

간질과 산소 라디칼

충북대학교 의과대학 소아과학교실

김 원 섭

Epilepsy and Oxygen Free Radicals

Won Seop Kim, M.D.

Department of Pediatrics, College of Medicine, Chungbuk National University, Cheongju, Korea

Epilepsy is a neurological disorder from many molecular and biochemical responses. In the underlying mechanism, free radicals play an important role in seizure initiation and seizure-induced brain damage. Excessive production of oxygen free radicals and other radical species have been implicated in the development of seizures under pathological conditions and linked to seizure-induced neurodegeneration. (*Korean J Pediatr* 2005;48:920-923)

Key Words : Epilepsy, Oxygen free radicals

서 론

간질환자를 잘 치료하기 위해서는 경련의 시작과 경련으로 인해 생기는 뇌손상의 기전을 이해하는 것이 중요하다. 왜냐하면 간질은 아직 잘 모르는 부분이 많은, 생화학적 분자생물학적 다양한 원인에 의해 생기는 신경학적 질병이며 환자 수는 생각보다 상당히 많은 편이다. 간질의 여러 가지 발생기전 중 자유 라디칼(free radicals)은 간질을 포함한 많은 신경학적 질병에 중요한 원인이며, 특히 신경세포 사멸(neuronal death)의 중요한 원인이다. 자유 라디칼에 의한 세포 손상 중 특히 산화스트레스(oxidative stress)는 산소라디칼(oxygen radicals) 혹은 활성산소(reactive oxygen species, ROS)의 생성이 우리 몸의 항산화능력(antioxidant capacity)을 추월하는 경우에 생긴다. 활성산소와 활성질소(reactive nitrogen species, RNS)가 뇌졸중(Stroke), 파킨슨병(Parkinson's disease), 알츠하이머병(Alzheimer's disease), 헌팅턴병(Huntington's disease), 근위축성 측삭 경화증(amyotrophic lateral sclerosis) 등 많은 신경계질환에 중요한 역할을 한다고 생각되어 왔다¹⁾. 그리고 간질에서의 활성산소에 대한 연구도 최근에 활발히 진행되고 있다. 뇌 속에는 활성 물질(reactive species)과 그 표적(target)이 되는 물질이 많으므로, 산화 스트레스는 신경계에 아주 중요하다. 뇌는 특히 높은 호기성 대사과정(aerobic metabolism)과 다 불포화지방산

의 양이 많고, 손상에 대한 복구 능력이 취약하며, 높은 철분 부하(high iron load)로 산화 스트레스에 취약하다. 뇌는 특히 우리의 호흡 동안에 만들어진 초과산화물(superoxide: O_2^-)의 근원지인 미토콘드리아가 풍부하다²⁾. 그래서 활성 물질들이 거대 세포분자인 단백질, 지방, DNA, 당(sugar)을 직접 파괴하거나, 이런 물질에 손상을 줄 수 있는 자유라디칼들 중, 특히 산소 라디칼의 합성을 자극하여 신경에 손상을 준다. 그래서 산소라디칼이 간질성 경련(epileptic seizure)과의 관계에 대해 알아보려고 한다.

산소 라디칼의 작용과 방어

우리가 사용하는 산소의 95% 이상은 산소의 안전한 환원 산물인 물로 변화한다. 생체는 대사과정에서 생기는 전자를 전자수용체인 산소분자에 주어 물을 생성하며 이때 생성되는 에너지를 이용한다. 그러나 산소가 완전 환원으로 물만 형성된다면 별 이상이 없지만, 산소분자가 가지는 전자각에서 전자 배열의 특수성 때문에 부분 환원(univalent reduction) 혹은 전자의 재배치 등으로 반응성이 높은 산소산물로 변화되는데, 이들을 통칭해서 반응성 산소 물(reactive oxygen species), 유해 산소(toxic oxygen) 혹은 산소라디칼이라고 부른다. 이들은 반응성이 높아서 세포의 주요 구성물질인 지질, 단백질, 다당류 및 핵산을 공격하여 세포의 기능저하를 초래한다.

산소라디칼은 정상에너지 대사과정에는 물론 그 이외 여러 기전에 의하여 끈임 없이 생성되며 동시에 각종 효소 및 비 효소 항산화 물질에 의하여 제거되어 정상 생체에서는 이들의 생성과 제거가 균형을 이루고 있다. 그러나 어떤 특수한 상황에서는 생

접수 : 2005년 8월 11일, 승인 : 2005년 8월 11일
 책임저자 : 김원섭, 충북대학교 의과대학 소아과학교실
 Correspondence : Won Seop Kim, M.D.
 Tel : 043)269-6044 Fax : 043)264-6620
 E-mail : wskim@chungbuk.ac.kr

성이 급격히 증가하며 이때 생체는 이들의 위험인 산화 스트레스에 노출되는데 그 정도가 심할 경우 결국 질병이 유발된다³⁾.

