

흰쥐 해마 절편에서 저산소증에 의한 [³H]-5-Hydroxytryptamine의 유리 변동에 미치는 superoxide dismutase/catalase의 영향

이경은 · 박월미 · 배영숙
이화여자대학교 의과대학 약리학교실

Effect of Superoxide Dismutase on the Release of [³H]-5-Hydroxytryptamine after Hypoxia from Rat Hippocampal Slices

Kyung Eun Lee, Wol Mi Park and Young Sook Pae

Department of Pharmacology, College of Medicine, Ewha Womans University
(Received October 22, 1997)
(Accepted November 20, 1997)

ABSTRACT : Many factors are known to be responsible for cerebral ischemic injury, such as excitatory neurotransmitters, increased intraneuronal calcium, or disturbance of cellular energy metabolism. Recently, oxygen free radicals, formed during ischemia/reperfusion, have been proposed as one of the main causes of ischemia/reperfusion injury. Therefore, to investigate the role of oxygen free radical during ischemia/reperfusion, in the present study the effect of endogenous oxygen free radical scavenger, superoxide dismutase/catalase(SOD/catalase) on the release of [³H]-5-hydroxytryptamine([³H]-5-HT) during hypoxia/reoxygenation in rat hippocampal slices was measured. The hippocampus was obtained from the rat brain and sliced 400 μm thickness with manual chopper. After 30 min's preincubation in the normal buffer, the slices were incubated for 20 min in a buffer containing [³H]-5-HT(0.1 μM, 74 μCi) for uptake, and washed. To measure the release of [³H]-5-HT into the buffer, the incubation medium was drained off and refilled every ten minutes through a sequence of 14 tubes. Induction of hypoxia for 20 min (gassing it with 95% N₂/5% CO₂) was done in the 6th and 7th tube, and oxygen free radical scavenger, SOD/catalase was added 10 minutes prior to induction of hypoxia. The radioactivity in each buffer and the tissue were counted using liquid scintillation counter and the results were expressed as a percentage of the total activity. When slices were exposed to hypoxia for 20 min, [³H]-5-HT release was markedly decreased and a rebound release of [³H]-5-HT was observed on the post-hypoxic reoxygenation period. SOD/catalase did not change the release of [³H]-5-HT in control group, but inhibited the decrease of [³H]-5-HT release in hypoxic period and rebound increase of [³H]-5-HT in reoxygenation period. This result suggest that superoxide anion may play a role in the hypoxic-, and reoxygenation-induced change of [³H]-5-HT release in rat hippocampal slices.

Key Words : SOD/catalase, [³H]-5-hydroxytryptamine release, Hypoxia, Hippocampal slices

I. 서 론

허혈성 뇌손상의 정도는 허혈 상태의 정도와 시간에 영향을 받으므로 재관류를 통한 산소 및 에너지원(포도당)의 신속한 재공급이 가장 근본적인 치료이나 (Murdoch 등, 1990) 최근 보고에 의하면 허혈 당시보다도 허혈이 발생한 조직으로 산소가 재공급되는 과정에서 신경세포 손상이 주로 발생한다고 한다(McCord, 1985).

이러한 재관류성 뇌손상의 원인으로 산소 유리기(oxygen free radical) 생성 및 그 역할이 중요시되고

있는데 정상 산소분압 상태에서도 적지만 독성이 있는 산소유리기가 생산되나 허혈시 나타나는 세포내 칼슘 증가가 재관류시 산소 유리기 생성에 중요한 역할을 담당한다고 한다. ATP 와해(breakdown)로 생성된 xanthine은 산소 유리기 전구 물질로 xanthine oxidase의 영향을 받아 superoxide anion을 생성하며 이는 다시 수소 이온과 반응하여 hydrogen peroxide를 생성하고 hydrogen peroxide와 superoxide anion은 ferritin, hemoglobin, myoglobin으로부터 유래된 철의 촉매 하에 매우 독성이 강한 hydroxyl radical을 형성하게 된다

(Siesjo, 1988). Superoxide anion과 hydroxyl radical은 대표적인 산소 유리기로, 지질막에 쉽게 손상을 나타내어 막 integrity를 소실시키고 유리지방산을 유리시켜 부종을 일으키고 arachidonic acid 대사 변동에 의한 여러 가지 손상을 일으킨다(Mead, 1976).

