

## 일산화탄소 중독이 뇌내 아미노산 신경전달물질 함량변화에 미치는 영향

정민정 · 박송자\* · 이선희 · 윤재순

이화여자대학교 약학대학

\* KIST 도핑컨트롤센터

(Received August 13, 1990)

### The Effect of Carbon Monoxide Intoxication on the Changes in Contents of Amino Acid Neurotransmitter of Rat Brain

Min Jung Jung, Son Ja Park\*, Sun Hee Lee and Jae Soon Yun

College of Pharmacy, Ewha Women's University, Seoul 120-750, Korea

\*KIST, Doping Control Center

**Abstract**—To study influence of carbonmonoxide (CO) poisoning on the content of amino acid neurotransmitter in brain, male rat was exposed to CO 5000 ppm for 30 minutes (60-75% HbCO). Aspartic acid and glutamic acid level in the cerebral cortex and aspartic acid level in the striatum were significantly decreased. GABA level in the cerebral cortex was significantly increased after the 30 and 60 minutes of CO intoxication. Taurine level in both the cerebral cortex and the striatum was increased although nonsignificant. Consequently, the CO-induced hypoxia brain showed lower level of excitatory neurotransmitter, aspartic acid and glutamic acid and higher level of inhibitory neurotransmitter, GABA and taurine. These results suggest that the change in content of amino acid neurotransmitter in the rat brain may be concerned with several CO poisoning symptoms.

**Keywords** □ Amino acid neurotransmitter, aspartic acid, glutamic acid, taurine,  $\gamma$ -aminobutyric acid, CO intoxication.

일산화탄소 (CO)는 sulfur oxide, hydrocarbon 등과 더불어 5대 공기 오염물질 중의 하나이다.<sup>1)</sup> CO는 자동차 배기가스, 공장배출연기 특히 우리나라의 경우는 CO를 가장 많이 발생하는 연탄을 가정연료로 사용하고 있어 그 피해가 심각한 문제로 대두되고 있다. CO는 체내에 흡입되면 쉽게 일산화탄소헤모글로빈 (HbCO)을 형성하여 조직으로의 산소운반을 감소시키고 산소헤모글로빈 (HbO<sub>2</sub>)으로부터 산소해리도 저해하여 결국 저산소증이 유발된다.<sup>2)</sup>

CO는 뇌에는 특히 예민하여 아주 낮은 농도의 CO를 흡입해도 심한 중추신경병변을 나타내어<sup>3)</sup> 치매, 우울, 판단력장애, 지각장애, 파킨슨씨병, 언어

장애, 장기혼수 등 다양한 신경정신계 증상과 지연성후유증이 나타나고<sup>4,5)</sup> 이 지연성후유증은 CO 중독시의 저산소증에서만 나타난다고 하였다.<sup>4)</sup> 이같은 중독증상 발현에 대한 정확한 원인은 밝혀지지 않았으나 파킨슨씨병, 정신분열증 및 우울증 등과 같은 신경정신질환이 중추신경계의 신경전달물질의 변화에 기인한다는 것이 알려져 이러한 질환에 신경전달물질이나 그 수용체에 작용하는 약물을 투여하였을 때 치료되는 것으로 보아, CO 중독시에 이러한 신경증상을 나타내므로 뇌내 신경전달물질의 변동이 있을 것으로 예상된다. Newby,<sup>6)</sup> Macmillan 등<sup>3)</sup>은 CO 중독시에 뇌내 dopamine의 함량변화를 보고하였다. 또한 여러 원인의 저산소증 상태에서 뇌

내 acetylcholine 과 아미노산 신경전달물질의 함량이 감소하고 이 때, 행동장애가 나타난다는 결과도 보고되었다.<sup>7,8)</sup>

따라서 CO 중독으로 인한 저산소증에서도 아미노산 신경전달물질의 함량변화가 있으리라 생각되어 CO에 가장 예민하다고 알려진 대뇌피질과 선조체에서<sup>9)</sup> 아미노산 신경전달물질인 aspartic acid, glutamic acid, taurine 및  $\gamma$ -aminobutyric acid의 함량변화에 미치는 CO의 영향을 연구하고자 하였다.

### 실험재료 및 방법

**측정용 시약**—L-Aspartic acid, L-glutamic acid,  $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA), Taurine, 3-Mercaptopropionic acid, phenylisothiocyanate는 Sigma Chem. Co.에서 구입하였고 Triethylamine은 Aldrich Chem. Co.에서 과염소산( $\text{HClO}_4$ )은 Junal Chem. Co.에서 구입하였다. 아미노산 분석에 사용되는 용매인 Acetonitrile, Methanol은 HPLC grade를 사용하였으며 용매제조에 쓰이는 물은 Milli-Q grade의 물을 사용하였다.

**실험기기**—중독 chamber 내의 CO 농도의 측정에는 CO 검지관과 검지기 (Gastec. Co. Japan)로 하였으며 원심분리기는 Beckman model J2-21을 사용하였다. UV/visible spectrophotometer는 Shimazu UV-240을 사용하였고 아미노산의 phenylisothiocyanate 유도체화 반응은 PICO. TAG (Millipore)를 사용하였다. 아미노산은 HP1090M liquid chromatograph (Hewlett-Packard)로 분석하였고 DR5 solvent delivery system, autosampler, autoinjector, DIODE-ARRAY detector, HP9000~3000 computer, HP9133 disc drive, HP7475 plotter, thinkjet printer 및 PH hypersil octadecylsilane column (4.6 mm \* 10 cm, particle size 5  $\mu\text{m}$ )을 사용하였다.

**실험동물**—체중 300~400g의 Wistar 계 웅성 흰쥐를 사용하였으며, 실험전까지 물과 고형사료를 자유로이 공급하였다. 사육실내 온도는  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 유지하였고 명암은 12시간씩 자동조절 장치로 조절하였다.

**일산화탄소 중독증 모델**—일산화탄소 중독은

180l 용적의 stainless steel chamber에  $\text{CO} : \text{N}_2 : \text{O}_2 = 1 : 79 : 20(\%)$ 의 혼합 gas를 2l/min의 기속으로 30분간 흘려주어 행하였으며 이 때 chamber 내 농도는 약 5000 ppm으로 유지되었다. 정상대조군은 CO gas 대신 압축공기를 같은 조건으로 흘려주었다.

