예방의학회지 : 제 27권 제 1호
Korean J. of Preventive Medicine
Vol. 27, No. 1, March 1994

일산화탄소 중독시 고압산소투여가 8-hydroxydeoxyguanosine 생성에 미치는 영향*

김 헌[1] · 조 수 헌[2] · 정 명 희[3]

충북대학교 의과대학 예방의학교실[1], 서울대학교 의과대학 예방의학교실[2],
서울대학교 의과대학 약리학교실[3]

= **Abstract** =

Effects of Hyperoxia on 8-Hydroxydeoxyguanosine Formation in Carbon Monoxide Exposed Rats

Heon Kim[1], Soo-Hun Cho[2], Myung-Hee Chung[3]

Department of Preventive Medicine, College of Medicine, Chungbuk National University[1]
Department of Preventive Medicine, Seoul National University College of Medicine[2]
Department of Pharmacololgy, Seoul National University College of Medicine[3]

Hyperbaric oxygen (HBO) therapy for carbon monoxide (CO) poisoning eventually inducing the hypoxia-reoxygenation condition, may produce oxygen free radicals, which forms 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OH-dG) by attacking C-8 position of deoxyguanosine (dG) in DNA. Effects of oxygen partial pressure or duration of HBO therapy with or without CO poisoning on the tissue 8-OH-dG formation were investigated.

Male Sprague-Dawley rats were grouped and exposed to air (control group), 4000 ppm of CO for 10 to 30 minutes (CO only group), air for 30 minutes after 30 minute exposure to 4000 ppm of CO (CO-air exposure group), HBO after 30 minute exposure to 4000 ppm of CO (CO-HBO group), or HBO therapy for 10~120 minutes (HBO only group). The 8-OH-dG concentrations in the brain and the lung tissues were measured with high performance liquid chromatography and electrochemical detector (ECD).

Average concentrations of the 8-OH-dG of each group were statistically compared. In the brain tissues, 8-OH-dG concentrations of the CO only group, the CO-air exposure group, and the CO-HBO group did not significantly differ from those of the control group. Similar insignificance was also found between the CO-HBO group and the HBO

* 이 논문은 1991년도 교육부기초의학학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

only groups. No appreciable dose-response relationship was observed between the 8-OH-dG concentration and the oxygen partial pressure or the duration of HBO. However, the 8-OH-dG concentrations of the 30 minute CO only group were higher than those of the CO-air exposure group (p-value < 0.05).

In the lung tissues, there were no significant differences between the 8-OH-dG concentrations of the control group and those of the CO only group, the CO-air exposure group, and the CO-HBO group. However, mean 8-OH-dG concentration of the CO-air exposure group was significantly higher than that of the CO only group under the same CO exposure condition (p-value < 0.05). With the duration of CO exposure, the 8-OH-dG concentrations of the lung tissues decreased significantly (p-value < 0.05). The concentrations of 8-OH-dG in the lung tissues proportionally increased with the duration of HBO, but no such relation was observed with the oxygen partial pressure.

These results suggest that the brain may be more resistant to oxygen free radicals as compared with the lungs, and that oxygen toxicity following HBO may be affected by factors other than oxygen free radicals.

Key words: carbon monoxide, hyperbaric oxygen therapy, oxygen free radical, 8-hydroxydeoxyguanosine

서 론

고압산소요법 (hyperbaric oxygen therapy, 이하 HBO라 표시)은 대기압보다 높은 압력하에서 고농도의 산소를 체내에 공급하여 질병의 치료와 증상의 개선을 도모하는 치료방법으로(조수헌 등, 1989), 우리나라에서는 1966년에 일산화탄소 (carbon monoxide, 이하 CO라 표시) 중독의 치료를 위하여 처음 사용되었으며(홍순철 등, 1967) 이후에도 주로 CO중독에 대한 가장 유용한 치료방법으로 사용되어 왔다(윤덕로 등, 1985). CO에 중독된 경우 HBO를 시행하면, carboxyhemoglobin의 해리가 촉진되고, 동시에 혈장에 물리적으로 용해되는 산소의 양이 증가되므로 결과적으로 조직에 공급되는 산소의 양이 증가하게 되어, 조직에서는 저산소증 후에 재산소화(再酸素化, reoxygenation)가 일어나게 된다.

한편, superoxide 음이온(anion) 등의 산소 유리기(酸素 遊離基, oxygen free radical)는 세포내에서 산소대사의 부산물로 생성되는 것으로 산소를 이용하는 모든 세포내에서 발생된다. 즉 사립체(絲粒體, mitochondria)가 사용하는 산소의 1~4%는 부분적으로 환원되면서 superoxide 음이온, 과산화수소(hydrogen peroxide), 수산기 유리기(水酸基 遊離基, hydroxyl radical) 등의 산소 유리기를 형성한다(Turrens 등, 1982). 또, 호중구(neutrophil) 등의 대식세포는 미생물이나 다른 이물질에 의하여 활성화되면 산소소모량이 갑자기 증가하게 되는 소위 "respiratory burst"가 나타나고 이때 NADPH 산화효소(oxidase)를 촉매로 하여 superoxide 음이온을 만들어낸다. 그외에 세포질(cytosol) 내에 함유된 효소나 thiol, hydroquinone, alloxan, catecholamine 등의 물질에 의해서도 산소 유리기가 형성된다.

정상적인 산소대사에 의해서 생성되는 것에 덧붙여, 고압-고농도의 산소를 조직에서 이용하게 될 때는 더욱 많은 양의 산소 유리기가 발생된다(McCord 등, 1978). 산소분압이 증가하는 경우에

사립체에 의한 superoxide 음이온의 생성량이 현저히 증가하게 되며(Turrens 등, 1982), 이러한 산소 유리기는 산소중독(Stoklasova, 1989), 특히 고압산소에 의한 폐독성의 중요한 기전으로 설명되고 있다(Crapo 등, 1983).

