

흰쥐 해마절편에서 저산소증에 의한 [³H]-5-hydroxytryptamine의 유리변동에 미치는 Dimethylsulfoxide의 효과

이화여자대학교 의과대학 약리학교실, 의과학연구소 신경과학부
이 경 은

=Abstract=

Effect of Dimethylsulfoxide on the Release of [³H]-5-hydroxytryptamine after Hypoxia from Rat Hippocampal Slices

Kyung Eun Lee

*Department of Pharmacology, College of Medicine, Ewha Medical Research Center,
Ewha Womans University*

Objective : The present study was aimed to investigate the ability of free radical scavenger (hydroxyl radical scavenger, dimethyl sulfoxide, DMSO) to change the release of 5-hydroxytryptamine(5-HT) from the hypoxia-sensitive rat hippocampal slices.

Method : The hippocampus was obtained from the rat brain and sliced 400 μ m thickness with the manual chopper. After 30min's preincubation in the normal buffer, the slices were incubated for 20min in a buffer containing [³H]-5-HT(0.1 μ M, 74 μ Ci/8ml) 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 sequence of 14 tubes. Induction of hypoxia (gassing it with 95% N₂, 5% CO₂) was done in 6th and 7th tube, and DMSO was added 10 minutes prior to these manipulations. The radioactivities in each buffer and the tissue were counted using liquid scintillation counter and the results were expressed as a percentage of the total radioactivities.

Results : When slices were exposed to hypoxia for 20min, [³H]-5-HT release was decreased and a rebound release of [³H]-5-HT was observed on the post-hypoxic period. Administration of DMSO(10mM) increased the spontaneous release of [³H]-5-HT in the control group. And DMSO also prevented hypoxia-induced decrease of [³H]-5-HT release. But the rebound release of [³H]-5-HT during post-hypoxic period was not affected by DMSO.

Conclusion : In addition to the hydroxyl radical scavenging effect, DMSO has direct stimulation effect on the firing of 5-HT neuron.

KEY WORDS : Dimethylsulfoxide · Hypoxia · 5-hydroxytryptamine · Hippocampal slice.

서 론

뇌는 대사가 활발한 기관으로 전체 산소 소모량의 20%를 이용하므로¹⁾ 뇌혈류가 감소하면 산소 및 포도당 공급 감소로 뇌세포 대사 장애가 일어나고 뇌세포 활성이 떨어지게 된다. 허혈성 뇌손상의 정도는 허혈의 정도와 기간에 영향을 받으므로 신속한 재관류를 통한 산소 및 에너지원의 재공급이 매우 중요하다²⁾. 그러나 최근의 보고들에 의하면 허혈시 발생하는 신경세포 손상은 허혈 당시보다 허혈이 발생한 조직으로 산소가 재공급되는 과정에서 주로 발생한다고 한다³⁾.

따라서 허혈성 뇌손상의 원인으로 재관류시 일어나는 산소 유리기의 생성 및 역할에 관심이 모아지고 있는데, 정상적인 상태의 산소 분압하에서도 적은 양의, 독성이 있는 산소유리기가 생성되지만 허혈중에 일어나는 세포내 칼슘 증가가 재관류시 산소유리기 생성을 더욱 증폭시킨다. 즉, 산소유리기 전구 물질인 xanthine에 작용하는 xanthine oxidase는 원래 xanthine dehydrogenase의 형태로 합성되는데 허혈중 세포내 칼슘 증가로 단백질분해효소가 활성화되면 xanthine oxidase로 전환이 일어난다. 따라서 허혈시에는, 산소유리기를 생성할 수 있는 xanthine oxidase로의 전환이 일어나며 그 기질로 이용되는 hypoxanthine 및 xanthine이 다량 축적되므로 이때 산소의 재공급이 일어난다면 산소유리기가 다량 생성되게 된다³⁾. 이렇게 생성된 산소유리기 중 특히 hydroxyl radical은 허혈/재관류시 생성되는 대표적인 산소유리기로 독성이 매우 강하여 지질막에 쉽게 손상을 나타내므로 막의 integrity를 소실시키고 유리 지방산을 유리시키며 부종을 일으키고 arachidonic acid 대사 변동에 의한 여러 가지 손상을 일으키게 된다⁴⁾.