**시료 추출**—저산소증군은 CO 5000 ppm으로 30분간 노출, 중독시켜 중독즉시와 30분, 1시간, 3시간 경과 후에 각각 단두 치사시켰으며 정상대조군은 압축공기를 30분간 흘려준 후 단두 치사시켰다. 사후의  $\gamma$ -amino-butyric acid (GABA) 증가를 막기 위해 단두시키기 2분 전에 꼬리 정맥에 1.5 mM/kg의 3-mercaptopropionic acid를 주사하였다. 단두한 후 즉각 dry ice에 넣고 10분간 방치한 후 뇌를 꺼내어 0.9% 생리 식염액으로 세척하고  $0 \sim 4^\circ\text{C}$ 에서 대뇌피질과 선조체조직에 병냉한 0.4 M  $\text{HClO}_4$  수용액을 각각 4 ml, 1 ml 가하여 10분간 고정시켜 단백질을 제거한 후 homogenizer로 30초간 균질화시켰다. 이 균질액을 21,000 \* g로  $4^\circ\text{C}$ 에서 10분간 원심분리하여 상등액을 취하고 침전에 0.4 M  $\text{HClO}_4$  2.5 ml, 0.5 ml를 각각 가하고 재균질화하여 같은 조건에서 10분간 원심분리하여 얻은 상등액을 2 M KOH로 pH 2.5로 맞추어 과잉의  $\text{HClO}_4$ 를 중화시킨 후 다시 21,000 \* g로  $4^\circ\text{C}$ 에서 10분간 원심분리하여 얻어진 상등액을 아미노산 정량용 시료로 사용하였다.

**일산화탄소 헤모글로빈량 측정**—CO 중독용 chamber에서 꺼낸 즉시 안정맥총에서 채혈하여 Tietz 등법<sup>11)</sup>에 따라 HbCO 포화도를 측정하였다.  $\text{HbO}_2$ 와 HbCO를 함유하는 혈액의 알칼리 회색액은 가시영역에서 double bond로 비슷한 흡수극대를 나타내는  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  처치시  $\text{HbO}_2$ 는 탈산소 헤모글로빈으로 변화하는 반면 HbCO는 이 시약에 영향을 받지 않으므로 541 nm와 555 nm에서 나타나는  $\text{HbO}_2$ 와 HbCO 각각의 흡수극대율을 측정하여 그 비율로 HbCO량을 표준곡선에서 구하였다. 표준곡선은 흰쥐의 안정맥총에서 채혈한 혈액을 *in vitro*로 순수한 CO 및  $\text{O}_2$ 로 각각 15분 포화시켜 100%와 0%의 HbCO를 만들어 표준곡선의 양 끝점을 구하였다. 물리적으로 녹아 있는 CO를 구속시키기 위해  $\text{N}_2$  gas로 처리하였다. 이 질소처리시료와 산소처리시료를 각각 8 : 2 및 5 : 5로 혼합하

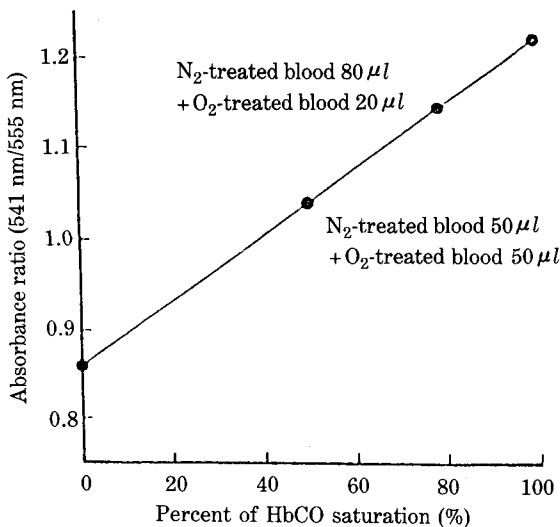


Fig. 1—Standard curve for the conversion of the 541 nm/555 nm absorbance ratio to percent carboxyhemoglobin saturation.

In standard curve, one intermediate point is mixture of 50  $\mu$ l of a nitrogen treated blood and 50  $\mu$ l of an oxygen treated blood, another point is mixture of nitrogen treated blood 80  $\mu$ l and oxygen treated blood 20  $\mu$ l.

로서 표준곡선의 중간점을 구하였다(Fig. 1).

**아미노산 정량**—대뇌피질과 선조체를 0.4 M HClO<sub>4</sub> 용액으로 제단백, 균질화하여 얻은 시료 50 ml 씩을 각각 취하여 반응용기에 넣고 PICO. TAG work station에서 감압 건조시켰다.<sup>12)</sup> 완전히 건조시킨 후 methanol, H<sub>2</sub>O, triethylamine, phenylisothiocyanate를 7:1:1:1로 혼합한 유도제 시약 20  $\mu$ l를 가하여 5초 동안 섞어주고 20분 동안 실온에서 방치하여 반응시키고 PICO. TAG에서 감압 건조시켰다. Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 710 mg을 H<sub>2</sub>O 1l에 용해시켜 10% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>로 pH 7.4로 조절하고 그 용액 950 ml에 acetonitrile 50 ml를 가하여 혼합하고 여과한 용액 250  $\mu$ l를 가하여 시료를 완전히 용해시켜 이를 HPLC를 이용한 아미노산 분석용 시료로 사용하였다. 아미노산 분석을 위한 이동상은 pH 6.7~6.8의 인산염완충액과 acetonitrile을 gradient elution하였고(Table I) 1 ml/min의 속, 5  $\mu$ l의 주입용량으로 254 nm에서 측정하였다. 아미노산의 정량은 외부 표준물질로 peak 면적을 검량한 표준곡선을 이용하여 구하였다. 표준곡선은

Table I—Chromatographic gradient conditions.

Time (min)	Percent of solution A	Percent of Solution B
Initial	100	0
15	95	5
16	70	30
18	60	40
21	50	50

Solution A: Phosphate buffer (0.01 M K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> and 0.02 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> in distilled water, pH 6.7-6.8)

Solution B: acetonitrile

aspartic acid, glutamic acid, taurine 및  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA)의 각 아미노산 표준품의 농도에 따른 peak 면적을 검량하여 작성하였다.