허혈-재관류(ischemia-reperfusion) 기전에 의해서도 산소 유리기의 생성이 증가하는데 특히 재관류가 시작된 후 최초 수 분 이내에 다량의 산소 유리기가 방출된다(Zweier, 1988). Hearse 등(1986)에 의하면 허혈기 혹은 저산소기동안 내피의 xanthine 탈수소효소(dehydrogenase)(type D)가 xanthine 산화효소(oxidase)(type O)로 변화하며, ATP는 분해되어 hypoxanthine을 만든다. Hypoxanthine이 요산(uric acid)으로 산화되는 반응의 촉매역할을 xanthine 산화효소가 담당하는 경우에는 부산물로 superoxide 음이온이 생성된다. 이렇게 생긴 superoxide 음이온은 Fe^{++} 이온이 존재하면 소위 "iron-catalyzed Harber-Weiss reaction"을 거쳐 반응성이 강한 수산기 유리기($OH\cdot$)를 생성하게 된다(McCord 등, 1978; Ikeda 등, 1990). 이밖에 아라키돈산 경로(arachidonate pathway)(Samuelsson, 1983), catecholamine(Singal 등, 1982), 사립체(Turrens 등, 1982), 호중구(McCord와 Day, 1978)등도 허혈-재관류 기전에 의한 산소 유리기 생성에 관여한다. 이러한 허혈-재관류 현상에서의 산소 유리기 형성기전은 결국 조직의 저산소증 후에 공급된 산소에 기인되는 것이므로, 허혈 이외의 원인에 의한 저산소 상태에서의 재산소화(reoxygenation)에 의해서도 산소 유리기의 발생이 증가될 것으로 유추할 수 있다. 실제로 Torok 등(1984)은 허혈과 무관한 단순한 저산소증과 이후의 재산소화에 의해서, 허혈-재관류 현상에 비하여 적기는 하지만 다량의 산소 유리기가 생성되는 것을 보고하였다.

CO 중독시에도 이로 인한 저산소증이 초래되고 또 치료목적으로 고압 산소를 흡입하는 경우에는 조직에서 저산소증-재산소화 현상이 나타날 것이므로, 산소 유리기의 생성이 증가될 것으로 추측된다. 따라서 이러한 현상이 HBO를 이용하였을 때 저산소상태의 조직에 대하여 상충되는 두가지 효과를 나타낼 수 있을 것으로 가정할 수 있는데, 그 하나는 저산소 상태의 조직에 산소공급을 촉진하여 더 이상의 조직손상을 막아주는 것이며, 다른 하나는 산소 유리기의 생성을 통하여 조직손상을 유발할 수 있다는 점이다. CO 중독환자를 치료방법에 따라 나누어 신경학적 후유증의 발생빈도를 조사한 연구중 일부(Olson 등, 1982; 박병주 등, 1984; 강희찬 등, 1985)는, HBO로 치료 받은 군이 대기압에서 100% 산소로 치료 받은 군보다 후유증 발생율이 높다고 보고한 바 있으며, 그 이유는 내원시 의식 상태가 상대적으로 나쁜 환자가 선택적으로 HBO를 받은 경우가 많았을 것으로 해석하고 있다(강희찬 등, 1985). 그러나 이러한 신경학적 후유증이 HBO로 증가되었을 산소 유리기에 의한 중추신경계 손상 때문일 가능성도 배제할 수는 없으며, 또, CO 중독의 치료제로서 시도되었던 아스코르빈산(ascorbic acid)(한봉전, 1971)도 이 물질의 항산화효과(anti-oxidative effect)와 무관하지 않은 것으로 짐작된다. 따라서 CO 중독후 저산소증-재산소화 과정에서 산소 유리기의 생성이 증가하게 되는지에 대한 과학적 검증이 요구된다고 하겠다.

어떠한 원인에 의한 것이든 비정상적으로 많이 생성된 산소 유리기는 superoxide dismutase 등의 방어기전에 의하여 완전히 제거되지 않고 일부가 조직내에 잔존하게 되며, 미처 제거되지 않은 산소 유리기는 지질 과산화(lipid peroxidation)를 일으켜 세포막을 파괴하며, 효소를 변성시키고 Ca^{++}의 항상성을 깨뜨린다(Battelli 등, 1982). 이에 덧붙여 산소 유리기는 핵산의 염기 guanine 등을 C-8 위치에서 수산화(hydroxylation)하여 8-hydroxyguanine(이하 8-OH-G라 표시)이나 8-hydroxydeoxyguanosine(이하 8-OH-dG라 표시)을 생성한다(Kasai 등, 1986). 따라서 조직내의 8-OH-dG 농도는 조직에서 생성된 산소 유리기의 양을 반영하며(Kasai 등, 1991), 산소 유리기의 발

생이 증가하게 되는 경우에는 조직의 8-OH-dG 농도도 증가하게 된다(Blakely 등, 1990; Fraga 등, 1990; Floyd, 1990; Ames, 1991).

고속액체크로마토그래피(high performance liquid chromatography, 이하 HPLC라 표시)와 전기화학 검출기(electrochemical detector, 이하 ECD라 표시)로 조직의 DNA중 8-OH-G이나 8-OH-dG의 농도를 측정하는 방법(Kasai, 1989; Kiyosawa 등, 1990; Chung 등, 1991)은 비교적 간단하면서도 재현성이 높으므로, 이를 이용한다면 조직에서 생성된 산소 유리기양을 추정할 수 있을 것이다.

연구목적

본 연구는 CO 폭로후 HBO를 받은 백서, CO 폭로후 대기중에 방치된 백서, HBO만 처치된 백서, 그리고 CO 폭로와 HBO 중 어느 것도 받지 않은 백서 등을 실험대상으로 하여 폐와 뇌조직 세포 핵내 DNA의 8-OH-dG 농도를 측정 비교함으로써 다음의 질문에 대한 해답을 얻는 것을 그 목적으로 한다.