따라서 본 연구에서는 뇌허혈에 매우 민감한 해마 절편을 이용하여⁵⁾ 독성이 가장 강한 산소 유리기로 알려져 있는 hydroxy radical 제거 물질인 dimethyl sulfoxide을 투여하여 나타나는 저산소 및 산소 재공급시 ³H-5-HT 유리 변동 양상을 관찰하여, 저산소 및 산소 재공급시 뇌조직 손상에 미치는 hydroxy radical의 작용을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 실험 동물 및 실험군

실험 동물로는 몸무게 200g 안팎의 수컷 흰쥐(Spr-

ague-Dawley계)를 사용하였으며 실험군은 대조군, 저산소 유발군 및 hydroxy radical 제거 물질(radical scavenger)인 dimethyl sulfoxide(DMSO, 10mM) 투여군으로 나누었다.

2. 해마 절편 제작

실험 동물을 단두하여 희생시킨 뒤 재빨리 뇌를 적출하고 얼음 위에서 대뇌 반구를 반으로 자르고 대뇌 피질을 제거한 후 양측에서 2개의 해마 전 부위를 구하였다. 차가운 영양액(2~4℃, 95% O₂/5% CO₂)을 적신 여과지위에 2마리 흰쥐로부터 얻은 4개의 해마를 가로 방향으로 위치하도록 하여 차가운 영양액을 뿌려 주면서 면도날이 달린 작두를 중력을 이용하여 400μm 두께로 잘라 주어 가로 방향의 해마 연속 절편을 얻었다.

실험에 사용한 영양액 조성은 다음과 같다(mM).

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

Mg⁺⁺이 허혈시 나타나는 흥분성 신경 독성(excitotoxicity)을 억제하므로 실험에 사용한 영양액에는 Mg⁺⁺을 첨가하지 않았으며, 또한 5-HT가 대사되는 것을 방지하기 위하여 monoamine oxidase 억제제인 nialamide(Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA)를 12.5μM 농도로 영양액 내에 첨가시켰다.

3. 저산소 상태 유도 및 사용 약물

4개의 해마로부터 얻은 절편을 8ml의 영양액(95% O₂/5% CO₂)에 담근 뒤 37℃를 유지하면서 30분간 shaking water bath내에서 해마 절편이 가볍게 흔들리도록 방지하여 조직을 안정시켰다. 30분 후 0.1μM의 ³H-5-HT(74μCi, Amersham International plc, Buckinghamshire, England)가 첨가된 영양액으로 갈아주고 20분간 방치하여 조직으로 ³H-5-HT가 흡착되도록 하였다. 20분 후 영양액을 버리고 동일한 조성의 신선한 영양액으로 씻어 준 후 해마 절편들을 무작위로 각각 2ml의 영양액이 든 4개의 vial에 나누어 담았다. 영양액내로 분비되어 나온 ³H-5-HT가 다시 조직내로 재흡착되는 것을 방지하기 위하여 이때부터 사용되는 영양액에는 5-HT 흡착 억제제인 zimelidine(Research Biochemical Incorporated, Natick, MA, USA)을 10μM 첨가하였고 이후 매 10분마다 140분간 반복해서 영양액을 갈아주며 실험을 시행하였다. 저산소 상태는 60분째부터 20분간 실시하였는데 저산소증은 95% O₂/

5% CO₂(용존산소 : 20ppm 이상)대신에 95% N₂/5% CO₂(용존산소 : 3ppm 이하)로 포화된 영양액을 사용하여 유도하였다. Hydroxyl radical 제거 물질인 DMSO는 저산소 영양액 노출 10분전부터 실험이 끝날 때까지 영양액 내로 투여하였다.