**통계 분석**—모든 실험값은 평균±표준오차로 표시하였으며 Student t-test에 의해 유의성을 검정하여 p<0.05일 때 유의성이 있다고 판정하였다.

## 결 과

**일산화탄소 헤모글로빈량 변화**—혈액 중의 HbCO 포화도를 측정하기 위하여 정상 흰쥐에서 채혈한 혈액을 순수한 CO와 O<sub>2</sub>로 포화시켜 표준곡선을 작성하였다(Fig. 1). CO 5000 ppm으로 30분 중독시킨 직후의 HbCO 포화도는 72%였고 지연호흡에 의하여 회복시킬 때 3시간 후에 정상으로 회복되었다(Fig. 2).

**정상뇌 중 아미노산 신경전달물질 함량변화**—대뇌피질과 선조체에서 얻은 시료를 역상 chromatography에 의해 분리하여 아미노산을 분석하였으며 정상대조군의 대뇌피질과 선조체 중의 아미노산을 분리한 chromatogram을 Fig. 3, 4에 표시하였다. 아미노산은 Fig. 5~8에 나타난 aspartic acid, glutamic acid, taurine,  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA)의 표준곡선을 이용하여 함량을 구하였다. 정상대조군의 대뇌피질과 선조체 중 아미노산 신경전달물질의 함량은 각각 aspartic acid가 5.57, 4.24  $\mu$ mole/g 뇌조직이고, glutamic acid가 16.67, 16.04  $\mu$ mole/g 뇌조직이고 taurine이 5.12, 6.35  $\mu$ mole/g 뇌조직이며 GABA가 2.49, 3.60

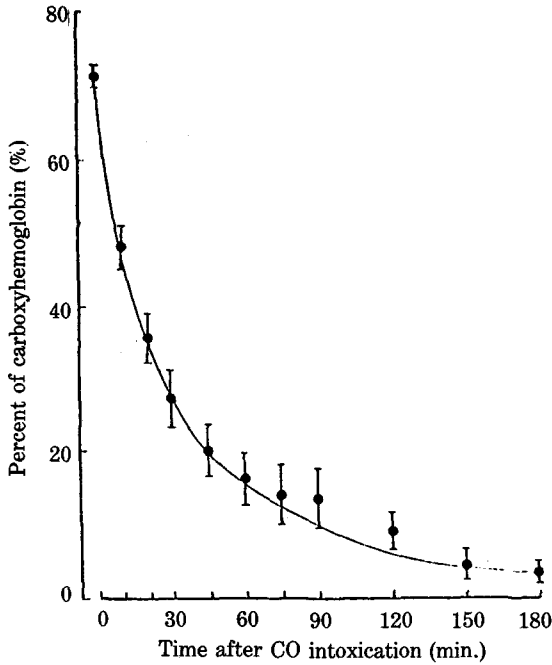


Fig. 2—Carboxyhemoglobin percent during the recovery time after intoxication in 5000 ppm CO for 30 min.

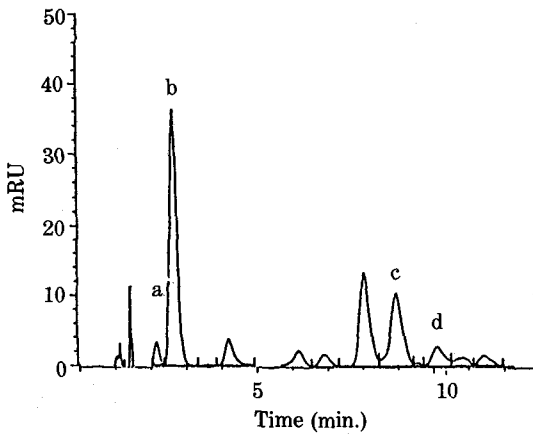


Fig. 3—The chromatogram of amino acid neurotransmitter in control cortex. a; aspartic acid b; glutamic acid c; taurine d;  $\gamma$ -aminobutyric acid.

$\mu\text{mole/g}$  뇌조직으로 aspartic acid는 대뇌피질 조직에 더 많이 함유되어 있고 taurine과 GABA는 선조체 조직 중에 더 많이 함유되어 있다(Table II).

일산화탄소 중독 대뇌피질 중 아미노산 신경전달

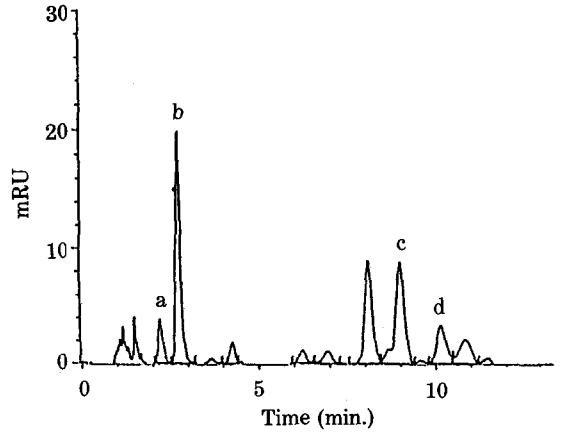


Fig. 4—The chromatogram of amino acid neurotransmitter in control striatum. a; aspartic acid b; glutamic acid c; taurine d;  $\gamma$ -aminobutyric acid.

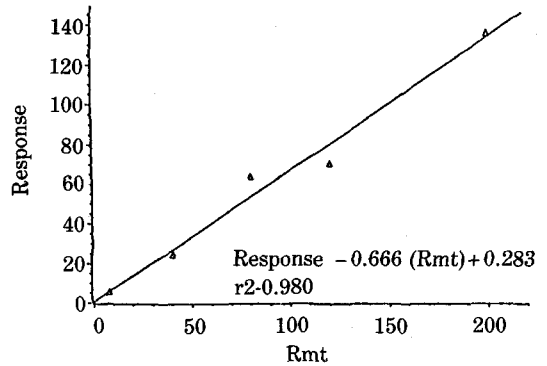


Fig. 5—Aspartic acid standard curve.

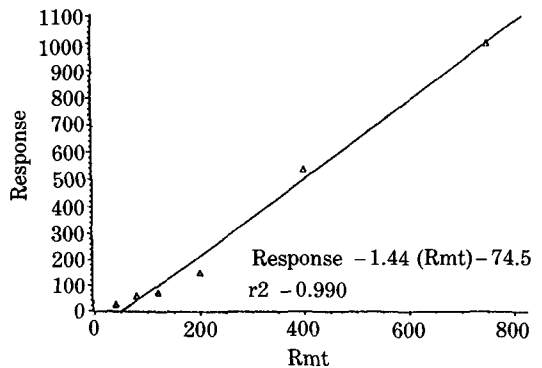


Fig. 6—Glutamic acid standard curve.