1. CO 중독후 치료목적으로 시행하는 HBO에 의해서 조직의 8-OH-dG 농도가 증가하는가?
2. 만약 그렇다면, CO 중독에 대한 HBO의 치료시간이나 적용하는 산소의 분압이 증가함에 따라 8-OH-dG 농도도 따라서 증가하는가?
3. 그리고, CO 중독시 HBO를 시행하는 경우가 CO 중독이 안된 상태에서 HBO를 받은 경우에 비하여 8-OH-dG 농도가 더욱 증가하는가?

연구재료 및 방법

1. 연구대상

3개월 정도된 Sprague-Dawley종 웅성백서 144마리를 5개군으로 나누어서 다음과 같은 조치를 하였다.

1) 대조군 : 8마리

아무런 처치나 폭로없이 장기를 적출하였다.

2) 일산화탄소폭로군 : 21마리

4000 ppm의 CO에 폭로시킨 후 즉시 장기를 적출하였다. 이들을 다시 3개군으로 나누었으며, 그 각 군의 CO 폭로시간은 10분(6마리), 20분(6마리), 30분(9마리)으로 하였다.

3) 일산화탄소폭로후 대기호흡군 : 7마리

4000 ppm의 CO에 30분간 폭로시킨 다음 30분간 대기중에 방치한 후 장기를 적출하였다.

4) 일산화탄소폭로-고압산소치료군 : 12마리

4000 ppm의 CO에 30분간 폭로시킨 다음 1절대기압(atmosphere absolute, 이하 ATA라 표시) 100% 산소(3마리) 또는 3 ATA 100% 산소(9마리)로 30분간 HBO를 시행한 후 장기를 적출하였다.

5) 단순 고압산소처치군 : 96마리

CO에 폭로시키지 않은 백서를 1, 3, 5 ATA 100% 산소에 30, 60, 90, 120분간씩 폭로시킨 다음 장기를 적출하였다. 5 ATA의 경우는 그 이외에도 10, 20, 45, 그리고 65분간의 폭로시간을 추가로 정하여 폭로시켰다(Table 1).

2. 연구 방법

1) CO 폭로

CO 폭로를 위하여 특별히 고안된 폭로 장치내에서 폭로시켰다. 폭로장치는 아크릴로 제작된 것으로 원통형이며 내경은 29 cm, 길이는 63 cm이다. CO는 한국표준과학연구원에서 제작한 표준가스를 압축공기와 적절한 비율로 혼합하여 사용하였으며 폭로장치 내의 CO 농도는 비분산적 외선법을 이용한 CO-monitor로 계속 관찰하면서 4000 ppm 근처로 유지하였다. 폭로실 내부의 CO 농도가 목표농도에 이른 다음에도 CO와 공기의 혼합가스를 1분에 최소한 5리터이상 환기하여 폭로실 내부의 CO 농도를 일정하게 유지하도록

Table 1. Numbers of rats in the HBO only group by applied oxygen pressure and duration of HBO therapy

Duration (min)	Pressure			Total
	1 ATA	3 ATA	5 ATA	
10	–	–	4	4
20	–	–	4	4
30	7	4	7	18
45	–	–	4	4
60	6	4	7	17
65	–	–	9	9
90	6	6	7	19
120	8	6	7	21
Total	27	20	49	96

하였고 CO 폭로시간은 목표농도에 도달한 후 30분으로 하였다.

2) 고압산소치료

백서의 HBO를 위하여 특별히 고안된 고압산소장치를 이용하였다. 이 장치는 아크릴 원통과 스텐레스로 제작된 것으로 아크릴 원통의 내경은 28.5 cm, 길이는 65 cm이다. 치료시작전에 100% 산소를 사용하여 충분히 환기시켰으며, 충분한 환기후나, 3 ATA 또는 5 ATA에 다다른 때부터 정해진 시간동안 고압산소요법을 시행하였다.

3) 장기적출

각군 백서의 뇌와 폐를 적출하였다. 뇌는 실험동물을 단두치사한 후 두개를 박리하여 적출하였다. 적출된 장기는 즉시 액체 질소에 담가 충분히 동결시킨 후에 꺼내서 즉시 영하 70℃의 냉동고로 옮긴 다음 HPLC-ECD를 이용하여 분석하기 전까지 보관하였다.

4) 8-OH-dG의 측정

우선 각 조직으로부터 잘라낸 조직편(5 mg 내외)에서 DNA를 추출한 후(Marmur, 1961) 이 DNA를 nucleoside 수준까지 소화시켜서 이를 자외선 검출기(ultraviolet detector, 이하 UVD라 표시) 및 ECD가 부착된 HPLC에 주입하여, 8-OH-dG는 ECD로, 정상 deoxyguanosine(이하 dG라 표시)은 UVD로 검출, 정량하여 정상 dG의 양에 대한 8-OH-dG의 양의 비율을 계산하는 방법으로 8-OH-dG의 함량을 측정하였다(Kasai 등, 1986).

각 단계의 실험방법을 상술하면 다음과 같다.

(1) 조직으로부터의 DNA 추출

조직을 5 mg 정도의 크기로 잘라서 SET/SDS 용액으로 처리한 다음, Proteinase K를 첨가하여 37℃에서 3시간 정도 항온배양(incubation)하였다. 그 다음 phenol, pH 8.0과, chloroform과 isoamyl alcohol을 24:1로 혼합한 용액을 이용하여 단백질을 제거하고 ethylene-glycol monoethyl ether를 가하여 영하 20℃에서 2시간동안 보관하였다. 원심분리하여 상등액을 취한 다음 ethanol을 가하여 DNA를 수거하여 말리고 RNase로 처리하여 RNA를 제거하였다. 이러한 과정을 2회 반복하였다. 다시 말린 다음 멸균 증류수에 보관하였다가 다음 실험에 사용하였다.