4. 방사능 측정

실험 종료까지 해마 절편에 잔존하는 ³H-5-HT의 방사능과 해마 절편으로부터 유리된 ³H-5-HT의 방사능을 모두 측정하였다. 즉, 실험이 끝난 조직은 1ml의 조직 용해제(SOLUEN 100, Packard Instrument Company Inc., Downers Grove, IL, USA)에 60분 노출시켜 조직을 완전히 녹인 후 100μl의 1N HCl를 첨가하여 조직 용해제를 중화시키고 이중 100μl를 취하여 5ml의 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 500μl를 취하여 역시 5ml의 liquid scintillation cocktail을 넣어 주고 방사능을 측정하였다.

5. 통계학적 분석

유리 ³H-5-HT 농도는 연속적인 14개의 vial의 영양

액에서 얻은 값과 조직에서 얻어진 값을 모두 합하여 조직으로 섭취된 총 방사능 양을 구하였고 각 vial의 영양액에 유리된 방사능 양을 총 방사능 양에 대한 % (fractional release)로 나타내었다. 얻은 실험 자료는 평균±표준 오차로 표시하였으며 실험군간의 변화 양상을 비교하기 위하여 분산 분석(analysis of variance)을 이용하였고, 대조군과의 차이는 Dunnett 법으로 비교하였다.

결 과

1. 해마 절편의 ³H-5-HT 유리

정상 영양액내에서 해마 절편은 자발적으로 ³H-5-HT를 유리하였는데 첫 10분째는 전체 ³H-5-HT 유리

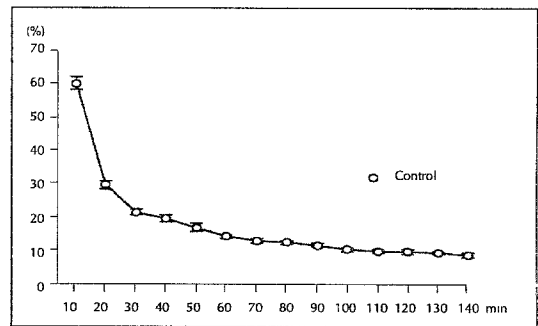


Fig. 1. Spontaneous release of ³H-5-hydroxytryptamine from the rat hippocampal slices. Each point is mean±S.E. expressed as percent of total release.

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

Tube No (min) ¹	Control (18) ²	DMSO ⁴ (8) ²	Hypoxia ³ (16) ²	Hypoxia ³ with DMSO ⁴ (4) ²
1(0)	19.8 ± 1.1	19.7 ± 0.3	19.5 ± 0.8	21.1 ± 0.4
2(10)	17.2 ± 1.2	17.2 ± 0.6	16.6 ± 0.7	18.6 ± 0.3
3(20)	14.6 ± 0.5	16.3 ± 0.6	13.9 ± 0.6	15.7 ± 0.4
4(30)	13.2 ± 0.6	15.2 ± 0.4*	11.4 ± 0.6*	14.2 ± 0.7 [#]
5(40)	12.7 ± 0.5	13.9 ± 0.6	11.5 ± 0.6	13.8 ± 1.4
6(50)	11.9 ± 0.5	13.3 ± 0.7	12.5 ± 0.5	13.1 ± 0.5
7(60)	10.7 ± 0.5	12.7 ± 0.6*	12.2 ± 0.4*	12.8 ± 1.2*
8(70)	10.2 ± 0.5	12.1 ± 0.5*	11.9 ± 0.4*	12.0 ± 0.9
9(80)	10.1 ± 0.6	11.3 ± 0.4	11.4 ± 0.5	11.3 ± 0.8
10(90)	9.7 ± 0.4	10.7 ± 0.5	10.9 ± 0.5*	11.2 ± 0.8
11(100)	9.1 ± 0.6	10.4 ± 0.6	9.8 ± 0.5	11.2 ± 0.9