한편 이러한 산소 유리기에 의한 세포 손상을 막기 위하여 superoxide dismutase(SOD), catalase, glutathione peroxidase 등 산소 유리기 제거물질(free radical scavenger)이 작용을 한다. 정상 상태에서 superoxide anion은 SOD에 의하여 hydrogen peroxide로 전환되며 이는 catalase에 의하여 물과 산소 분자로 변화되거나 glutathione peroxidase에 의하여 물과 glutathione disulfide로 변환된다. 이외에도 내인성 산소 유리기 제거물질로 vitamin E와 ascorbic acid 등이 있다(Siesjo 등, 1985). 이러한 내인성 항산화 과정은 정상 상태에서도 작용하나 저산소증에 의하여 산소 유리기 제거물질 감소 후 산소 재공급시 저산소 세포에 대한 산소 유리기 손상의 감수성이 더욱 증가될 수 있다(Guamieri, 1980). 또한 산소 유리기 제거물질을 외부적으로 투여하여 뇌 손상 감소를 기대할 수 있는데 xanthine oxidase 억제제인 allopurinol(Palmer 등, 1990), hydroxyl radical 제거물질인 dimethylthiourea(Martz 등, 1989) 및 dimethyl sulfide(Albin 등, 1980), iron chelator인 deferoxamine(Patt 등, 1990) 등이 그러하다고 한다.

본 연구에서는 뇌허혈에 매우 민감한 해마의 절편을 이용하여(Brierley 및 Graham, 1984) 저산소 및 산소 재공급시 [^3H]-5-hydroxytryptamine([^3H]-5-HT) 유리 변동에 미치는 산소 유리기 제거물질인 SOD/catalase의 작용을 관찰하여, 저산소 및 산소 재공급시 미치는 산소 유리기의 영향을 알아보려고 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물 및 실험군

실험동물로는 몸무게 200 g 안팎의 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley계)를 사용하였으며 실험군은 대조군, 저산소 유발군, 산소 유리기 제거물질(radical scavenger) 투여군 [(SOD(2,500 Unit/ml)/catalase(1,250 Unit/ml)]으로 나누었다.

2. 해마절편 제작

실험동물을 단두하여 희생시킨 뒤 재빨리 뇌를 적출하고 얼음위에서 대뇌반구를 반으로 자르고 대뇌피질

을 제거한 후 양측에서 2개의 해마 전부위를 구하였다. 차가운 영양액(2-4°C, 95% O₂/5% CO₂)을 적신 여과지 위에 4개의 해마를 가로 방향으로 위치하도록 하여 차가운 영양액을 뿌려 주면서 면도날이 달린 작두를 중력을 이용하여 400 μm 두께로 잘라주어 가로방향의 해마 연속 절편을 얻었다.

실험에 사용한 영양액의 조성은 다음과 같다(mM).

NaCl: 124, KCl: 4, CaCl₂: 2, KH₂PO₄: 1.25, NaHCO₃: 25, Glucose: 10

Mg⁺⁺이 허혈시 흥분성 신경세포독성 유발을 억제한다고 하므로 전 실험이 진행되는 동안 영양액내에 Mg⁺⁺을 첨가하지 않았으며 [^3H]-5-HT가 대사되는 것을 방지하기 위하여 monoamine oxidase 억제제인 nialamide (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA)를 12.5 μM 농도로 영양액 내에 첨가시켰다.

3. 저산소 상태 유도 및 사용약물

4개의 해마로부터 얻은 절편을 8 ml의 영양액(95% O₂/5% CO₂)에 담근 뒤 37°C를 유지하면서 30분간 shaking water bath내에서 해마 절편이 가볍게 흔들리도록 하면서 방치하여 조직을 안정시켰다. 30분 후 0.1 μM의 [^3H]-5-HT(74 μCi, Amersham International plc., Buckinghamshire, England)가 첨가된 영양액으로 갈아주고 20분간 방치하여 조직으로 [^3H]-5-HT가 흡착되도록 하였다. 30분 후 영양액을 버리고 동일한 조성의 신선한 영양액으로 씻어 준 후 해마절편들을 무작위로 각각 2 ml의 영양액이 든 4개의 vial에 나누어 담았다. 분비되어 나온 [^3H]-5-HT가 다시 흡착되는 것을 방지하기 위하여 이때부터 사용되는 영양액에는 5-HT 흡착 억제제인 zimelidine (Research Biochemical Incorporated, Natick, MA, USA)을 10 M 첨가하였고 이후 매 10분마다 140분간 반복해서 영양액을 갈아주며 실험을 시행하였다. 저산소 상태는 60분째 부터 20분간 실시하였는데 저산소증은 95% O₂/5% CO₂(용존산소: 20 ppm 이상)대신에 95% N₂/5% CO₂(용존산소: 3 ppm 이하)로 포화된 영양액을 사용하여 유도하였다. 산소 유리기 제거제인 SOD/catalase는 저산소 영양액 노출 10분전부터 실험이 끝날 때까지 영양액 내로 투여하였다.