경련 후 생기는 산소라디칼과 산화스트레스

1. 경련과 산화 세포 사멸(Seizure and oxidative cell death)

미토콘드리아에서 경련으로 인한 산화스트레스가 주로 일어난다. 미토콘드리아의 산화 스트레스와 활동장애가 주된 원인이다. 경련이 길어지면 초과산화물이 많이 생성되어서 미토콘드리아 내부의 항산화 방어 작용이 무너지게 된다. 즉 neuronal firing이 증가하며, 과도한 글루탄산염(glutamate)이 분비되며, N-methyl-D-aspartate(NMDA) 수용체의 활성화(activation)되고, 세포질(cytosol)과 미토콘드리아내로의 칼슘이 유입되며, 그리고 ATP 소모가 증가된다. 세포의 에너지 요구가 증가되어 전자 전달 사슬(electron transfer chain)을 통해 전자의 급격한 이동으로 O₂⁻의 생산이 증가된다. 그리고 cytochrome C의 방출이 일어나서, 이 역시 경련으로 인한 O₂⁻ 생성의 중요한 원인이 된다. O₂⁻는 다시 일련의 반응을 거쳐 자동적으로 보다 반응성이 강한 H₂O₂(hydrogen peroxide) 또는 HO⁻(수산화라디칼: hydroxyl radicals)로 전환된다. 또 수산화라디칼이 미토콘드리아의 단백질, 지방, DNA를 산화시켜서 O₂⁻로 인한 산화손상을 증폭시킨다⁴⁾. 임상에서 mitochondrial complex C deficiency 환자에 생긴 측두엽 간질(temporal lobe epilepsy)에서도 이런 미토콘드리아와 산화스트레스와의 관계를 알 수 있다⁵⁾.

2. 산화적 지방 손상(Oxidative lipid damage)

경련성 활동후의 지방산화작용은 F₂-IsoPs(F₂-Isoprostanes) 등으로 측정되어 왔다. F₂-IsoPs는 Prostaglandin F₂(PGF₂)-like compounds의 한 종류이며, 생체 조건 내에서 non-cyclooxygenase와 arachidonic acid의 과산화과정을 포함한 free-radical-catalyzed mechanism에 의해 생기며, 자유라디칼에 기인한 지방 과산화반응(lipid peroxidation)의 믿을만한 표지자이다. F₂-IsoPs는 음식물 중에 있는 지방성분에 영향을 받지 않고 정상적인 체액 내에 존재하므로 측정이 가능하고, 지방 과산화 후에 생기는 물질이다⁶⁾. 그리고 kainate로 인한 쥐 간질 모델의 해마(hippocampus)의 CA3 부위에서 F₂-IsoPs가 증가되어 있다⁷⁾. 이런 사실로 볼 때 경련으로 인한 산화적 지방 손상이 나타나며 이점이 또한 경련으로 인한 신경세포사멸에 중요한 역할을 한다고 생각되어지고 있다.

3. 산화에 의한 DNA 손상(Oxidative DNA damage)

경련 후의 산화에 의한 DNA 손상은 DNA 산화 손상의 지표인 8-OHdG(8-hydroxy-2-deoxyguanosine)의 측정으로 표현되어왔다⁸⁾.

2-deoxyguanine(2-dG)에 대한 8-OHdG의 증가된 비율은 산화에 의한 DNA 손상을 반영한다⁹⁾. 그러므로 Kainic acid 간

질 모델에서 증가된 8-OHdG는 Kainic acid로 인한 쥐 간질 모델의 신경세포사멸에서, 산화에 의한 DNA손상을 의미한다¹⁰⁾.