물질의 함량변화—CO5000 ppm으로 30분간 중독시킨 후 중독 즉시 30, 60 및 180분 경과시의 대뇌피질의 아미노산 신경전달물질의 함량을 측정된 결과

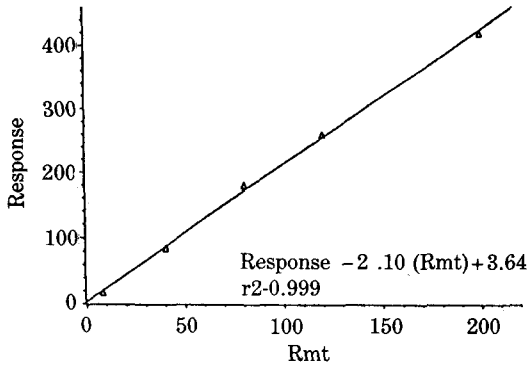


Fig. 7—Taurine standard curve.

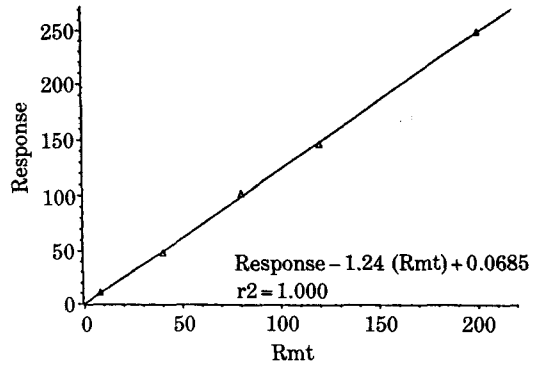


Fig. 8—GABA standard curve.

Table II—The contents of amino acid neurotransmitter in cerebral cortex and striatum of normal rats

Contents ( $\mu\text{mol/g}$ brain tissue)				
Brain region	Aspartic acid	Glutamic acid	Taurine	GABA
Cerebral cortex	5.57 ± 0.28 (6)	16.57 ± 0.48 (6)	5.12 ± 0.25 (7)	2.49 ± 0.30 (7)
Striatum	4.24 ± 0.41 (6)	16.04 ± 0.63 (6)	6.35 ± 0.27 (7)	3.60 ± 0.61 (6)

Values are means ± S.E.M. of the number of animals in parentheses.

Table III—The contents of amino acid neurotransmitter in cerebral cortex after CO intoxication.

Contents ( $\mu\text{mol/g}$ brain tissue)					
Group	Time after intoxication (min)	Aspartic acid	Glutamic acid	Taurine	GABA
Control	-	5.57 ± 0.28 (6)	16.67 ± 0.48 (6)	5.12 ± 0.25 (7)	2.49 ± 0.30 (7)
CO intoxication	0	1.13 ± 0.06** (7)	4.94 ± 0.21** (7)	5.04 ± 0.12 (7)	3.32 ± 0.20 (5)
	30	1.27 ± 0.11** (4)	4.32 ± 0.18** (5)	6.18 ± 0.45 (5)	3.66 ± 0.27* (5)
	60	1.16 ± 0.03** (4)	4.53 ± 0.36** (4)	4.74 ± 0.39 (4)	3.73 ± 0.38* (4)
	180	2.48 ± 0.11** (4)	7.29 ± 0.43** (4)	4.98 ± 0.48 (4)	2.52 ± 0.14 (3)

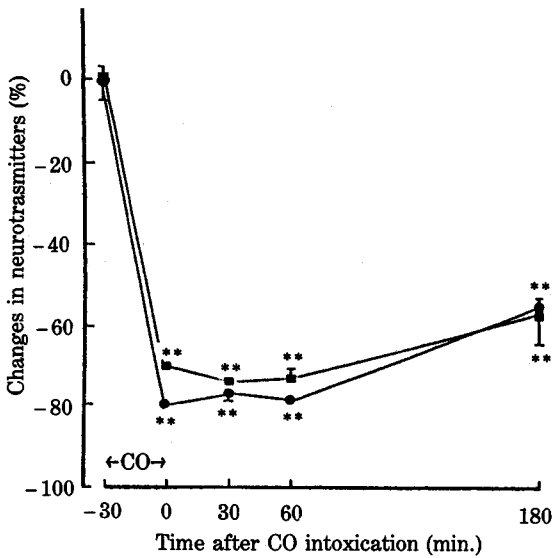
Values are means ± S.E.M. of the number of animals in parentheses.

Significantly different from the control values.

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$

는 Table III과 같고, 정상대조군에 대한 증감률은 Fig. 9, 10 과 같다. 정상뇌에서 aspartic acid, glutamic acid는 5.57, 16.67  $\mu\text{mole/g}$  뇌조직이었으나 CO에서 30분 중독시킨 후의 저산소성 뇌에서는 1.13, 4.94  $\mu\text{mole/g}$  뇌조직으로 각각 79.7, 70.3%의 현저한 감소를 나타내었으며 ( $p < 0.01$ ) taurine, GABA 함량은 CO 중독으로 5.04, 3.32  $\mu\text{mole/g}$  뇌조직으로 GABA의 경우 33.3% 증가되었지만 유의성은 없었고 taurine은 거의 변하지

않았다. 중독 후 30분 경과시에는 aspartic acid, glutamic acid의 함량은 중독 직후의 저산소성뇌와 비교하여 커다란 변화를 나타내지 않았으며 GABA, taurine은 대조군에 비하여 각각 46.9%, 20.7% 증가되었으나 taurine의 경우 유의성은 없었다. 중독 후 1시간 경과시에는 중독 후 30분 경과시에 비하여 aspartic acid glutamic acid는 큰 변화를 보이지 않았으며 taurine은 대조군에 비하여 7.4% 감소하였으나 유의성은 없었다. 중독 후 3시