4. 방사능 측정

실험종료까지 해마절편에 잔존하는 [^3H]-5-HT의 방사능과 해마절편으로부터 유리된 [^3H]-5-HT의 방사능

을 모두 측정하였다. 즉, 실험이 끝난 조직은 1 ml의 조직용해제(SOLUEN 100, Packard Instrument Company Inc., Downers Grove, IL, USA)에 40분 노출시켜 조직을 완전히 녹인 후 100 l의 1N HCl를 첨가하여 조직용해제를 중화시키고 이중 100 μ l를 취하여 5 ml의 liquid scintillation cocktail(READY SAFE, Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, USA)이 든 scintillation vial(Packard Instrument Company Inc., Downers Grove, IL, USA)에 옮겨 잘 흔들어 준 후 liquid scintillation counter(Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, USA)로 방사능을 측정하였다. 또한 각각의 vial에서 얻은 2ml의 영양액중 1 ml를 취하여 역시 5 ml의 liquid scintillation cocktail을 넣어 주고 방사능을 측정하였다.

5. 통계학적 분석

유리 [3 H]-5-HT 농도는 연속적인 14개의 vial의 영양액에서 얻은 값과 조직에서 얻어진 값을 모두 합하여 조직으로 섭취된 총 방사능 양을 구하였고 각 vial의 영양액에 유리된 방사능 양을 총 방사능 양에 대한 % (분획유리)로 나타내었다. 얻은 실험자료는 평균 표준오차로 표시하였으며 실험군간의 변화 양상을 비교하기 위하여 분산분석(analysis of variance)을 이용하였고, 대조군과의 차이는 Dunnett 법으로 비교하였다.

III. 결 과

1. 해마 절편의 [3 H]-5-HT 유리

정상 영양액내에서 해마 절편은 자발적으로 [3 H]-5-HT를 유리하였는데 첫 10분 째는 전체 [3 H]-5-HT 유리의 60.4%를 유리하였고 점차 감소되어 마지막 140분 째는 $9.1 \pm 0.6\%$ 를 유리하였다. 40-50분부터 유리가 안정되었으므로 그 이전기간을 세척기간(washout phase), 그 이후기간을 유리기간(release phase)로 생각하여 60분에서 70분 째에 20분간 저산소 영양액을 노출하였으며 저산소 노출 직전인 50분 째 부터 약물투여를 실시하였고, 이후의 결과는 배양후 40분 값을 기준(0분)으로 표시하였다(Fig.1, Table 1).

2. 저산소 상태에 의한 [3 H]-5-HT 유리 변동

20분간 저산소 영양액 노출시, 20분 째부터 [3 H]-5-HT 유리 감소가 나타나기 시작하여 30분 째에 가장 많은 유

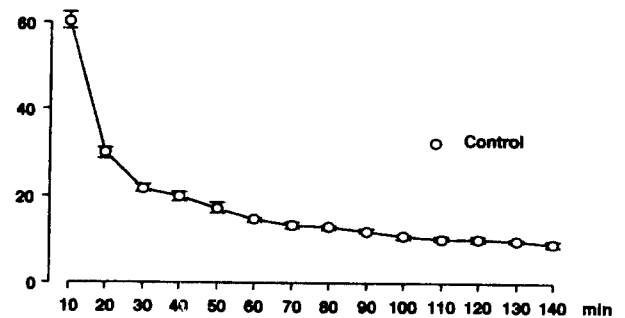


Fig. 1. Spontaneous release of [3 H]-5hydroxytryptamine from the rat hippocampal slices. Each point is mean \pm S.E. expressed as fraction of the total amount of radioactivity present in the rat hippocampal slices.