(2) DNA의 소화

상기 방법으로 얻어진 DNA를 초산 완충액(acetate buffer), pH 5에 녹인 후 nuclease P1으로 처리하고 이어 Tris-HCl buffer, pH 8.0에서 alkaline phosphatase로 처리하여 DNA를 nucleoside 수준까지 소화시켰다.

(3) 8-OH-dG의 정량

소화시킨 DNA시료를 Beckman Ultrasphere ODS column과 ECD(ESA Model 5100A, analytical cell: ESA model 5011) 및 UVD(Gilson 112 UV/vis detector)가 부착된 HPLC(pump: Gilson Model 302, manometric module: Gilson 802C)에 주입하였다. 이동상 용액으로는 8% methanol, 20 mM phosphate buffer 용액을 사용하였으며 1분에 0.5 ml씩 흘려주었다. 8-OH-dG는 ECD로, 정상 dG는 UVD(파장 254 nm)로 정량하여 8-OH-dG의 함량을 정상 dG의 함량(예를 들면 10만개)에 대한 비율로 환산하여 표시하였다.

연구성적

8-OH-dG과 dG는 HPLC에 의하여 Fig. 1과 같이 분리되었다.

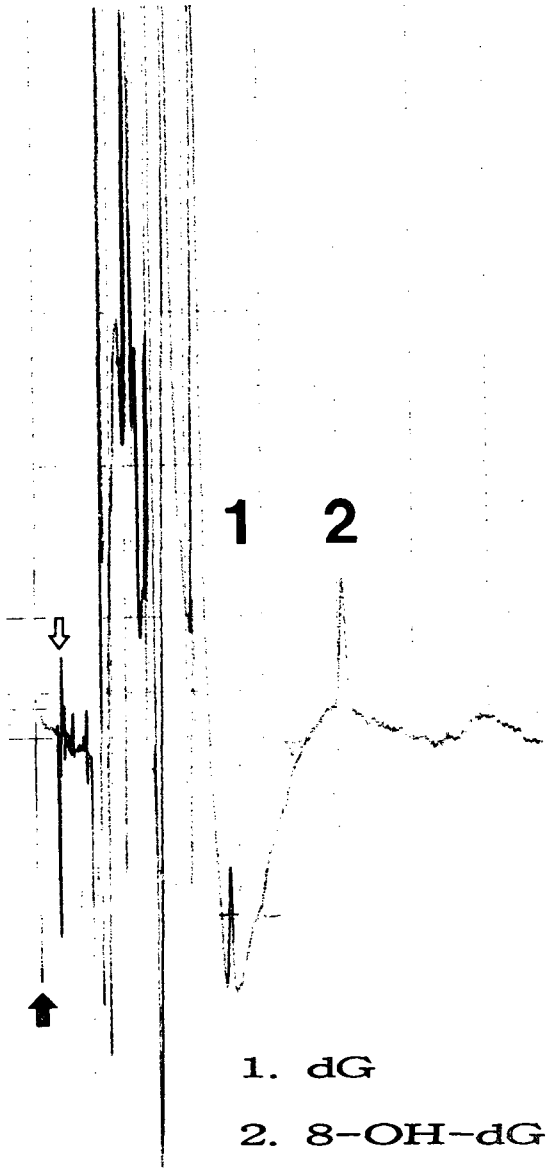

Fig. 1. Chromatogram of deoxyguanosine **(1)** and 8-hydroxydeoxyguanosine **(2)**. Closed arrow indicates the injection time of deoxyguanosine, open arrow that of 8-hydroxydeoxyguanosine. Chart speed was 10 mm/sec.

1. 뇌조직

4000 ppm의 CO에 10분, 20분, 30분간 폭로시킨 일산화탄소폭로군의 뇌조직중 8-OH-dG 농도가 아무런 처치를 하지 않은 대조군의 농도와 유의한 차이를 보이는 경우는 없었다(Fig. 2).

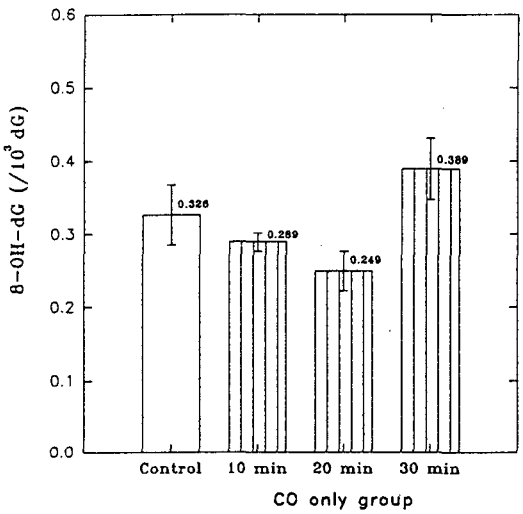

Fig. 2. Brain 8-OH-dG concentrations of the control group and the CO only groups. The CO only groups were exposed to 4000 ppm carbon monoxide for 10, 20, or 30 minutes.

4000 ppm의 CO에 폭로시킨 후 공기중에 방치한 군, 1 ATA-100% 산소를 흡입시킨 군, 그리고 3 ATA-100% 산소로 HBO를 시행한 군의 뇌조직중 8-OH-dG 농도를 대조군과 비교한 결과 유의한 차이를 보였던 실험군은 없었으며, 3군 상호간에도 유의한 차이를 발견할 수 없었고(p-value = 0.717 by Kruskal-Wallis test), CO 폭로후 적용한 산소 분압에 따라 그 농도가 증가하거나 감소하는 경향을 보이지도 않았다($R^2 = 0.0391$, p-value > 0.05)(Table 2).