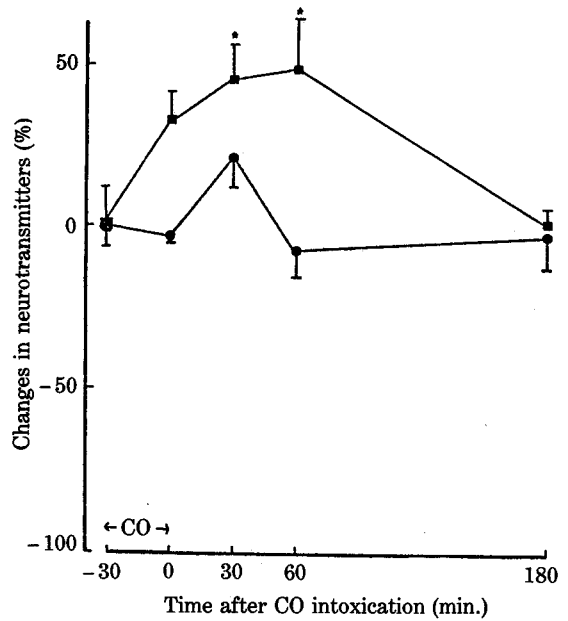
**Fig. 9**—The effects of recovery after CO intoxication on the contents of aspartic acid and glutamic acid in rat cerebral cortex.

Each point is expressed as ratio to the change in contents of aspartic acid and glutamic acid in control group.

Vertical lines indicate  $\pm$  S.E.M.

Significant difference compared with control values.

\*\* $p < 0.01$  ●—● Aspartic acid ■—■ Glutamic acid.



**Fig. 10**—The effects of recovery after CO intoxication on the contents of taurine and GABA in rat cerebral cortex.

Each point is expressed as ratio to the change in contents of taurine and GABA in control group.

Vertical lines indicate  $\pm$  S.E.M.

Significant difference compared with control values.

\* $p < 0.05$  ●—● Taurine ■—■ GABA

간 경과시에 aspartic acid, glutamic acid 는 중독 직후에 비하여 증가는 되었으나 정상뇌에 비하여 각각 55.4, 56.2% 감소로 정상뇌의 함량에는 도달하지 못하였고 taurine, GABA 함량은 정상뇌와 거의 유

사하게 회복되었다.

일산화탄소 중독 선조체 중 아미노산 신경전달물질의 함량변화—CO 5000 ppm 으로 30분 중독시킨

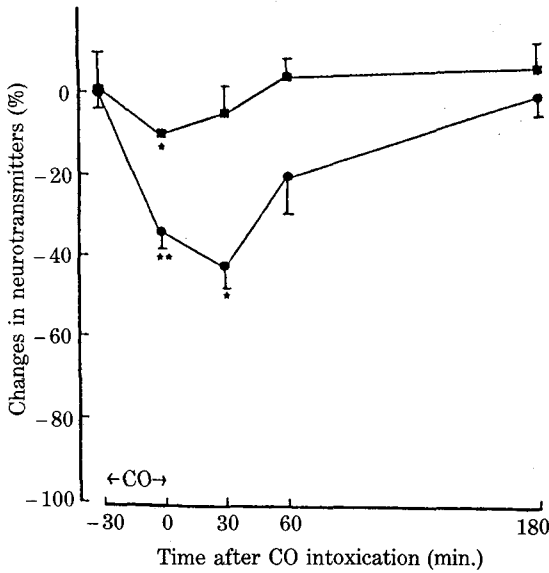
**Table VI**—The contents of amino acid neurotransmitter in striatum after CO intoxication.

Group	Time after intoxication (min)	Contents ( $\mu$ mol/g brain tissue)			
		Aspartic acid	Glutamic acid	Taurine	GABA
Control	—	4.24 $\pm$ 0.41 (6)	16.04 $\pm$ 0.63 (6)	6.35 $\pm$ 0.27 (7)	3.60 $\pm$ 0.61 (7)
CO intoxication	0	2.84 $\pm$ 0.19** (7)	14.59 $\pm$ 0.26* (6)	6.50 $\pm$ 0.10 (7)	3.89 $\pm$ 0.14 (6)
	30	2.73 $\pm$ 0.24* (5)	15.38 $\pm$ 1.13 (5)	7.25 $\pm$ 0.52 (3)	3.00 $\pm$ 0.25 (4)
	60	3.44 $\pm$ 0.75 (5)	16.92 $\pm$ 0.68 (4)	6.57 $\pm$ 0.28 (3)	2.81 $\pm$ 0.31 (3)
	180	4.27 $\pm$ 0.23 (4)	17.12 $\pm$ 1.02 (4)	6.45 $\pm$ 0.08 (3)	3.50 $\pm$ 0.32 (3)

Values are means  $\pm$  S.E.M. of the number of animals in parentheses.

Significantly different from the control values.

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$



**Fig. 11** — The effects of recovery after CO intoxication on the contents of aspartic acid and glutamic acid in rat striatum.

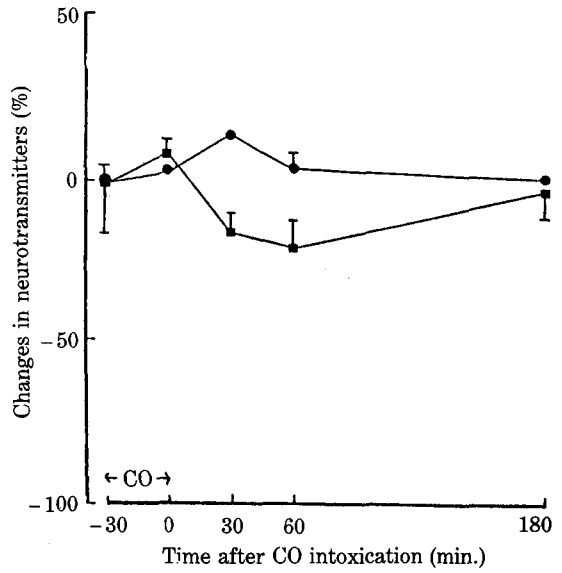
Each point is expressed as ratio to the change in contents of aspartic acid and glutamic acid in control group.

Vertical lines indicate  $\pm$ S.E.M.

Significant difference compared with control value

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$

●—● Aspartic acid ■—■ Glutamic acid



**Fig. 12** — The effects of recovery after CO intoxication on the contents of taurine and GABA in rat striatum.

Each point is expressed as ratio to the change in contents of aspartic acid and glutamic acid in control group.

Open symbols represent control values.

