수 있다. 승홍과 아셀렌산염 동시 투여시에는 신장 사립체에 SOD 총 활성의 81%인 3.60 ± 0.88 unit/protein mg, 세포질에는 그 19%인 0.85 ± 0.24 unit/protein mg으로서, 특히 공격대상이 되는 사립체막을 방어하는 것으로 보인다. 그러나 사립체 SOD와 세포질 SOD의 분획 유도가 산소유리기의 반응성을 방어하는데 어떠한 의의가 있는지는 계속 연구되어야 할 것이다.

승홍 유발 신독성에서 보여지는 근위세뇨관 직부세포의 응고괴사(하혈성괴사)와 초자양변성^{6,7)}을 최소화하는 셀레늄의 기전은 초기의 세

포병변인 사립체 손상 방어기능과 연관시킬 수 있을 것으로 추측된다.

H_2O_2 제거제인 catalase의 활성은 Fig. 3에 나타나 있다. 정상 마우스 신장(분당 0.68 ± 0.05 $\mu\text{mol}/\text{protein mg}$) 보다 아셀렌산염 마우스 신장이 약 1.3배 유의하게 활성이 증가($p < 0.05$, 분당 0.91 ± 0.07 $\mu\text{mol}/\text{protein mg}$)하였는데, 이때 더불어 superoxide 유리기 생성도 동일한 비율로 증가되었다.

또한, 정상 마우스에 비하여 승홍처리시 마우스 신장에서도 약 1.3배 catalase 활성이 증가($p < 0.05$, 분당 0.86 ± 0.05 $\mu\text{mol}/\text{protein mg}$)하였는데, 이때의 증가 추세는 superoxide유리기 생성증가와 더불어 증가되는 H_2O_2 와 연관지을 수 있을 것이다.⁹⁾ 승홍과 아셀렌산염의 병용시 승홍 단독처리 신장에 비하여 유의한 변화는 나타나지 않았으나 catalase의 활성이 증가되는 경향(분당 0.97 ± 0.06 $\mu\text{mol}/\text{protein mg}$)을 보였다.

Catalase는 superoxide dismutase (SOD)와 더불어 철이 관여된 Haber-Weiss²⁷⁻²⁹⁾ 반응을 억제하여 보다 반응성이 강한 hydroxyl 유리기(OH)의 생성 억제와 관련된된다.

그러나, 허혈성 병변에 SOD, catalase hydroxyl 유리기 제거제 등을 투여시 나타난 결과에 대하여는 아직도 논란의 대상이 되고 있으나^{8,30,31)}, 셀레늄 투여로 미세조직에서 SOD의 선택적 유도와 superoxide 유리기(O_2^-)의 현저한 억제작용은 그 응용에 대한 가능성을 시사한 것으로 생각된다.

결 론

중금속 오염 중에 가장 심각한 수는 중독에 셀레늄의 직접적인 응용가능성을 타진하기 위하여 마우스를 대상으로 본 연구를 실시하였다. 즉, 1일 mercuric chloride 4mg/kg씩 연속 7일간 피하주사하여 고도의 허혈성 신부전을 제작하고, sodium selenite 1mg/kg을 동시에 피하주사시에 미치는 작용을 검색하였다.

그 작용에 미치는 지표로서 신장에서 super-

Specific activity of catalase
Umol/min/protein mg

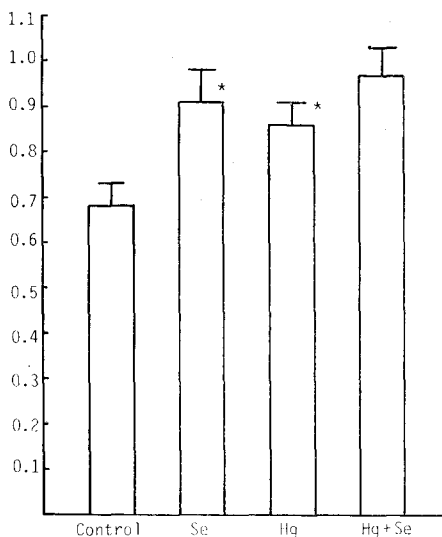


Fig. 3-Effects of sodium selenite on activities of catalase in mercuric chloride intoxicated kidney. catalase specific activity at 25°C is defined in terms of hydrogen peroxide consumed per minute per milligram of protein. Each value shows mean \pm S.E. of 10 animals * $p < 0.05$, VS, control group.

oxide 유리기, superoxide dismutase (SOD), catalase를 검정하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

1. Mercuric chloride 투여시 증가되는 superoxide 유리기 생성은 sodium selenite의 동시투여로 현저히 억제($p < 0.01$) 되었다.

2. Sodium selenite 단독투여시 정상마우스 신장에서 보다 사립체의 Mn-SOD 활성이 현저히 저하($p < 0.01$)되나, 세포질의 Cu, Zn-SOD 활성은 현저히 증가($p < 0.05$)되었다. 정상마우스 신장에 비하여 mercuric chloride 투여시에는 SOD 총 활성도가 현저히 저하($p < 0.05$)되며, sodium selenite가 동시 투여되어도 SOD 총 활성도에는 유의한 변화가 인정되지 않았으나 사립체의 Mn-SOD가 증가되는 경향을 나타내었다.

3. Sodium selenite 단독투여시 정상마우스 신장에서 보다 catalase의 활성이 현저히 증가($p < 0.05$)되었다. 또한, mercuric chloride 단독투여시에도 정상마우스 신장에서 보다 catalase 활성이 증가($p < 0.05$)하였고, mercuric chloride 단독투여시 보다는 sodium selenite와 병용투여시에 증가하는 경향을 보였다.

감사의 말씀

본 논문의 일부는 1988년도 문교부 학술연구 조성비로 이루어 졌으며, 이에 감사를 드립니다.