한편, CO에 폭로시킨 후 즉시 희생시켜서 장기를 적출한 실험군의 뇌조직중 8-OH-dG 농도는 CO 폭로후 30분간 대기중에 방치한 다음 장기를

Table 2. Brain 8-OH-dG concentrations of the CO-air exposure group and the CO-HBO group (unit: /10^3 dG)

Co exposure duration (min)	HBO treatment		No. of rats	8-OH-dG conc.		p-value@
	Pr.@@	Duration		Mean	S.D.	
0@@@			8	0.326	0.116	--
30	air	30 min	7	0.255	0.146	0.224
30	1	30 min	3	0.245	0.113	0.358
30	3	30 min	9	0.293	0.147	0.665

p-value: 0.717 by Kruskal-Wallis test among 3 groups
@: p-value when compared to the control group by Wilcoxon rank sum test
@@: partial pressure of oxygen in ATA
@@@: the control group

Table 3. Brain 8-OH-dG concentrations of the CO only group, the Co-air group and the CO-HBO group (unit: /10^3 dG)

Exposure condition	N	Mean	S.D.	p-value@
CO only (30 min)	9	0.389	0.127	--
CO (30 min) - air exposure (30 min)	7	0.255	0.146	0.020
CO (30 min) - 100% O_2 (30 min)	3	0.244	0.113	0.096
CO (30 min) - 3 ATA HBO (30 min)	9	0.293	0.147	0.112

@: p-value when compared to the CO only (30 min) group by Wilcoxon rank sum test

적출한 실험군의 농도에 비하여 유의하게 높았으나 (Table 3), CO 폭로후 3 ATA-100%, 또는 1 ATA-100% 산소로 치료한 군과는 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

4000 ppm의 CO에 폭로시킨 후 HBO를 시행한 백서군과 CO에는 폭로시키지 않고 HBO만 시행한 백서군의 뇌조직중 8-OH-dG를, 적용한 HBO의 조건을 짝지어서 비교한 경우에도 유의한 차이를 보이는 경우는 없었다 (Fig. 3).

일산화탄소폭로후 대기호흡군이나 일산화탄소 폭로-고압산소치료군의 뇌조직중 8-OH-dG 농도는 CO 폭로 초기에는 감소하다가 30분이 경과하면 증가하고 CO 폭로를 멈추고 대기, 100% 산소, 또는 고압산소를 투여하면서 감소하는 경향을 나타냈다 (Fig. 4).

CO에 폭로시키지 않고 HBO를 시행한 군의 뇌조직중 8-OH-dG의 농도는 Table 4와 같다.

단순 고압산소처치군을 대상으로 동일한 압력하에서 고압산소 처치시간이 증가하는데 따라서 뇌조직중 8-OH-dG 농도가 증가하는지 여부와 처치시간이 같은 경우에 HBO에 사용된 산소 분압이 증가함에 따라서 그 농도가 상승하는지 여부를 회귀분석으로 검정하였다. 그 결과 같은 산소분압을 적용한 경우에, 고압산소 치료시간에 따라서 유의하게 변했던 경우는 없었으며 (Table 5, Fig. 5), 같은 치료시간을 적용하였을 때도 산소분압이 변화함에 따라서 유의한 변화를 보이는 경우는 없었다 (Table 6, Fig. 6).

고압산소 처치시의 산소분압과 치료시간을 독립변수로 하고 뇌조직중 8-OH-dG 농도를 종속변수로 하는 중회귀분석에서 산소분압과 치료시간 모두가 유의하지 않은 것으로 나타났다 (Table 7).

5 ATA로 65분간 고압산소 처치를 시행한 군을 두 군으로 나누어 한 군은 즉시 희생시켜서 장기

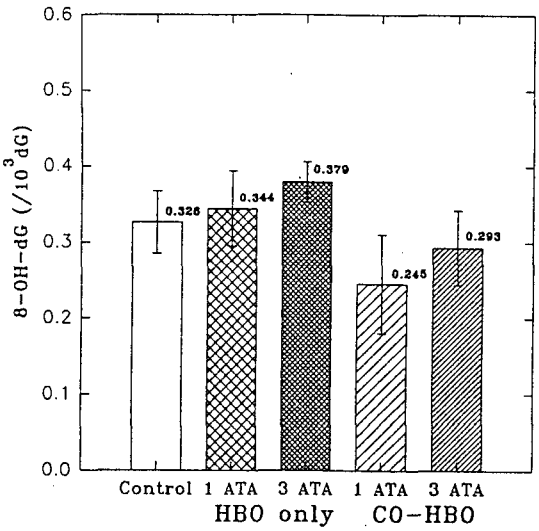

Fig. 3. Brain 8-OH-dG concentrations of the control group, the HBO only groups, and the CO-HBO groups. The HBO only groups were treated with 1 or 3 ATA-100% oxygen for 30 minutes without exposure to carbon monoxide gas, and the CO-HBO groups were treated with 1 or 3 ATA-100% oxygen after 30 minute exposures to 4000 ppm carbon monoxide gas.

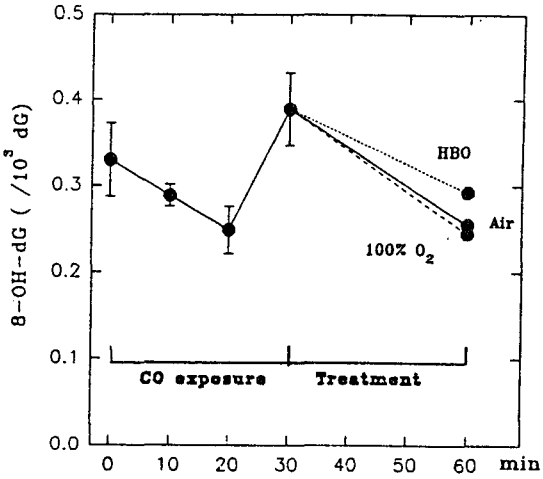

Fig. 4. Changing patterns of the brain 8-OH-dG concentrations by the treatment method after exposure to carbon monoxide gas. These groups were treated with 3 ATA-100% oxygen for 30 minutes (HBO), with 1 ATA-100% oxygen for 30 minutes (100% O_2), or with ambient air for 30 minutes (Air) after 30 minute exposures to 4000 ppm carbon monoxide gas.