●—● Taurine ■—■ GABA

후 중독 즉시, 30, 60 및 180분 경과시 선조체에서의 아미노산 신경전달물질의 함량을 측정한 결과를 Table IV에 표시하였고, 정상대조군에 대한 증감률은 Fig. 11, 12에 표시하였다. 정상뇌에서 aspartic acid, glutamic acid는 4.24, 16.04  $\mu\text{mole/g}$  뇌조직이었으나 30분 중독 후에는 2.84, 14.59  $\mu\text{mole/g}$  뇌조직으로 정상뇌에 비해 35.0, 9.0%의 감소를 나타내었으며 정상뇌에서 taurine, GABA는 6.35, 3.60  $\mu\text{mole/g}$  뇌조직인데 비하여 CO 30분 중독 후의 저산소성뇌에서는 6.50, 3.89  $\mu\text{mole/g}$  뇌조직으로 약간 증가되었으나 유의성은 없었다. 중독 후 30분경과시에 aspartic acid는 2.73  $\mu\text{mole/g}$  뇌조직으로 대조군에 비해 35.6% 감소하였다( $p < 0.05$ ). Glutamic acid는 CO 중독 30분 경과 후에 15.38  $\mu\text{mole/g}$  뇌조직으로 정상뇌에 비해 4.1%의 감소에 그쳤다. Taurine은 14.1% 증가, GABA는 16.6% 감소하였으나 유의성은 없었다. 중독 후 1시

간 경과시에는 중독 후 30분 경과시와 비교하여 aspartic acid, glutamic acid는 증가되어 회복되는 경향을 나타내었고 taurine, GABA는 감소되었지만 유의성은 없었다. 중독 후 3시간 경과시에는 aspartic acid, glutamic acid, taurine, GABA는 대조군에 비하여 각각 0.7, 6.7, 1.5, 2.7%의 근소한 증감률을 나타내어 모두 정상뇌와 거의 유사하게 회복됨을 보였다.

**고 찰**

CO 5000 ppm에서 30분간 중독시켰을 때 CO는 적혈구내 혈액소와의 친화력이 산소보다 210배나 크기 때문에 대기 중의 CO가 흡입되면 쉽게 Hb과 결합하여 HbCO를 형성하여 조직으로의 산소운반을 감소시킬 뿐만 아니라 이미 결합되어 있는 HbO<sub>2</sub>로부터의 산소해리도 저해되어 결국 심한 저산소증이 유발되어 Fe<sup>2+</sup>이나 Cu<sup>2+</sup>과의 친화력도 강하여 이 같은 금속이온을 함유한 효소활성도 크게 저하시키며 특히 조직내 호흡효소인 mitochondrial

cytochrome oxidase 내에 함유된 금속이온과 착화합물을 형성하여 전자전달계를 방해하여 조직내 산화환원의 조직대사를 억제한다.<sup>14)</sup> 특히 CO는 중추신경계에서도 크게 손상을 주어<sup>9)</sup> 대뇌피질, 선조체 및 흑질 등에 다양한 신경 및 정신계 증상이 나타나며<sup>5)</sup> 이것은 중추신경계 전달물질의 변화,<sup>3,6)</sup> 구연산회로의 중간산물과 에너지 인산화물의 변화<sup>15,16)</sup> 및 뇌혈류량의 저하 등<sup>17,18)</sup>이 원인일 수 있다는 여러 각도에서의 연구가 보고 되어 있다.

본 실험에서도 CO 5000 ppm에서 30분 동안 중독시켰을 때 대뇌피질과 선조체에서 흥분성 아미노산 신경전달물질인 aspartic acid와 glutamic acid의 함량은 감소되었고 억제성 신경전달 아미노산 GABA는 유의성은 없었으나 증가되었다. 이는 CO에 의한 저산소증 이외에도 N<sub>2</sub> gas를 사용한 저산소증에서 실시한 Wood 등의 보고<sup>19)</sup>와 허혈상태에서 실시한 Erecinska 등<sup>20,21)</sup>의 실험결과에서 나타난 양상과 일치하였다. 또한 Weinberger 등<sup>8)</sup>은 mongolian gerbil의 좌측 경동맥을 결찰하여 유발시킨 허혈성뇌의 선조체에서 얻은 synaptosome은 glutamic acid의 도입을 감소시킨다고 하였으며 David 등<sup>22)</sup>은 동일조건외 허혈성 대뇌피질에서 GABA량이 현저히 증가되었다고 보고하였다. 이것은 CO로 인한 저산소증시에 뇌내에서의 흥분성의 감소와 억제성의 증가를 반영하는 것으로 추정된다.

Gibson 등<sup>7)</sup>은 aspartic acid, glutamic acid는 glucose의 분해, 즉 구연산회로의 중간체로부터 유래되는데 저산소증시에는 이를 경유하여 합성되는 이들 아미노산의 함량이 감소된다고 하였다. 뇌혈관 관문을 통과할 수 있는 에너지원은 유일하게 glucose만으로 동맥혈에서 O<sub>2</sub>와 glucose를 공급받아 해당계, 구연산회로 및 전자전달계를 거쳐 ATP 등의 고에너지 인산화물 중간체형으로 에너지를 얻어 신경전달물질의 합성과 뇌기능 유지의 연료로 사용하는데 CO 중독으로 O<sub>2</sub> 공급이 부족한 저산소증 상태에서는 glucose의 뇌내 흡수가 50% 이하로 감소되어<sup>23)</sup> 에너지 산생계 장애로 ATP 결핍이 일어나 신경 기능유지에 혼란이 야기된다. Prejer,<sup>24)</sup> Hagberg<sup>25)</sup>, Benveniste 등<sup>26)</sup>은 저산소증시에 ATP 저하로 ATP 의존적인 reuptake system의 손상으로 aspartic acid, glutamic acid

가 세포외로 방출되어 세포내에서의 함량이 감소하고 결국에는 혈액속으로 흘러 나간다고 하였다. Aspartic acid, glutamic acid에 대한 reuptake system은 GABA에 비해 저산소증에 더욱 민감하다는 실험 보고가 있다.<sup>20)</sup> 이러한 흥분성 신경전달물질의 synaptic cleft로의 방출은 세포에 지속적인 탈분극을 유도하여 positive feedback cascade reaction에 의하여 다른 여러 신경전달물질 및 뇌전체에 다량 분포되어 있는 glutamic acid, aspartic acid의 유리를 증강시킨다. Glutamic acid는 neurotoxic하기 때문에 이 아미노산의 다량 방출은 neuron에 상당한 손상을 미칠 수 있다고 보고된 바 있다.<sup>27-30)</sup>