Values are mean±S.E. expressed as percent of total release, ¹Numbers in parentheses are the elapsed time from the starting point(0 min). ²Numbers in parentheses are the number of animals. ³Hypoxia was induced by changing with the incubation media aerated with 95% N₂/5% CO₂ gas for 20min(tube 3 and 4), ⁴DMSO(dimethyl sulfoxide) was added into the incubation media(tube 2 to 10). *P<0.05 compared to control, #P<0.05 compares to hypoxia(Dunnett method for multiple contrasts was used)

량의 60.4%을 유리하였고 점차 감소되어 마지막 140분째는 $9.1 \pm 0.6\%$ 을 유리하였다. 40~50분째부터 유리량이 안정되었으므로 60분째에서 70분째에 20분간 저산소 영양액을 노출하였으며 저산소 노출 직전인 50분째에 약물 투여를 실시하였고 이후에는 배양후 40분째 값을 기준(0분, 100%)으로 표시하였다(Fig. 1, Table 1).

2. 저산소 상태에 의한 ^3H -5-HT 유리 변동

20분간 저산소 영양액에 노출시켰을 때, 20분째부터 ^3H -5-HT유리가 감소되기 시작하여 30분째에 가장 많은 ^3H -5-HT유리의 감소를 보여 대조군의 $13.2 \pm 0.6\%$ 에 비하여 $11.4 \pm 0.6\%$ 유리로 14.1%가 감소되었다. 그러나 정상 영양액으로 바꾸어 준 직후 ^3H -5-HT유리는 다시 증가되어 60분째 $12.2 \pm 0.4\%$ 로 대조군의 $10.7 \pm 0.5\%$ 보다 14.3%가 증가하였다. 이러한 반동성 증가는 실험 기간동안 지속되어 100분째는 대조군의 $9.1 \pm 0.6\%$ 에 비하여 저산소 영양액 노출군에서는 $9.8 \pm 0.5\%$ 가 유리되었다(Fig. 2, Table 1).

3. DMSO 투여에 의한 ^3H -5-HT 유리 변동

정상 영양액내에 DMSO투여시 ^3H -5-HT유리가 증가되어 30분째에 대조군의 $13.2 \pm 0.6\%$ 보다 $15.2 \pm 0.4\%$ 로 14.8% 증가하였고 이러한 유리 증가는 실험 종료시까지 계속되었다(Fig. 3, Table 1).

4. DMSO가 저산소 상태에 의한 ^3H -5-HT 유리 변동에 미치는 영향

20분간 저산소 영양액에 노출시키면서 DMSO를 투

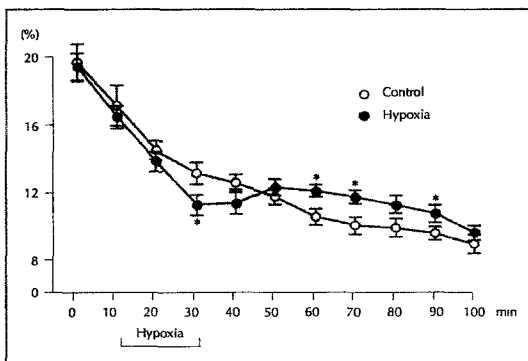


Fig. 2. Hypoxia-induced changes of ^3H -5-hydroxytryptamine release from the rat hippocampal slices. Hypoxia was induced by changing the incubation media aerated with 95% $\text{N}_2/5\%$ CO_2 gas for 20 min. Each point is mean S.E. expressed as percent of total release. * $P < 0.05$ compared to control (Dunnet method for multiple contrasts was used).

여하면 저산소 단독 투여군에서와 같은 일시적 ^3H -5-HT유리 감소가 나타나지 않았으며, 30분째에 ^3H -5-HT유리는 저산소 투여군의 $11.4 \pm 0.6\%$ 에서 $14.2 \pm 0.7\%$ 로 24.5%가 증가하였다. 산소 재공급후에도 이러한 증가는 지속적으로 나타나 저산소 단독 투여군의 반동성 유리 증가와 비슷한 수준을 유지하였다(Fig. 4, Table 1).