Table 1. Effects of SOD/catalase on the changes of [3 H]-5-hydroxytryptamine release induced by 20 min hypoxia from the rat hippocampal slices

Tube No (min) ³	Control (18) ⁴	Hypoxia ¹ (16) ⁴	SOD/catalase ² (16) ⁴	Hypoxia ¹ with SOD/catalase ² (16) ⁴
1(0)	19.8 \pm 1.1	19.5 \pm 0.8	19.6 \pm 0.1	21.6 \pm 1.7
2(10)	17.2 \pm 1.2	16.6 \pm 0.7	16.8 \pm 0.2	17.9 \pm 1.1
3(20)	14.6 \pm 0.5	13.9 \pm 0.6	14.8 \pm 0.2	15.9 \pm 1.1
4(30)	13.2 \pm 0.6	11.4 \pm 0.6*	13.7 \pm 0.4	13.5 \pm 1.2 [#]
5(40)	12.7 \pm 0.5	11.5 \pm 0.6	12.5 \pm 0.2	12.9 \pm 1.3
6(50)	11.9 \pm 0.5	12.5 \pm 0.5	11.6 \pm 0.5	11.9 \pm 0.7
7(60)	10.7 \pm 0.5	12.2 \pm 0.4*	10.6 \pm 0.3	10.8 \pm 0.8
8(70)	10.2 \pm 0.5	11.9 \pm 0.4*	10.1 \pm 0.3	10.2 \pm 0.8*
9(80)	10.1 \pm 0.6	11.4 \pm 0.5	9.9 \pm 0.3	9.2 \pm 0.6 [#]
10(90)	9.7 \pm 0.4	10.9 \pm 0.5*	9.4 \pm 0.5	8.7 \pm 0.7 [#]
11(100)	9.1 \pm 0.6	9.8 \pm 0.5	9.2 \pm 0.1	8.2 \pm 0.5

¹Hypoxia was induced by changing with the incubation media aerated with 95% N₂/5% CO₂ gas for 20 min (tube 3 and 4).

²SOD(superoxide dismutase) 2500 U/ml and catalase 1250 U/ml were added into the incubation media (tube 2 to 10).

³Numbers in parentheses are the elapsed time from the starting point(0 min).

⁴Numbers in parentheses are the number of animals. Values are mean \pm S.E. expressed as fraction of the total amount of radioactivity present in the rat hippocampal slices.

*P<0.05 compared to control. [#]P<0.05 compared to hypoxia(Dunnett method for multiple contrasts was used).

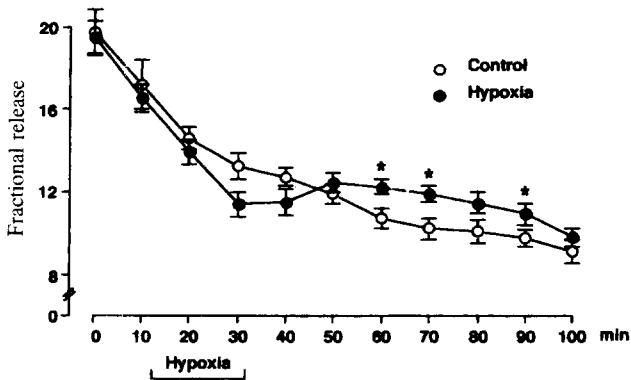


Fig. 2. Hypoxia-induced changes of [3H]-5-hydroxytryptamine release from the rat hippocampal slices. Hypoxia was induced by aerating the incubation media with 95% N₂/5% CO₂ gas for 20 min. Other legends are the same as in Fig. 1. *P<0.05 compared to control(Dunnet methodfor multiple comparisions was used).

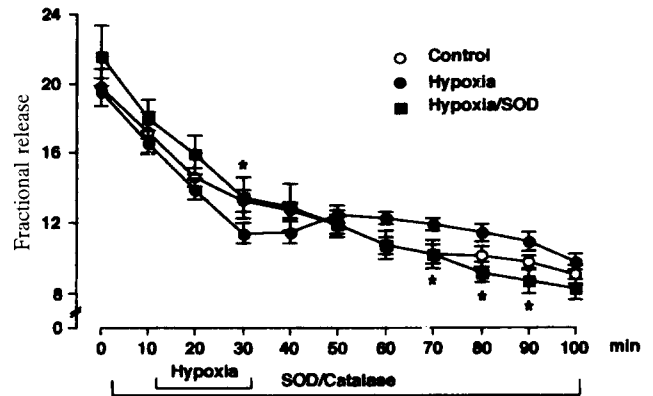


Fig. 4. Effect of SOD/catalase on the changes of [3H]-5-hydroxytryptamine release induced by hypoxia for 20 min from the rat hippocampal slices. *P<0.05 compared to hypoxia. Other legends are the same as in Fig. 2.