신경조직에서의 GABA 함량은 합성효소인 glutamic acid decarboxylase(GAD)와 분해효소인 GABA-transaminase에 의하여 조절된다고 한다.<sup>20,30)</sup> 저산소증과 허혈상태에서는 대사성 수소가 온농도의 증가로 GAD 활성이 촉진된다는 실험보고가 있다.<sup>31)</sup> 또한 정상뇌에서 GAD는 cofactor인 pyridoxal-5'-phosphate에 의하여 부분적으로 포화되어 있다고 한다.<sup>32)</sup> Glutamate는 pyridoxal phosphate의 해리를 촉진함으로써 또한 ATP는 그 결합을 억제함으로써 GAD 활성을 감소시킨다고 하였다.<sup>32,33)</sup> 따라서 저산소증과 허혈상태에서는 glutamate와 ATP가 감소되어 GAD 활성을 촉진시킬 수 있으므로 GABA 함량이 증가되었다고 사료된다. GABA 분해시에는 산소가 요구되는데 CO로 인한 저산소증시에는 산소부족으로 GABA 분해효소인 GABA-transaminase 활성이 억제되어<sup>34)</sup> 조직내의 GABA 함량이 증가되었다고 생각된다. 또한 CO로 인한 저산소증시에 전체적인 산화적 대사가 손상되어 구연산회로의 GABA shunt pathway를 통한 GABA의 이용을 저하시키는 방향으로 유도할 수 있다는 보고가 있다.<sup>19)</sup> 이러한 여러 가능한 기전에 의하여 CO 중독시에 GABA 함량이 증가되었다고 사료된다. 본 실험에서의 GABA 함량의 증가가 Erecinska 등<sup>20)</sup>의 실험결과에서와는 달리 선조체에서 유의성이 없었던 것은 동물사후에 GAD 활성 증가로 인한 GABA 증가를 막기 위해 GAD 억제제인 3-mercapto propionic acid를 투여하였기 때문이라고 생각된다.

억제성 아미노산 신경전달물질인 taurine은 CO



로 30분 중독시에 함량이 감소되지 않았으며 중독 후 30분 경과시에 유의성은 없었으나 증가되었다. Taurine은 생체막을 통한  $Ca^{2+}$ 의 이동을 조절함으로써 내인성 항저산소 작용 기전에서 중요한 역할을 한다는 가설이 제시되고 있고 그에 따른 많은 실험 결과도 보고되어 있다.<sup>35-37)</sup> 따라서 본 실험에서의 함량변화는 CO로 인한 저산소증에서의 방어기전으로 설명될 수 있다.

본 실험의 CO 중독 후의 중추신경계 아미노산 신경전달물질의 함량변화가 CO 중독 후유증의 주된 원인이라고 결론을 지을 수는 없지만 한 유발기전으로써 작용할 수 있다는 가능성을 제시하였다고 본다.

## 결 론

CO 5000 ppm에서 30분간 중독시킨 직후 및 회복기를 대뇌피질과 선조체에서 아미노산 신경전달물질의 함량변화를 HbCO 포화도와 관련하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

CO 5000 ppm에서 30분간 중독시 혈중 HbCO 포화도는 72%였고 자연호흡에 의하여 3시간 경과시 정상으로 회복되었다.

흥분성 아미노산 신경전달물질인 aspartic acid와 glutamic acid는 모두 CO 중독으로 대뇌피질에서 유의적인 감소를 나타내었으나 선조체에서는 aspartic acid만이 유의적인 감소를 나타냈으며 중독 후 3시간 경과시에 선조체에서는 완전히 회복되었으나 대뇌피질에서는 중독 즉시에 비해 증가는 되었으나 정상치로 회복되지 못하였다.

억제성 아미노산 신경전달물질인 taurine은 대뇌피질과 선조체에서 중독 후 30분 경과시 유의적은 아니나 증가되었으며 중독 후 3시간 경과시에는 정상수준으로 회복되었다. 억제성 아미노산 신경전달물질인 GABA는 대뇌피질에서 중독 후 30분 및 1시간 경과시에는 유의적인 증가가 관찰되었고 3시간 경과시에는 거의 정상으로 회복되었다.

결론적으로 CO 중독된 저산소증 뇌에서 흥분성 아미노산 신경전달물질인 aspartic acid와 glutamic acid는 선조체와 대뇌피질에서 유의적으로 감소하였고 억제성 전달물질인 taurine과 GABA는 증가되는 경향이었으며 중독 후 3시간 경과시에도

대뇌피질에서 aspartic acid와 glutamic acid의 감소는 정상적으로 회복되지 못하였다. 이러한 뇌내 아미노산 신경전달물질의 함량변동이 신경장애와 서로 연관하여 뇌세포 장애를 일으키고 결과적으로 CO 중독의 여러 증상을 일으킬 수 있다고 본다.

## 문 헌

- 1) Amdur, M.O.: Air pollutants. In Caerey and Doull's Toxicology. (ed. Doull, J., Klaassen, C.D., Amdur, M.O.) 3rd. ed. Macmillan, p. 608 (1986).
- 2) Collier C.R.: Oxygen affinity of human blood in the presence of CO. *J. Appl. Physiol.*, **40**, 487 (1976).
- 3) Macmillan, V.A. comparison of the effects of carbon monoxide intoxication and low-oxygen gas mixture on cerebral biogenic amine metabolism. *Brain Research.*, **408**, 40 (1987).
- 4) Choi, I.S.: Delayed neurologic sequelae in carbon monoxide intoxication. *Arch. Neurol.*, **40**, 433 (1983).
- 5) Ginsberg, M.D., Delayed neurological deterioration following hypoxia, in: Advances in Neurology. (ed. Fahn, S., Davis, J.N., Rawland, L.P.) Raven Press. New York, p. 21 (1979).
- 6) Newby, M.B., Roberts, R.J., Bhathagar, R.K., Carbon monoxide- and hypoxia-induced effects on catecholamines in the mature and developing rat brain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **206**, 61 (1978).
- 7) Gibsen, G.E., Peterson, C. and Sansone, J.: Decreases in amino acid and acetylcholine metabolism during hypoxia. *J. Neurochem.*, **37**, 192 (1981).
- 8) Weinberger, J. and Cohen, G.: The differential effect of ischemia on the active uptake of dopamine, r-aminobutyric acid, and glutamate by brain synaptosomes. *J. Neurochem.*, **38**, 963 (1982).
- 9) Nardizzi, L.R.: Computed tomography correlate of carbon monoxide poisoning. *Arch. Neurol.*, **36**, 38 (1979).
- 10) Van der Heyden, J.A.M. and Korff, J. Regional levels of GABA in the brain: rapid semiautomated assay and prevention of postmortem increase by 3-mercaptopropionic acid. *J. Neurochem.*, **31**: 197 (1978).
- 11) Tietz, N.W., Fiereck E.A.: Fundamentals of clinical chemistry, 2nd ed. edited by N.W. Tietz, W.B. Saunders comp. 1105 (1982).
- 12) Cohen, S.A., Tarvin, T.L. and Bidlingmeyer, A. *Am.*