고 안

최근 보고에 의하면 허혈시 발생하는 신경세포 손상이 허혈 당시보다도 허혈성 조직으로 산소가 재공급되는 과정에서 주로 발생하므로³⁾ 오히려 산소의 재공급이 독작

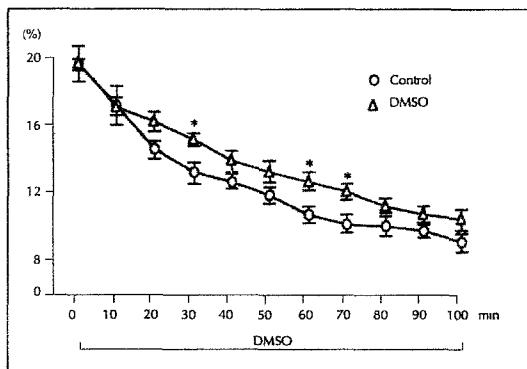


Fig. 3. DMSO-induced changes of ^3H -5-hydroxytryptamine release from the rat hippocampal slices. DMSO : Dimethyl sulfoxide. Each point is mean \pm S.E. expressed as percent of total release. * $P < 0.05$ compared to control (Dunnet method for multiple contrasts was used).

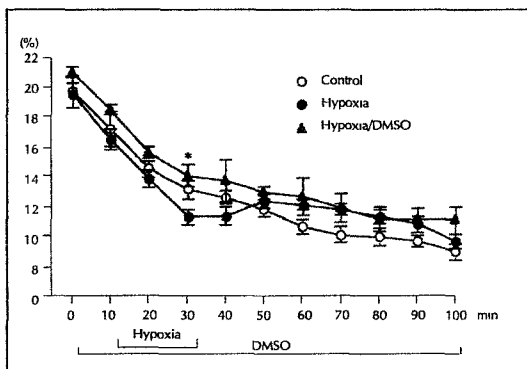


Fig. 4. Effect of DMSO on the changes of ^3H -5-hydroxytryptamine release induced by hypoxia from the rat hippocampal slices. * $P < 0.05$ compared to hypoxia (Dunnet method for multiple contrasts was used). Other legends are the same as Fig. 3.

용을 증가시킬 수 있다³⁾고 한다. 그러나 허혈의 치료에서 재관류는 필수적인 과정이므로 신속한 재관류를 시도하되²⁾ 산소에 의한 독성을 줄이고자 하는 노력에 초점이 맞추어지고 있다. 이러한 허혈/재관류성 조직 손상에는 산소유리기가 중요한 요인으로 작용한다고 하며 이러한 산소유리기에 의한 손상을 막기 위하여 내인성 항산화기전(antioxidant mechanism)이 존재하고³⁾ 여러 외인성 산소유리기 제거 물질 즉, xanthine oxidase 억제제인 allopurinol⁷⁾, hydroxyl radical 제거 물질인 dimethylthiourea⁸⁾ 및 dimethyl sulfoxide⁹⁾, iron chelator인 deferoxamine¹⁰⁾ 등이 뇌허혈 손상을 억제한다는 보고들이 있다.

이번 실험에서는 해마 절편을 이용하여 저산소 및 산소 재공급 상태에서 ³H-5-HT유리 변동에 미치는 산소유리기 제거 물질의 작용을 관찰하여 저산소 및 산소 재공급 상태에서 산소유리기의 영향을 알아보고자 하였다.

대조군의 자발적인 ³H-5-HT유리는 첫 10분에서 20분 동안 급격한 유리를 나타낸 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 것이고(washout phase) 그 이후의 ³H-5-HT는 해마에서 자연적으로 유리(release phase)된 양이라 생각된다.