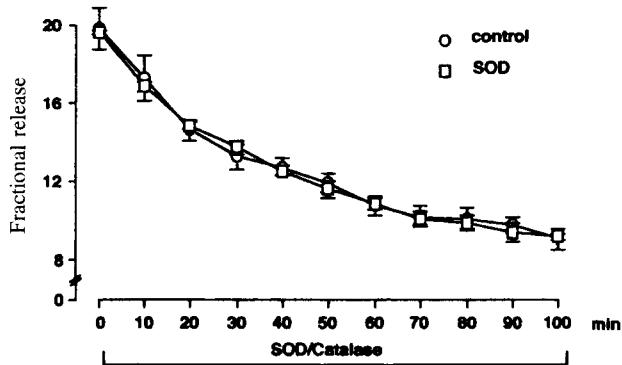


Fig. 3. SOD/Catalase-inuced changes of [3H]-5-hydroxytryptamine release from the rat hippocampal slices. SOD:superoxide dismutase, Other legends are the same as in Fig. 1.

리 감소를 보여 대조군 13.2±0.6%에 비하여 11.4±0.6% 유리로 14.1%가 감소되었다. 그러나 정상 영양액으로 바꾸어 준 직후 [3H]-5-HT 유리는 다시 증가되어 60분 짜 12.2±0.4%로 대조군의 10.7±0.5%보다 14.3%가 증가하였다. 이러한 반동성 증가는 실험 기간 지속되어 100분 짜는 대조군의 9.1±0.6%에 비하여 저산소 영양액 노출군에서는 9.8±0.5%가 유리되었다(Fig.2, Table 1).

3. SOD/Catalase 투여에 의한 [3H]-5-HT 유리 변동

정상 영양액에 SOD/catalase 투여시 [3H]-5-HT 유리는 대조군과 별다른 차이를 보이지 않았고 10분 짜에 16.8±0.2%, 마지막 100분 짜에 9.2±0.1% 유리로 점차적인 [3H]-5-HT 유리 감소 양상을 나타내었다(Fig.3, Table 1).

4. SOD/Catalase가 저산소 상태에 의한 [3H]-5-HT 유리 변동에 미치는 영향

20분간 저산소 영양액에 노출시키면서 SOD/catalase를 첨가하면 저산소 영양액 노출시 관찰되는 [3H]-5-HT 유리 감소가 나타나지 않고 산소 재공급시 관찰되는 반동성 유리 증가가 소실되었다. 20분 짜부터 저산소 단독 노출군에서 보여진 [3H]-5-HT 유리 감소가 소실되기 시작하여 30분 짜는 13.5±1.2% 유리로 저산소 단독 투여군 11.4±0.6%보다 18.3%증가하여 대조군 13.2±0.6%와 유사한 값을 나타냈다. 정상 영양액으로 환원후 나타났던 [3H]-5-HT 반동성 유리 증가는 SOD/catalase첨가로 소실되어 70분 짜 저산소 투여군 11.9±0.4%보다 10.2±0.8%유리로 14.6% 감소되었으며 이러한 감소는 실험 종료시까지 계속되었다(Fig.4, Table 1).

IV. 고 찰

뇌의 정상적인 대사 및 기능 유지에는 적절한 산소 공급이 필요하며 뇌혈류 감소시 뇌세포 대사 장애를 일으키고 뇌세포 활성을 감소시키므로 신속한 재관류를 통한 산소 및 에너지원의 재공급이 필요하다(Murdoch 등, 1990). 그러나 최근 보고에 의하면 허혈시 발생하는 신경세포 손상이 허혈 당시보다도 허혈성 조직으로 산소가 재공급되는 과정에서 주로 발생하므로(McCord, 1985) 오히려 산소 재공급이 독작용을 증가시킬 수 있다고 한다(Omar 등, 1991). 이러한 허혈성 뇌손상을 일으키는 물질 중 산소 유리기에 대한 관심이 증가되고 있다. 산소 유리기 발생시 손상을 막기 위하여 내인성 방어기전이 존재하며, 산소 유리기 제거물질을 외부적으로 투여시 조직 손상을 막을 수 있다고 한다(Palmer 등, 1990; Martz 등, 1989; Albin 등, 1980; Patt 등, 1990).

이번 실험에서는 해마 절편을 이용하여 저산소 및

산소 재공급 상태에서 [^3H]-5-HT 유리 변동에 미치는 산소유리기 제거물질(SOD/catalase)의 작용을 관찰하고자 하였다.