- Lab. August.*, **48**, (1984).
- 13) Bhushan, R. and Reddy, G.P. TLC of phenylthiohydantoin of amino acids: A Review. *J. Liq. Chromatogr.*, **10**(16), 3497 (1987).
  - 14) Chance, B., Erecinska, M. and Wagner, M. Mitochondrial response to carbon monoxide toxicity. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **174**, 193 (1970).
  - 15) Macmillan, V.: Cerebral energy metabolism during recovery from carbon monoxide hypoxia-oligemia. *Brain Research*, **151**, 353 (1978).
  - 16) Yun, J.S. and Choi, S.K.: Effects of carbon monoxide intoxication on the change in contents of cerebral energy metabolites of rat. *J. Pharm. Soc. Korea*, **33**, 149 (1989).
  - 17) Macmillan, V.: Regional cerebral blood flow of the rat in acute carbon monoxide intoxication. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **53**, 644 (1975).
  - 18) Lee, M.S., Kim, J.S., Chung, T.S., Suh, J.H.: Measurements of cerebral blood flow in delayed carbon monoxide sequelae using Xenone inhalation CT scan. *Yonsei Medical Journal*, **29**, 185 (1988).
  - 19) Wood, J.D., Atson, W.J. and Ducker, A.J.: The effect of hypoxia on brain  $\alpha$ -aminobutyric acid levels. *J. Neurochem.*, **15**, 603 (1968).
  - 20) Erecinska, M., Nelson, D., Wilson, D.F., Silver, I.A.: Neurotransmitter amino acids in the CNS. I.: Regional changes in amino acid levels in rat brain during ischemia and reperfusion. *Brain Research*, **304**, 9 (1984).
  - 21) Hauptman, M., Nelson, D., Wilson, D.F., Erecinska, M.: Neurotransmitter amino acids in the CNS. II. Some changes in amino acid levels in rat brain synaptosomes during and after *in vitro* anoxia and simulated ischemia. *Brain Research*, **304**, 23 (1984).
  - 22) David, W.L., Bogomir, B., Ranislava, J., Janet V.P. Igork: Putative neurotransmitters and cyclic nucleotides in prolonged ischemia of cerebral cortex. *Brain Res.*, **98**, 394 (1975).
  - 23) Inokuchi, Tomio, Hirano, T. etc.: Effect of MC12016 on cerebral glucose metabolism. *Folic Pharmacol. Japan*, **86**, 425 (1985).
  - 24) Drejer, J., Benveniste, H., Diemer, N.H. and Schovsboe, A. Cellular origin of ischemia-induced glutamate release from brain tissue *in vivo* and *in vitro*. *J. Neurochem.*, **45**, 145 (1985).
  - 25) Hagberg, H., Anderson, P., Kjellmer, I., Thringer, K. and Thordstein, M., Extracellular overflow of glutamate, Aspartate, GABA and taurine in the cortex and basal ganglia of fetal lambs during hypoxia-ischemia. *Neurosci. Lett.*, **78**, 311 (1987).
  - 26) Benveniste, H., Drejer, J., Schousboe, A. and Diemer, N.H.: Elevation of the extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis. *J. Neurochem.*, **43**, 1369 (1984).
  - 27) Olney, J.W. Neurotoxicity of excitatory amino acids, in Kainic acid as a tool in neurology. (eds. cGeer, E.G., Olney, J.W. and McGeer, P.L.) Raven Press, New York, p. 95 (1978).
  - 28) Van Harreveld, A. and Fifkova, E. Light and electromicroscopic changes in central nervous tissue after electrophoretic injection of glutamate. *Exp. Molec. Path.*, **15**, 61 (1971).
  - 29) Watkins, J.C. and Evans, R.H. Excitatory amino acid transmitters. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **21**, 165 (1981).
  - 30) Cooper, J.R., Bloom, F.E., Roth, R.H. Amino acid neurotransmitters. in *The Biochemical Basis of Neuropharmacol*, 5th ed. Oxford university Press (1986).
  - 31) Sze, P.Y., L-Glutamate decarboxylase. *Advanc. Exp. Med. Biol.*, **123**, 59 (1979).
  - 32) Seligman, B., Miller, L.P., Brockman, D.E. and martin, D.L. Studies on the regulation of GABA synthesis: interaction of adenine nucleotides and glutamate with brain glutamate decarboxylase. *J. Neurochem.*, **30**, 371 (1978).
  - 33) Turskw, T. and Lissanova, M., Inhibition of different molecular forms of brain glutamic acid decarboxylase (GAD) with ATP. *J. Neurochem.*, **30**, 903 (1978).
  - 34) Mrsulja, B.B., Mrsulja, B.J., Cvejic, V., Djuricic, B.M. and Rogac, Lj. Alterations of putative neurotransmitters and enzymes during ischemia in gerbil cerebral cortex. *J. Neural Transmission Suppl.*, **14**, 23 (1978).
  - 35) Schurr, A., Tseng, M.T., West, C.A. and Rigor, B.M., Taurine improves the recovery of neuronal functions following cerebral hypoxia: an *in vitro*

- study. *Life Sci.*, **40**, 2059 (1987).
- 36) Franconi, F., Stardini, I., Matucci, R., Bennardini, F., Baccaro, C. and Giotti, A., Taurine: Biological Actions and Clinical Perspectives. (eds. Oja, S.S., Liisa, A., Pirjo, K. and Matti, K.P.) Alan R. Liss, New York, p. 177 (1985).
- 37) Lehmann, A., Hagberg, H., Nystrom, B., Sandberg, M. and Hamberger, A: *ibid.*, p. 289 (1985).