4. 초과산화물에 의한 해마 손상

일반적으로 생체 내에서 일어나는 활성물질들은 안정적이지 못하고 일시적으로 나왔다 사라지므로 그것의 일정한 농도를 측정하는 것은 힘들다. 그래서 활성산소와 산화에 민감한 단백질, 지방, DNA의 농도나 존재를 측정하는 것이 그 부위의 산화스트레스 여부나 정도를 간접적으로 측정하는데 도움이 된다. 특히 철분 결합 단백질인 아코니타제(aconitase)는 세포질(cytoplasm)과 미토콘드리아에 있는데, 초과산화물의 산화 공격에 민감하여 미토콘드리아내의 초과산화물의 목표물이다. 그러므로 아코니타제의 활성도는 초과산화물 농도의 지표가 된다. 아코니타제의 중심에 있는 철성분이 초과산화물에 의한 산화공격에 민감하므로, 아코니타제의 초과산화물에 의한 비활성 정도를 측정하면 간접적으로 초과산화물의 생성 정도를 파악할 수 있다¹¹⁾. Liang 등⁸⁾이 kainate로 인한 쥐 간질 모델에서, 경련이 해마에서 미토콘드리아 아코니타제를 비활성화 시키므로, 아코니타제가 초과산화물의 생성의 유용한 지표가 된다는 것을 밝혔다(Fig. 1). 또 Patel 등⁷⁾이 해마의 CA3 부위에서 미토콘드리아 아코니타제의 극심한 비활성화가 신경세포 사멸 전에 일어난다는 사실을 알아내었다. 그러므로 이런 사실들은 실험동물에서 경련이 초과산화물로 인한 뇌의 해마부위의 손상을 만든다는 증거이다.

5. SOD(Superoxide dismutase)

산화된 단백질, 지방과 DNA는 산화 스트레스를 알아내는데 유용한 지표이지만, 일차적 활성물질을 찾아내는 것은 쉽지 않다. 그래서 transgenic/knock-out animal을 사용하는데, transgenic/knock-out animal은 산화에 의한 손상과정의 일차적 반응물질을 알아내는데 유용하다. 세 가지 SOD가 세포질(CuZnSOD or SOD1), 미토콘드리아(MnSOD or SOD2), 세포

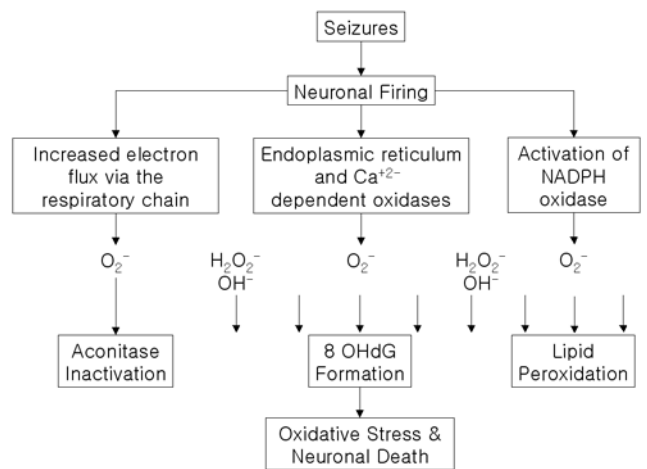


Fig. 1. A schematic three possible sources of production following seizure activity.

외부(EC-SOD or SOD3)에 있어서 초과산화물(O₂⁻)로부터 보호하는 역할을 한다. CuZnSOD(SOD1), MnSOD(SOD2), EC-SOD(SOD3)transgenic mice에 관한 연구들이 진행되어 왔는데, SOD1의 역할은 논란이 많지만, SOD2를 과발현 시킨 생쥐에서는, kainate로 인한 미토콘드리아 아코니타제 비활성화와 해마 세포 사멸이 보호된다고 알려져 있다^{8, 12}. 그리고 역시 SOD3 과발현된 생쥐에서도 kainate로 인한 해마 손상이 억제된다고 알려져 있다¹³. 이런 점들로 보아서 미토콘드리아와 세포외 구역에서도, 경련으로 인해 초과산화물이 생성되며 그 결과 신경세포 손상이 된다는 것을 알 수 있다.