Table 4. Brain 8-OH-dG concentrations of the HBO only group (unit: /10^3 dG)

Duration of HBO treatment (min)	O_2 partial pressure							
	0.2 ATA@		1 ATA		3 ATA		5 ATA	
	N	Mean ± S.D.	N	Mean ± S.D.	N	Mean ± S.D.	N	Mean ± S.D.
0	8	0.33 ± 0.12@@	–	– –	–	– –	–	– –
10	–	– –	–	– –	–	– –	4	0.28 ± 0.24
20	–	– –	–	– –	–	– –	4	0.21 ± 0.18
30	–	– –	7	0.34 ± 0.13	4	0.38 ± 0.05	7	0.23 ± 0.12
45	–	– –	–	– –	–	– –	4	0.38 ± 0.02
60	–	– –	6	0.34 ± 0.14	4	0.36 ± 0.01	7	0.26 ± 0.12
65	–	– –	–	– –	–	– –	9	0.31 ± 0.18
90	–	– –	6	0.33 ± 0.27	6	0.36 ± 0.01	7	0.19 ± 0.22
120	–	– –	8	0.26 ± 0.19	6	0.39 ± 0.02	7	0.33 ± 0.14

@ : air exposure
@@ : the control group

를 적출하였고 다른 한 군은 30분간 대기중에 방치한 다음 장기를 적출하였는데 이들 양군의 뇌조직중 8-OH-dG의 농도는 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 8).

Table 5. Regression analysis between brain 8-OH-dG concentration and HBO duration in the HBO only group of same oxygen partial pressure

Oxygen partial pressure	intercept	β	s.e.(β)@	R^2	F	p-value
1 ATA	0.3477	−0.0005	−0.0006	0.0188	0.632	0.4321
3 ATA	0.3364	0.0004	0.0003	0.0758	2.132	0.1563
5 ATA	0.2830	−0.0001	0.0006	0.0003	0.014	0.9065

Model: 8-OH-dG concentration = intercept + β · (HBO duration in minutes)
@ : standard error of β

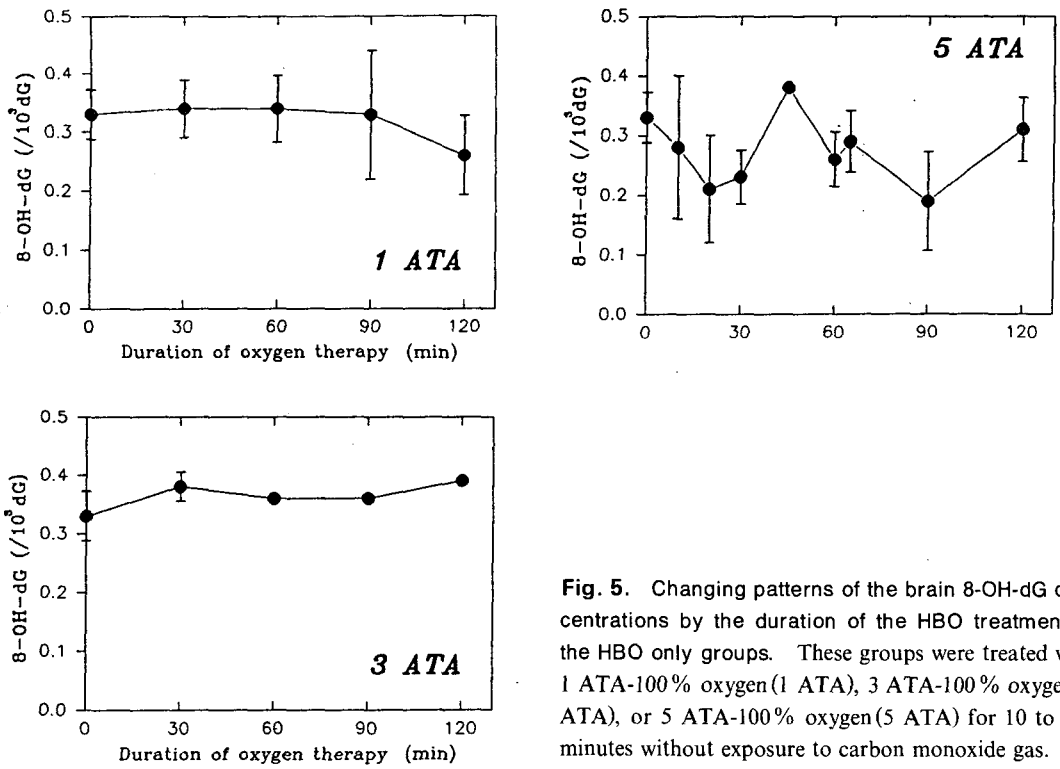

Fig. 5. Changing patterns of the brain 8-OH-dG concentrations by the duration of the HBO treatment in the HBO only groups. These groups were treated with 1 ATA-100% oxygen (1 ATA), 3 ATA-100% oxygen (3 ATA), or 5 ATA-100% oxygen (5 ATA) for 10 to 120 minutes without exposure to carbon monoxide gas.

2. 폐조직

4000 ppm의 CO에 폭로시킨 후 즉시 희생시킨 실험군과 아무런 처치를 하지 않은 대조군의 폐조직중 8-OH-dG 농도는 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 7). 그러나 일산화탄소폭로군에서는 CO 폭로시간이 증가할수록 폐조직의 8-OH-dG 농도는 유의하게 감소하는 경향을 나타냈다(R^2 = 0.181, p-value < 0.05).