대조군의 자발적인 [^3H]-5-HT 유리는 첫 10분에서 20분 동안 급격한 유리를 지난 후 서서히 감소되어 실험 약 40분 경부터 실험 종료시까지 비교적 안정된 유리를 나타내었다. 초기 40분까지 나타난 [^3H]-5-HT는 유리된 것이라기 보다는 해마 절편에 묻어 있던 [^3H]-5-HT가 씻겨 나온 것(washout phase)이고 그 이후의 [^3H]-5-HT는 해마에서 자발 유리된 것(spontaneous release phase)이라 생각된다. 이러한 [^3H]-5-HT 자발유리는 내인성 산소유리기 제거물질인 SOD/catalase를 외부적으로 투여시 대조군과 별다른 변동을 나타내지 않아 정상 산소 분압하의 [^3H]-5-HT 유리는 superoxide anion의 영향이 중요한 요인으로 작용하지 않음을 알 수 있었다. 이러한 내인성 산소 유리기 제거물질은 정상 상태에서도 작용하나 저산소로 산소 유리기 제거물질 감소후 산소 재공급시 더 많은 산소 유리기가 생성되면 정상상태에 비하여 산소 유리기 손상 양상이 더욱 증가될 수 있다(Guarnieri 등, 1980).

20분간 저산소 영양액 노출시 해마 절편의 자발적인 [^3H]-5-HT 유리가 현저히 감소되었다. 초기 저산소동안 뇌혈 보호작용을 나타낼 수 있는 여러 기전이 작용한다고 한다. 뇌혈류가 역치이하로 감소되면 adenosine 이 유리되어(Lipton 및 Robacker, 1982; Dunwidie 및 Hass, 1985) 신경 흥분을 억제하고(Phillis 등, 1974) adenosine 수용체가 흥분성 신경 말단에 분포하여(Goodman 등, 1983) 흥분성 신경 전달 물질 유리를 억제하여 흥분성 신경 독성에 보호 효과를 나타낸다(Goldberg 등, 1987; Evans 등, 1987). 또 허혈시 ATP농도 감소로 칼슘이온 통로(Ashford 등, 1988)가 개방되어 세포막을 과분극시켜 칼슘의 세포내 유입을 억제시켜(Spruce 등, 1987) 허혈성 신경세포 보호작용을 나타내며 신경 세포의 말단에서 5-HT를 비롯한 신경 전달 물질의 유리를 억제할 수 있다고 한다(Ben-Ari 등, 1990).

다시 정상 영양액으로 환원시 대조군에 비하여 [^3H]-5-HT 유리가 오히려 증가되는 반동성 유리 증가를 나타내었다. 저산소 상태에서 나타난 보호기전이 상실되고 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 손상 및 활성도 저하(Blank 및 Kirshner, 1977)는 다시 산소를 공급하여 회복되는 과정에서도 K^+ 의 세포내 재흡수를 불충분하게 하여(Sykova, 1983) 신경 세포의 계속적인 탈분극을 일으킴으로써 신경 접합 후 신경 세포의 과다한 흥분을 초래한다고 한다(Schiff 및 Somjen, 1985). 또한 황성희 등(1990)에 의하면 [^3H]-5-HT 유리의 반동성 증가는 NMDA(N-methyl-D-as-

partate) 수용체 봉쇄제인 APV(2-amino-5-phosphoaleric acid)에 의하여 봉쇄되므로 NMDA 수용체 활성을 통한 글루타민성 신경의 과다 흥분을 통하여 일어난다고 한다. 따라서 이번 실험에서 나타난 [^3H]-5-HT 반동성 유리증가는 5-HT성 신경 세포 자체 및 글루타민성 신경의 과다흥분을 통한 [^3H]-5-HT 유리 증가이며 이는 산소 재공급성 신경세포 손상을 의미한다 할 수 있다.

이를 확인하고자 저산소 영양액 노출과 아울러 SOD/catalase 전투여시 저산소 영양액 노출시에만 나타나는 [^3H]-5-HT 유리 감소가 봉쇄되었으며 또한 재관류시 나타났던 반동성 증가가 소실되었다. 조직에 산소가 부족하게 되면 일련의 산소 유리를 형성하게 되는데(McCord, 1985) superoxide anion과 hydroxyl radical이 대표적이다. SOD는 superoxide anion에 작용하여 hydrogen peroxide와 산소로 변화시키며 catalase는 hydrogen peroxide를 다시 물과 산소로 전환시킨다(Siesjo 등, 1988). 따라서 SOD/catalase 전투여는 superoxide anion을 빨리 hydrogen peroxide와 산소로 변화시키고 다시 물과 산소로 무독화시켜 [^3H]-5-HT의 반동성 유리를 억제하는 것으로 생각된다. 허혈성 손상에 영향을 미치는 산소 유리기 제거 물질의 역할에 대한 여러 연구에 의하면 외부적으로 투여한 SOD 및 catalase는 경색(infarction)의 크기를 감소시키고(Liu 등, 1989), 신경 기능 및 뇌혈류의 회복을 가져오며(Lim 등, 1986, Cerchiarri 등, 1987) 이러한 SOD/catalase 투여 효과는 칼슘이온의 회복과 관련된다고 하였다(Nobuo 등 1992).