20분간 저산소 영양액내에 노출시키는 동안 해마 절편의 자발적인 ³H-5-HT 유리가 현저하게 감소되었다. 초기 저산소동안에 뇌허혈에 대한 보호 작용을 나타낼 수 있는 여러 기전이 존재한다. Adenosine수용체는 흥분성 신경말단에 분포하며¹¹⁾ 뇌혈류가 역치이하로 감소되면 adenosine이 유리되어¹²⁾¹³⁾ 신경 흥분을 억제하고¹⁴⁾ 흥분성 신경전달물질의 유리를 억제하여 흥분성 신경 독성에 대하여 보호 효과를 나타낸다¹⁵⁾¹⁶⁾. 또다른 보호 기전으로 허혈시 ATP농도 감소로 칼륨 이온 통로가¹⁷⁾ 개방되어 세포막을 과분극시켜 칼슘의 세포내 유입을 억제시킨다¹⁸⁾. 세포내로의 칼슘 유입 억제는 허혈성 신경 세포에 보호 작용을 나타내며 신경세포의 말단에서 5-HT를 비롯한 신경전달물질의 유리를 억제할 수 있다고 한다¹⁹⁾. 따라서 이번 실험에 나타난 저산소시의 ³H-5-HT 유리 감소는 adenosine 또는 ATP-의존성 K⁺통로를 통하여 5-HT성 신경 활성이 직접 억제되어 나타났거나 또는 이들 보호기전이 흥분성 신경전달물질을 억제하

여 나타난 간접적인 결과로 해석된다.

한편 정상 영양액으로 환원시키면 대조군에 비하여 ³H-5-HT 유리가 증가되는 반동성 유리 증가 현상을 나타내었다. 저산소 상태에서 나타난 보호 기전이 상실되고 Na⁺K⁺-ATPase 손상 및 활성도 저하²⁰⁾는 다시 산소를 공급하여 회복되는 과정에서도 K⁺의 세포내 재흡수를 불충분하게 하여 신경세포의 계속적인 탈분극을 일으키으로써 신경 접합후 신경세포의 과다한 흥분을 초래한다고 한다²¹⁾. 또한 황성희 등²²⁾에 의하면 ³H-5-HT 유리의 반동성 증가는 NMDA(N-methyl-D-aspartate) 수용체 봉쇄제인 APV(2-amino-5-phosphovaleric acid)에 의하여 봉쇄되므로 NMDA 수용체 활성을 통한 글루타민성 신경의 과다 흥분을 통하여 일어난다고 한다. 따라서 이번 실험에서 나타난 ³H-5-HT유리의 반동성 증가는 5-HT성 신경세포 자체 및 글루타민성 신경의 과다 흥분을 통한 ³H-5-HT 유리 증가라고 생각된다.

한편 조직에 산소가 부족하게 되면 일련의 산소유리기를 형성하게 되는데³⁾ hydroxyl radical이 가장 강력한 독성을 나타내는 대표적인 산소 유리기로 알려져 있다. Hydroxyl radical 형성은 세포막 손상으로 인한 뇌부종을 일으키며 hydroxyl radical 제거 물질인 dimethylthiourea(DMTU) 또는 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 투여하면 뇌부종이 감소되므로⁸⁾¹⁰⁾, 허혈성 뇌손상에 hydroxyl radical의 역할이 중요할 것으로 생각된다. 본 실험에서 저산소 영양액 노출과 아울러 DMSO를 전투여(pretreatment)하였을 때 저산소 투여군에서 나타나는 ³H-5-HT 유리감소를 봉쇄하였으나 산소 재공급시 나타나는 반동성 증가에는 아무런 영향을 미치지 못하였다. 따라서 저산소 상태에서 나타나는 ³H-5-HT 유리 감소에 hydroxyl radical이 어떠한 역할을 담당할 수 있을 것으로 생각되었다. 그러나 정상 영양액 내에 DMSO를 투여하였을 때에도 대조군에 비하여 ³H-5-HT 유리가 지속적으로 증가된 상태를 유지하였으므로 DMSO에 의한 ³H-5-HT 유리 감소 봉쇄 또는 유리 증가는 hydroxyl radical 제거 작용 이외에 자체적으로 신경 활성을 촉진함으로써 나타난 효과라고 해석할 수 있겠다. DMSO는 높은 지질 용해성으로 인하여 뇌혈관 장벽을 쉽게 통과하여 뇌 보호 효과를 가지지만²³⁾ 동시에 조혈 세포 독성을 나타내고 최기형작용²⁴⁾과 간세포 효소와 상호작용을 나타낸다²⁵⁾고 한다.