문헌

- 1) Taylor, A.S., and Pavy, F.W.: On poisoning by white precipitate with the physiological effects of this substance on animals. *Guy. Hosp. Rep.* 6, 483 (1860).
- 2) Eddie, W., and Robert, C.S.: The fatal dose of methylmercury in man. *J.A.M.A.* 216, 1347 (1971).
- 3) Bakir, F., Damulji, S.F., Aminzaki, L., Matalulha, M., Kahalidi, A., Rawi, N.Y.A., Tiriti, S., Dahir, H.I., Clarkson, T.W., Smith, J.C., and Doherty, R.A.: Methyl mercury poisoning in Iraq. *Science*, 81, 230 (1973).
- 4) Clark, J.A., Kasselberg, A.G., Glick, A.D., and Oneil, J.A.: Mercury poisoning from merbromin therapy of omphalocele. *Clin. Ped.* 21, 445 (1982).
- 5) Steinwall, O., and Olsson, Y.: Impairment of the blood-brain barrier in mercury poisoning. *Acta. Neurol. Scandinav.* 45, 351 (1969).
- 6) Verity, M.A., and Brown, W.J.: Hg^{2+} -induced kidney necrosis. *Am. Jl. Pathol.* 61, 57 (1970).
- 7) Taylor, N.S.: Histochemical studies of nephrotoxicity with sublethal doses of mercury in rats. *Am. Jl. Pathol.* 46, 1 (1965).
- 8) Paller, M.S.: Free radical scavengers in mercuric chloride-induced acute renal failure in the rat. *J. Lab. Clin. Med.* 105, 459 (1985).
- 9) McCord, J.M., and Fridovich, I.: Superoxide dismutase. Enzymatic function for erythrocyte. *J. Biol. Chem.* 244, 6049 (1969).
- 10) Badwey, J.A., and Karnovsky, M.L.: Production of superoxide and hydrogen peroxide by an NADH-Oxidase in guinea pig polymorphonuclear leukocytes. *J. Biol. Chem.* 254, 11530 (1979).
- 11) Lee, Y.M., Ayala, F.J., and Misra, H.P.: Purification and properties of SOD from drosophila melanogaster. *J. Biol. Chem.* 256, 8506 (1981).
- 12) Weisiger, R.A., and Fridovich, I.: SOD, organelle specificity. *J. Biol. Chem.* 248, 3582 (1973).
- 13) Aebi, H.: Colorimetric assay, methods of enzymatic analysis 2nd ed., New York Academic press., Bergmeyer, H.U.P. 673 (1974).
- 14) Lowry, C.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.S.: Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265 (1951).
- 15) Levander, O.A.: Considerations on the assessment of selenium status. *Fed. Proc.* 44, 2579 (1985).
- 16) Naganuma, A.: Interaction of selenium with mercury in animals. *EISEI KAGAKU*. 29, 173 (1983).
- 17) Jhoo, W.K., Kim, H.C., Huh, I.H., and Sohn, D.H.: The influence of selenium on relation between locomotor activity and brain mercury contents in rats. *Res. Bull. Kang Weon Nat. Univ.* 21, 151 (1985).
- 18) Robertson, D.S.F.: Selenium—a possible teratogen?

- The Lancet.* 1, 518 (1970).
- 19) Potter, S., and Matrone, G.: Effect of selenite on the toxicity of dietary methylmercury and mercuric chloride in the rats. *J. Nutr.* 104, 638 (1974).
 - 20) Genther, H.E., Coudie, C., Sunde, M.L., Kopecky, J.J., Wagner, P., Oh, H.S., and Hoekstra, G.: Selenium, relation to decuated toxicity of methylmercury added to diets containing Tuna. *Science.* 175, 1122 (1972).
 - 21) 瀧澤 行雄: マグロ魯船員の 健康問題をめぐって, 科擧. 42, 512 (1972).
 - 22) Parizek, I., and Nstadalova, I.: The protective effect of small amount of selenite in sublimate intoxication. *Experimentia.* 23, 142 (1967).
 - 23) Iwata, I., and Okamoto, H.: Effect of selenium on methyl mercury poisoning. *Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol.* 5, 673 (1973).
 - 24) Stoewsand, G.S., Bache, C.A., and Lisk, D.J.: Dietary selenium, protection of methyl mercury intoxication of Japanese Quail. *Bull. Environ.* 11, 152 (1974).
 - 25) Sohn, D.H., Kim, H.C., Heo, M.Y., Jhoo, W.K., and Huh, I.H.: Effects of sodium selenite on merthiolate-induced mercury distribution in Rat. *Yakhak Hoji.* 29, 223 (1985).
 - 26) Rotruck, J.T., Pope, A.L., Ganther, H.E., Swanson, A.B., Hafeman, D.G., and Hoekstra, W.G.: Selenium, biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science.* 179, 588 (1973).
 - 27) Haber, F., and Weiss, J.: The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron slats. *Proc. R. Soc. A.* 147, 332 (1934).
 - 28) Halliwell, B., and Gutteridge, J.M.C.: Review article-Oxygen toxicity, Oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* 219, 1 (1984).
 - 29) Gutteridge, J.M.C.: Superoxide dismutase inhibits the superoxide-driven Fenton reaction at two different levels. *F.E.B.S. Letters.* 185, 19 (1985).
 - 30) Paller, M.S., Hoidal, J.R., and Ferris, T.F.: Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J. Clin. Invest.* 74, 1156 (1984).
 - 31) Parks, D.A., Bulkley, G.G., Granger, D.N., Hamilton, S.R., and McCord, J.M.: Ischemic injury in the cat small intestine; Role of superoxide radicals. *Gastroenterol.* 82, 9(1982).