이상의 결과를 종합하여 보면 저산소 노출후 산소 재공급시 나타나는 [^3H]-5-HT 반동성 유리 증가에 superoxide anion 및 hydrogen peroxide가 어떠한 역할을 담당할 수 있을 것으로 생각되며 더 자세한 분자적 기전을 밝히기 위하여 앞으로 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

V. 결 론

흰쥐 해마 절편에 [^3H]-5-HT를 흡착시킨 후 20분간 저산소 영양액에 노출시키고 다시 정상 영양액으로 환원하였을 때 나타나는 [^3H]-5-HT 유리에 미치는 산소 유리기 제거 물질의 영향을 관찰하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 정상 영양액내에서 해마 절편은 자발적으로 [^3H]-5-HT를 유리하였으며 초기의 급격한 유리 감소를 시기를 지난 후 40분 경부터 안정되었다.
2. 20분간 저산소 영양액에 노출하였을 때 [^3H]-5-

HT 유리가 크게 감소되었고 다시 정상 영양액으로 환원하였을 때 대조군보다 높은 [3 H]-5-HT 유리를 나타내었는데 이러한 반동성 유리증가는 실험기간 동안 지속되었다.

3. 정상 영양액내에 SOD/catalase를 투여시 [3 H]-5-HT 유리에 대조군과 큰 차이를 보이지 않았으며 저산소 영양액 노출과 아울러 SOD/catalase를 전투여하였을 때 저산소 영양액 노출시 [3 H]-5-HT 유리 감소 및 산소 재공급시 반동성 유리 증가가 봉쇄되었다.

이상의 결과를 종합하여 보면 저산소 노출후 산소 재공급시 나타나는 [3 H]-5-HT 반동성 유리 증가에 superoxide anion 및 hydrogen peroxide가 어떠한 역할을 담당할 수 있을 것으로 생각되며 더 자세한 분자적 기전을 밝히기 위하여 앞으로 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