따라서 DMSO는 정상 영양액하에서 자발적인 ³H-5-

HT 유리를 증가시키며 저산소 노출후 나타나는 ^3H -5-HT의 유리 감소를 봉쇄하므로 DMSO는 hydroxyl radical 제거 작용 이외에 일부 자체적으로 신경활성을 촉진하는 효과를 가지고 있음을 알 수 있었으며 그 세부 기전에 관하여 앞으로 더 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 생각되었다.

결 론

흰쥐의 해마 절편에 ^3H -5-HT를 흡착시킨 후 20분간 저산소 상태의 영양액내에 노출시키고 다시 정상 영양액으로 환원하였을 때 나타나는 ^3H -5-HT유리에 미치는 산소 유리기 제거 물질의 영향을 관찰하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1) 정상 영양액내에서 해마 절편은 자발적으로 ^3H -5-HT를 유리하였으며 초기의 급격한 유리 감소 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 ^3H -5-HT 유리를 나타내었는데 이러한 반동성 유리 증가는 실험 기간 지속되었다.

3) 정상 영양액내에 DMSO 투여시는 투여 후부터 실험 종료시까지 대조군보다 높은 ^3H -5-HT유리를 보였다.

4) 저산소 영양액 노출과 아울러 DMSO를 전투여하였을 때 저산소 영양액에만 노출시켰을 때 관찰되는 ^3H -5-HT유리 감소가 나타나지 않았고 산소의 재공급시에는 저산소 단독 투여군과의 비교시 유리의 변동이 없었다.

이상의 결과를 종합하여 보면 DMSO는 정상 영양액 하에서 자발적인 ^3H -5-HT 유리를 증가시키며 저산소 노출후 나타나는 ^3H -5-HT의 유리 감소를 봉쇄하므로 DMSO는 hydroxyl radical 제거 작용 이외에 일부 자체적으로 신경활성을 촉진하는 효과를 가지고 있음을 알 수 있었다.

References

1) Sokoloff L : *Circulation and energy metabolism of the brain*. In : Siegel GJ, Albers RW, Agranoff BW, et al Eds, *Basic Neurochemistry*, 3rd ed. Boston, Little,

Brown & Co, 1989 ; p471-495

- 2) Murdoch J, Hall R : *Brain protection : physiological and pharmacological considerations. Part I : The physiology of brain injury*. *Can J Anesth* 1990 ; 37 : 663-671
- 3) McCord JM : *Mechanism of disease : Oxygen deprived free radicals in post ischemic tissue injury*. *New Eng J Med* 1985 ; 312 : 159-163
- 4) Mead JF : *Free radical mechanism of lipid damage and consequences for cellular membranes*. In : Pryor WA, ed, *Free radicals in biology*. 2nd ed. New York, Academic Press, 1976 ; p51-68
- 5) Brierley JB, Graham DI : *Hypoxia and vascular disorders of the central nervous system*, In Adams JH, Corsellis JAN, Duchen LW, eds., *Greenfield's Neuropathology*. London, Edward Arnold, 1984 ; p125-205
- 6) Omar B, McCord J, Downey J : *Ischemia reperfusion*. In Sies H, ed. *Oxidative stress*. San Diego, Academic Press, 1991 ; p494-528
- 7) Palmer C, Vannucci RC, Towfighi J : *Reduction of perinatal hypoxic-ischemic brain damage with allopurinol*. *Pediat Res* 1990 ; 27 : 332-336
- 8) Martz D, Rayos G, Schielke GP, Betz AL : *Allopurinol and dimethylthiourea reduce brain infarction following middle cerebral artery occlusion in the rats*. *Stroke* 1989 ; 20 : 488-494
- 9) Albin MS, Bunegin P, Helsel M, Babinski J, Bell RD : *DMSO protect brain against experimental pressure induced cerebral ischemia*. *Crit Care Med* 1980 ; 8 : 251-254
- 10) Patt A, Horech IR, Berger EM, Harken AH, Repine JE : *Iron depletion or chelation reduces ischemia/reperfusion-induced edema in gerbil brains*. *J Pediatr* 1990 ; 25 : 224-228
- 11) Goodman RP, Kuhar M, Hester L, Snyder SH : *Adenosine receptors : Autoradiographic evidence for their localization on axon terminals of excitatory neurons*. *Science* 1983 ; 220 : 967-969
- 12) Lipton P, Robacker K : *Adenosine may cause early inhibition of synaptic transmission during anoxia*. *Soc neurosci Abstr* 1982 ; 8 : 993
- 13) Dunwiddie TV, Hass HL : *Adenosine increases synaptic facilitation in the in vitro rat hippocampus : evidence for a presynaptic site of action*. *J Physiol (Lond)* 1985 ; 369 : 365-377