4000 ppm의 CO에 폭로시킨 실험군을 공기중에 방치한 군, 1 ATA-100% 산소를 흡입시킨 군, 그리고 3 ATA-100% 산소로 HBO를 시행한 군의 3개군으로 나누어 폐조직중 8-OH-dG 농도를

Table 6. Regression analysis between brain 8-OH-dG concentration and oxygen partial pressure in the HBO only group of same duration of HBO

Duration of HBO (min)	intercept	β	s.e.(β)@	R^2	F	p-value
30	0.3932	−0.0286	0.0160	0.1664	3.193	0.0929
60	0.3769	−0.0212	0.0160	0.1046	1.752	0.2054
90	0.3990	−0.0356	0.0278	0.0877	1.634	0.2184
120	0.2682	0.0172	0.0191	0.0409	0.811	0.3791

Model: 8-OH-dG concentration = intercept + β · (oxygen partial pressure)
@ : standard error of β

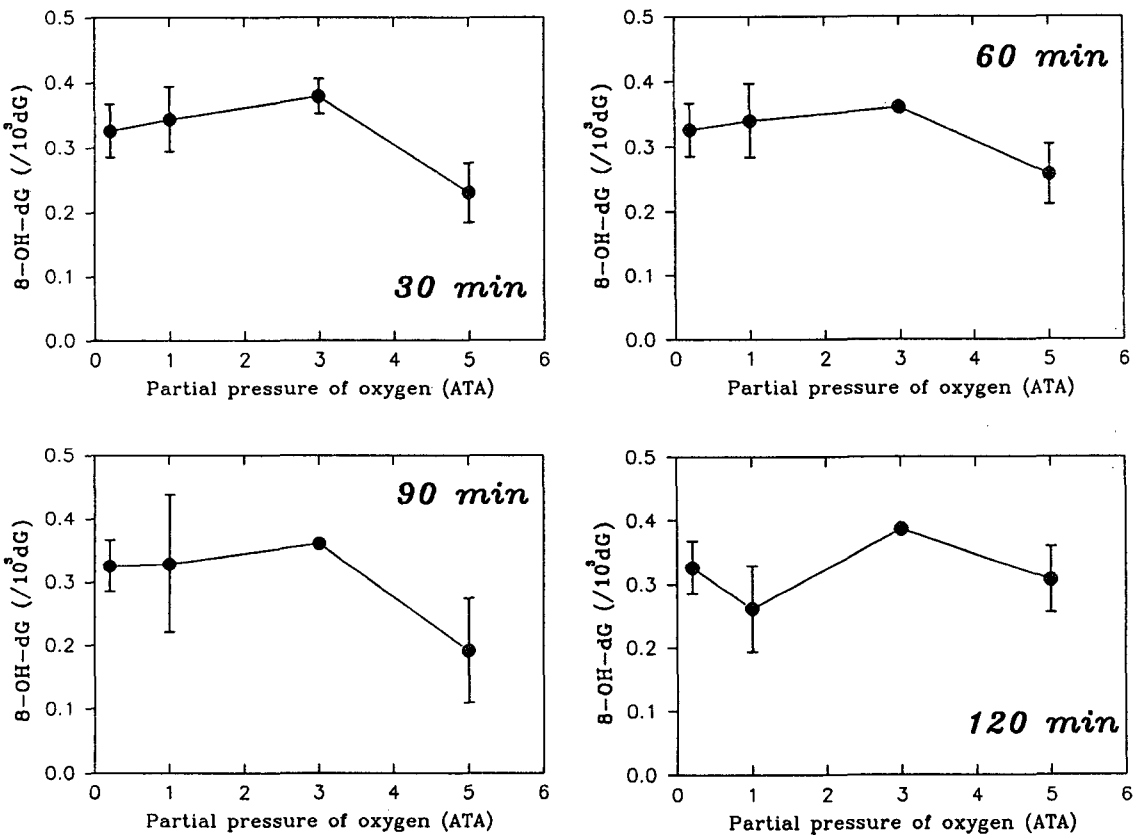

Fig. 6. Changing patterns of the brain 8-OH-dG concentrations by the partial pressure of oxygen in the HBO only groups. These groups were treated for 30, 60, 90, or 120 minutes without exposure to carbon monoxide gas.

비교한 결과 유의한 차이가 없었으며(p-value = 0.520 by Kruskal-Wallis test), 치료시 사용한 산소분압에 따라서도 그 농도가 증가하거나 감소하는 경향을 보이지 않았다. 또 이들 3개 실험군과

Table 7. Multiple regression analysis of brain 8-OH-dG concentration by oxygen partial pressure and duration of HBO in the HBO only group

Variables	d.f.@	β	s.e.(β)@@	T	p-value
Intercept	1	0.3373	0.0373	9.049	0.0001
Oxygen partial pressure (ATA)	1	−0.0118	0.0079	−1.497	0.1375
Duration of HBO (min)	1	0.0001	0.0004	0.278	0.7814

Model: 8-OH-dG = intercept + β_1 · (oxygen partial pressure in ATA) + β_2 · (duration of HBO in minutes)
R^2 = 0.0220, F = 1.14 (degree of freedom: 2, 101; p-value = 0.3254)
@ : degree of freedom
@@ : standard error of β

Table 8. Brain 8-OH-dG concentrations of the HBO (5 ATA-65 min) only group and the HBO (5 ATA-65 min)-air exposure (30 min) group (unit: /10^3 dG)

Exposure condition	N	Mean	S.D.
HBO (5 ATA-65 min) only	9	0.309	0.184
Air exposure (30 min) after HBO (5 ATA-65 min)	4	0.335	0.034

p-value = 0.817 by Wilcoxon rank-sum test

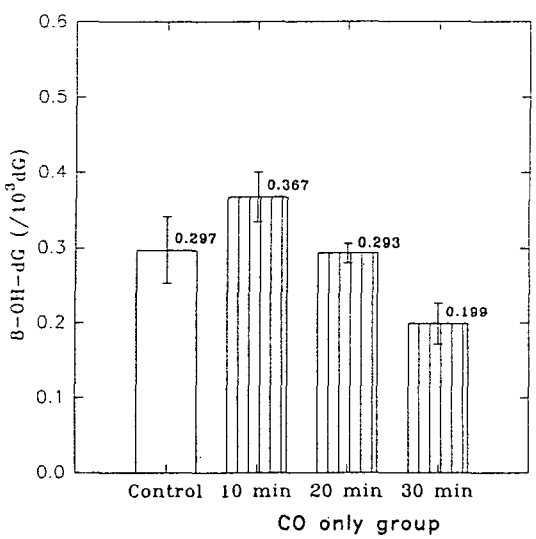

Fig. 7. Lung 8-OH-dG concentrations of the control group and the CO only groups. CO only groups were exposed to 4000 ppm carbon monoxide for 10, 20, or 30 minutes.