미토콘드리아 질환에서의 간질과 산소라디칼

이상의 기술들에 의해서 산화스트레스가 간질의 발생에 하나의 역할을 한다는 것을 알게 됐다. 어떤 환자에서는 mitochondrial DNA(mtDNA)의 변이와 결손(mutation/deletion)의 결과로 생긴 미토콘드리아 기능장애가 간질의 원인인 경우가 있다. 이런 유전성 미토콘드리아 질환에서는 간질성 경련이 주된 증상이다. 대표적인 병이 myoclonic epilepsy with ragged red fibers(MERRF)인데, 분자적 결함이 간질증후군과 연관이 있다고 확인된 경련성질환이다. 그래서 tRNA에서 single mutation으로 인해 분자적 결함이 발생되어서 간대성 경련과 근육 조직 생검에서 특징적인 ragged red fibers가 발견되는 근육병이다¹⁴. 그 이외에도 Mitochondrial Encephalopathy with Lactic Acidosis(MELAS), Leigh's syndrome, Neuropathy-Ataxia and Retina Pigmentosa(NARP), Chronic Progressive External Ophthalmoplegia(CPEO), Kerns-Sayre Syndrome(KSS), Pearson Syndrome(PS), Alper's syndrome 등¹⁵이 간질성 경련과 연관이 있다. 미토콘드리아는 세포내 ATP생성, 활성 산소형성, 세포 소멸/괴사(apoptosis/necrosis), 지방산 대사 등의 몇 가지 중요한 활동을 한다. 이런 각각의 활동은 정상 뇌 활동에 필수적인 것이고, 이 과정에서 한, 두 부분에 결함이 생기면 경련을 일으킬 수 있다. 그러므로 미토콘드리아의 기능장애는 mtDNA 질병과 관련된 간질에 중요한 영향을 미친다. 그리고 미토콘드리아의 자유 라디칼 형성과 그 결과로 인한 기능장애는 미토콘드리아 질환과 관련된 간질성 경련을 일으킨다. 즉 미토콘드리아 산화 스트레스와 기능장애가 경련을 일으킬 수 있다. 이를 뒷받침하는 연구들에 의하면 첫째 산화성 인산화 결합(oxidative phosphorylation)시 장애가 초과산화물의 합성을 증가시킬 수 있고, 둘째 고압성 고산소증¹⁶, 산화환원성 철분염의 국소적 유입¹⁷, 미토콘드리아 독소¹⁸, 뇌졸중과 같은 노화와 연관된 신경질환, 신생아의 저산소증과 같은 미토콘드리아의 자유 라디칼을 증가시키는 일련의 상황들¹⁹이 경련활동을 유발시킬 수 있다는 점, 그리고 셋째 synaptic NMDA 수용체의 활성화가 초과산화물 형성을 증가시키고 특히 *Sod2*^{-/-}mice를 이용한 실험에서도 미토콘드리아 초과산화물의 과형성이 경련을 유발시키며,

또 SOD2가 결핍된 *Sod2*^{-/-}mice에서 심한 미토콘드리아 질환이 생기며 경련이 발생한다는 사실이다²⁰. 그리고 미토콘드리아 질환의 간질의 기본 개념은 mtDNA mutations/deletions 또는 nuclear DNA mutation이 있는 생쥐 모델에서, 전자 전달 연쇄 사슬의 장애, 해마와 신피질(neocortex)의 대량의 신경 퇴화, 그리고 kainate로 인한 뇌손상이 증가되는 소견으로도 알 수가 있다²¹. 그러므로 산화 스트레스, 미토콘드리아와 간질이 서로 연관이 되어 있는 것을 알 수 있다.

간질성 경련에서 산소라디칼의 역할

실험동물에서 경련이 세포내 거대분자(macromolecules)의 산화를 증가시키고, SOD, 비타민 C, 멜라토닌 같은 항산화물질(antioxidant)들이 경련으로 인한 손상을 막아주며^{6, 8}, 자유라디칼형성을 억제하는 칼로리 제한(caloric restriction)으로 경련시의 뇌손상을 보호하며²², 간질의 뇌손상에 중요한 역할을 하는 글루타민산염에 기인한 흥분독성(excitotoxicity)에 산화스트레스가 중요한 역할을 한다는 점^{23, 24}, 산화스트레스가 간질로 인한 뇌손상에 중요한 역할을 한다는 증거가 될 수 있고, 경련으로 인한 신경세포 사멸에 산화 스트레스의 역할을 알 수 있다.

결론

산소라디칼에 의한 산화스트레스는 계속된 간질성 경련의 결과로도 생길 수 있고, 또 그 자체가 경련에 기인한 뇌손상에 중요한 역할을 한다. 간질성 경련에 의해서 자유라디칼, 특히 산소라디칼이 만들어지며 이것이 신경세포 사멸에 중요한 하나의 인자로 작용한다. 그러므로 산소라디칼에 의한 간질의 한 원인으로서의 기전과 산소라디칼에 의한 유해 작용의 방어에 대한 연구가 향후 간질의 치료 및 예방과 밀접한 관계가 있을 것으로 사료되며, 이에 대한 연구는 항경련제를 개발하고 간질을 치료하는데 많은 도움이 될 것으로 생각된다.