- 14) Phillis JW, Kostopoulos K, Limacher I : *A potent depressant action of adenosine derivatives on cerebral cortical neurons.* *Eur J Pharmacol* 1974 ; 30 : 125-129
- 15) Goldberg MP, Weiss JH, Pham PC, Choi DW : *N-methyl-D-aspartate receptors mediate hypoxic neuronal injury in cortical culture.* *J Pharmacol Exp Ther* 1987 ; 243 : 784-791
- 16) Evans MC, Swan JH, Meldrum BS : *An adenosine analogue, 2-chloroadenosine, protects against long-term development of ischemic cell loss in the rat hippocampus.* *Neurosci Lett* 1987 ; 83 : 282-292
- 17) Ashford MLJ, Sturgess NL, Trout NG, Gardner NJ, Hales CN : *Adenosine-5'-triphosphate sensitive ion channels in neonatal rat cultured central neurons.* *pflugers Arch.* 1988 ; 412 : 297-304
- 18) Spruce AE, Standen NB, Stanfield PR : *Studies of the unitary properties of adenosine-5'-triphosphate regulated potassium channels of frog skeletal muscle.* *J Physiol* 1987 ; 382 : 213-236
- 19) Ben-Ari Y, Krnjevic K, Creper V : *Activators of ATP-sensitive K⁺ channels reduce anoxic depolarization in CA₃ hippocampal neurons.* *Neuroscience* 1990 ; 37 : 55-60
- 20) Blank WF, Kirshner HS : *The kinetics of extracellular potassium changes during hypoxia and anoxia in the cat cerebral cortex.* *Brain Res.* 1977 ; 123 : 113-124
- 21) Schiff SJ, Somjen GG : *Hyperexcitability following moderate hypoxia in hippocampal tissue slices.* *Brain Res* 1985 ; 337 : 337-340
- 22) 황성희 · 이경은 · 김동구 · 방혜련 · 안영수 : *해마 절편에서 저 산소증에 의한 5-hydroxytryptamine 유리 변동과 N-methyl-D-aspartate 수용체와의 관련성.* *대한신경과학회지*, 1994 ; 12 : 193-205
- 23) Bolli R, Zhu WX, Hartley CJ, Michael LH, Repine JE, Hess ML, Kukreja RC, Roberts R : *Attenuation of dysfunction in the postischemic 'stunned' myocardium by dimethylthiourea.* *Circulation* 1987 ; 76 : 458-468
- 24) Brennan SM : *Morphogenetic and molecular correlates of teratogenesis in the amphibian embryo.* *Teratology* 1991 ; 43 : 341-353
- 25) Govinger SP, Dalvi RR : *Stimulatory and inhibitory effects of dimethyl sulfoxide on microsomal aniline.* *Toxicology* 1991 ; 55 : 317-323