REFERENCES

- Albin, M.S., Bunegin, P., Helsel, M., Babinski, J. and Bell, R.D. (1980): DMSO protect brain against experimental pressure induced cerebral ischemia, *Crit. Care Med.*, **8**, 251-254.
- Ashford, M.L.J., Sturgess, N.L., Trout, N.G., Gardner, N.J. and Hales, C.N. (1988): Adenosine-5'-triphosphate sensitive ion channels in neonatal rat cultured central neurons, *pflugers Arch.*, **412**, 297-304.
- Ben-Ari, Y., Krnjevic, K. and Creper V. (1990): Activators of ATP-sensitive K^+ channels reduce anoxic depolarization in CA3 hippocampal neurons, *Neuroscience*, **37**, 55-60.
- Blank, W.F. and Kirshner, H.S. (1977): The kinetics of extracellular potassium changes during hypoxia and anoxia in the cat cerebral cortex, *Brain Res.*, **123**, 113-124.
- Brierley, J.B. and Graham, D.I. (1984): Hypoxia and vascular disorders of the central nervous system, *In Greenfield's Neuropathology* (Adams, J.H., Corsellism, J.A.N. and Duchon, L.W. eds), (Edward Arnold, London), p. 125-205.
- Cerchiari, E.L., Hoel, T.M., Safar, P. and Sciabassi, J. (1987): Protective effects of combined superoxide dismutase and deferoxamine on recovery of cerebral blood flow and function after cardiac arrest in dogs, *Stroke*, **18**, 869-878.
- Dunwiddie, T.V. and Hass, H.L. (1985): Adenosine increases synaptic facilitation in the in vitro rat hippocampus: evidence for a presynaptic site of action, *J. Physiol. Lond.*, **369**, 365-377.
- Evans, M.C., Swan, J.H. and Meldrum, B.S. (1987): An adenosine analogue, 2-chloroadenosine, protects against long-term development of ischemic cell loss in the rat hippocampus, *Neurosci. Lett.*, **83**, 282-292.
- Goldberg, M.P., Weiss, J.H., Pham, P.C. and Choi, D. W. (1987): N-methyl-D-aspartate receptors mediate hypoxic neuronal injury in cortical culture, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **243**, 784-791.
- Goodman, R.P., Kuhar, M., Hester, L. and Snyder S. H. (1983): Adenosine receptors: autoradiographic evidence for their localization on axon terminals of excitatory neurons, *Science*, **220**, 967-969.
- Guarnieri, C., Flamingni, F. and Calderera, C.M. (1980): Role of oxygen in the cellular damage induced by re-oxygenation of hypoxic heart, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **12**, 797-808.
- Lim, K.H., Connolly, M., Rose, D., Siegman, F., Jacobowitz, I., Acinapura, A. and Cunningham, J. N. (1986): Prevention of reperfusion injury of ischemic spinal cord: use of recombinant superoxide dismutase. *Ann. Thorac. Surg.*, **42**, 282-286.
- Liu, T.H., Beckman, J.S., Freeman, B.A., Hogan, E.L. and Hsu, C.Y. (1989): Polyethylene glycol-conjugated superoxide dismutase and catalase reduce ischemic brain injury, *Am. J. Physiol.*, **256**, H589-H593.
- Lipton, P. and Robacker, K. (1982): Adenosine may cause early inhibition of synaptic transmission during anoxia, *Soc. Neurosci. Abstr.*, **8**, 993.
- Martz, D., Rayos, G., Schielke, G.P. and Betz, A.L. (1989): Allopurinol and dimethylthiourea reduce brain infarction following middle cerebral artery occlusion in the rats, *Stroke*, **20**, 488-494.
- McCord, J.M. (1985): Mechanism of disease: oxygen deprived free radicals in post ischemic tissue injury, *New. Eng. J. Med.*, **312**, 159-163.
- Mead, J.F. (1976): Free radical mechanism of lipid damage and consequences for cellular membranes In *Free radicals in biology* (Pryor, W.A. ed), 2nd ed., (Academic Press, New York), p. 51-68.
- Murdoch, J. and Hall, R. (1990): Brain protection: physiological and pharmacological considerations. Part I: The physiology of brain injury, *Can. J. Anesth.*, **37**, 663-671.
- Nobuo, A., Joel, H.G., Daisuke, U., John, T.S. and Martin, R. (1992): Effect of superoxide dismutase on intracellular calcium in stroke, *J. Cerebral Blood Flow and Metabolism*, **12**, 43-52.
- Omar, B., McCord, J. and Downey J. (1991): Ischemia reperfusion In *Oxidative stress* (Sies, H. ed), (Academic Press, San Diego), p. 494-528.
- Palmer, C., Vannucci, R.C. and Towfighi, J. (1990):

- Reduction of perinatal hypoxic-ischemic brain damage with allopurinol, *Pediat. Res.*, **27**, 332-336.
- Patt, A., Horech, I.R., Berger, E.M., Harken, A.H. and Repine J.E. (1990): Iron depletion or chelation reduces ischemia/reperfusion-induced edema in gerbil brains, *J. Pediatr.*, **25**, 224-228.
- Phillis, J.W., Kostopoulos, K. and Limacher, I. (1974): A potent depressant action of adenosine derivatives on cerebral cortical neurons, *Eur. J. Pharmacol.*, **30**, 125-129.
- Schiff, S.J. and Somjen, G.G. (1985): Hyperexcitability following moderate hypoxia in hippocampal tissue slices, *Brain Res.*, **337**, 337-340.
- Siesjo, B.K. (1988): Mechanisms of ischemic brain damage, *Cri. Care Med.*, **1**, 165-211.
- Siesjo, B.K., Agardh, C.D. and Bengtsson, F. (1985): Free radicals and brain damage. *Cerebrovasc. Brain Meta. Rev.*, **1**, 165-211.
- Spruce, A.E., Standen, N.B. and Stanfield, P.R. (1987): Studies of the unitary properties of adenosine-5'-triphosphate regulated potassium channels of frog skeletal muscle, *J. Physiol.*, **382**, 213-236.
- Sykova, E. (1983): Extracellular K⁺ accumulation in the central nervous system, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **42**, 135-189.
- 황성희, 이경은, 김동구, 방혜련, 안영수 (1994): 해마 절편에서 저 산소증에 의한 5-hydroxytryptamine유리 변동과 N-methyl-D-aspartate 수용체와의 관련성, 대한 신경과학회지, **12**, 193-205.