References

- 1) Beal MF. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. *Biochim Biophys Acta* 1998;1366:211-23.
- 2) Halliwell B. Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem* 1992;59:1609-23.
- 3) Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 2nd ed. London: Clarendon Press, 1989:1-85.
- 4) Patel M. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and epilepsy. *Free Radic Res* 2002;36:1139-46.
- 5) Schauwecker PE, Steward O. Genetic determinants of susceptibility to excitotoxic cell death: implications for gene targeting approaches. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:4103-8.
- 6) Bruce AJ, Baudry M. Oxygen free radicals in rat limbic

- structures after kainate-induced seizures. *Free Radic Biol Med* 1995;18:993-1002.
- 7) Patel M, Liang LP, Roberts LJ. Enhanced hippocampal F₂-isoprostane formation following kainate-induced seizures. *J Neurochem* 2001;79:1065-70.
 - 8) Liang LP, Ho YS, Patel M. Mitochondrial superoxide production in kainate-induced hippocampal damage. *Neuroscience* 2000;101:563-70.
 - 9) Giulivi C, Boveris A, Cadenas E. Hydroxyl radical generation during mitochondrial electron transfer and formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in mitochondrial DNA. *Arch Biochem Biophys* 1995;316:909-16.
 - 10) Richter C. Oxidative damage to mitochondrial DNA and its relationship to ageing. *Int J Biochem Cell Biol* 1995;27:647-53.
 - 11) Gardner PR. Superoxide-driven aconitase Fe-S center cycling. *Biosci Res* 1997;17:33-42.
 - 12) Patel M, Liang LP. Exacerbation of kainate-induced excitotoxicity in Sod2 deficient mice. *Soc Neurosci* 2001;27.
 - 13) Liang LP, Chang L, Crapo JM, Patel M. Modulation of excitotoxic injury in extra cellular super oxide dismutase mutant mice. *Free Radic Biol Med* 2001;31:S133.
 - 14) Shoffner JM, Lott MT, Lezza AMS, Seibel P, Ballinger SW, Wallace DC. Myoclonic epilepsy and redregged fiber disease(MERRF) is associated with a mitochondrial DNA Trnal(Lys) mutation. *Cell* 1990;61:931-7.
 - 15) Cock H, Schapira AHV. Mitochondrial DNA mutations and mitochondrial dysfunction in epilepsy. *Epilepsia* 1999;40:33-40.
 - 16) Balentine JD. Experimental pathology of oxygen toxicity. In: Jobsis FF. *Oxygen and Physiological Function*. 1st ed. Dallas: Professional Information Library, 1977:311-78.
 - 17) Willmore LJ, Sypert GW, Munson JB, Hurd RW. Chronic focal epileptiform discharges induced by injection of iron into rat and cat cortex. *Science* 1978;200:1501-3.
 - 18) Zuchora B, Turski WA, Wielosz M, Urbanska EM. Protective effect of adenosine receptor agonists in a new model of epilepsy-seizures evoked by mitochondrial toxin, 3-nitropropionic acid, in mice. *Neurosci Lett* 2001;305:91-4.
 - 19) Jensen FE, Holmes GL, Lombroso CT, Blume HK, Firkusny IR. Age-dependent changes in long-term seizure susceptibility and behavior after hypoxia in rats. *Epilepsia* 1992;33:971-80.
 - 20) Patel MN, Day BJ, Wallace DC, Liang LP. SOD2-deficient mice exhibit spontaneous age-related seizures and increased susceptibility to kainate-induced oxidative damage and apoptosis. *Epilepsia* 2001;42:227.
 - 21) Sorensen L, Ekstrand M, Silva JP, Lindqvist E, Xu B, Rustin P, Olson L, Larsson NG. Late-onset corticohippocampal neurodepletion attributable to catastrophic failure of oxidative phosphorylation in mlon mice. *J Neurosci: Official J Soc Neurosci* 2001;21:8082-90.
 - 22) Bruce-Keller AJ, Umberger G, McFall R, Mattson MP. Food restriction reduces brain damage and improves behavioral outcome following excitotoxic and metabolic insults. *Ann Neurol* 1999;45:8-15.
 - 23) Bindokas VP, Jordan J, Lee CC, Miller RJ. Superoxide production in rat hippocampal neurons: selective imaging with hydroethidine. *J Neurosci: Official J Soc Neurosci* 1996;16:1324-36.
 - 24) Coyle JT, Puttfarcken P. Oxidative stress glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science* 1993;262:689-95.