대조군과의 비교에서도 유의한 차이를 보이는 경우는 없었다 (Table 9).

CO에 폭로시킨 후 즉시 희생시켜서 장기를 적출한 실험군과 CO 폭로후 30분간 대기중에 방치한 다음 장기를 적출한 실험군의 폐조직중 8-OH-dG 농도비교에서는 CO 폭로후 즉시 희생시킨 실험군이 유의하게 낮았다. 그러나 CO 폭로후 3 ATA-100% 혹은 1 ATA-100%의 산소로 30분간 치료한 군은 폭로후 즉시 희생시킨 실험군과 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table 10).

일산화탄소폭로-고압산소치료군과 단순 고압산소처치군의 폐조직중 8-OH-dG를, 적용한 HBO의 압력과 시간을 짝지어서 비교하였는데, 통계적으로 유의한 차이를 보이는 경우는 없었다 (Fig 8).

일산화탄소폭로군의 폐조직중 8-OH-dG 농도는 CO 폭로시간이 길어질수록 감소하다가 CO

Table 9. Lung 8-OH-dG concentrations of the CO-air exposure group and the CO-HBO group (unit: /10³ dG)

Co exposure duration (min)	HBO treatment		No. of rats	8-OH-dG conc.		p-value@
	Pr.@@	Duration		Mean	S.D.	
0@@@			8	0.297	0.125	– –
30	air	30 min	7	0.356	0.090	0.385
30	1	30 min	3	0.334	0.047	0.760
30	3	30 min	9	0.299	0.122	0.810

p-value: 0.520 by Kruskal-Wallis test among 3 groups
@ : p-value when compared to the control group by Wilcoxon rank sum test
@@ : partial pressure of oxygen in ATA
@@@ : the control group

Table 10. Lung 8-OH-dG concentrations of the CO only group, the Co-air group and the CO-HBO group (unit: /10³ dG)

Exposure condition	N	Mean	S.D.	p-value@
CO only (30 min)	9	0.199	0.083	– –
CO (30 min) – air exposure (30 min)	7	0.356	0.090	0.006
CO (30 min) – 100 % O_2 (30 min)	3	0.334	0.047	0.065
CO (30 min) – 3 ATA HBO (30 min)	9	0.299	0.122	0.093

@ : p-value when compared to the CO only (30 min) group by Wilcoxon rank sum test

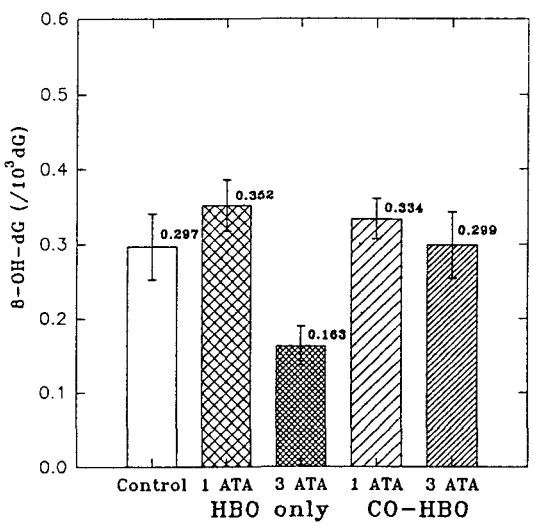

Fig. 8. Lung 8-OH-dG concentrations of the control group, the HBO only groups, and the CO-HBO groups. The HBO only groups were treated with 1 or 3 ATA-100 % oxygen for 30 minutes, without exposure to carbon monoxide gas, and the CO-HBO groups were treated with 1 or 3 ATA-100 % oxygen after 30 minute exposures to 4000 ppm carbon monoxide gas.

폭로를 멈추고 대기나 산소를 투여하면서 증가하는 경향을 보였다 (Fig. 9).

CO에 폭로시키지 않고 고압산소 처치만 받은 실험군의 폐조직중 8-OH-dG의 농도는 Table 11과 같다.

단순 고압산소처치군중에서 적용한 산소분압이 같은 경우 처치시간이 증가하는데 따라서 폐조직중 8-OH-dG 농도가 직선적으로 증가하는지 여부와 처치시간이 같은 경우 HBO에 사용된 산소 분압이 증가함에 따라서 그 농도가 직선적으로 상승하는지 여부를 회귀분석으로 검정하였다. 그 결과 3 ATA의 동일 산소분압으로 처치한 경우에는 고압산소 처치시간이 증가함에 따라서 폐조직중 8-OH-dG의 농도가 유의하게 증가하였다 (Table 12, Fig. 10). 그러나 같은 시간동안 HBO로 처치한 경우에는 적용된 산소분압이 증가함에 따라 폐조직중 8-OH-dG의 농도가 유의하게 증

Table 11. Lung 8-OH-dG concentrations of the HBO only group (unit: /10^3 dG)

Duration of HBO treatment (min)	O_2 partial pressure							
	0.2 ATA@		1 ATA		3 ATA		5 ATA	
	N	Mean ± S.D.	N	Mean ± S.D.	N	Mean ± S.D.	N	Mean ± S.D.
0	8	0.30 ± 0.12@@	–	– –	–	– –	–	– –
10	–	– –	–	– –	–	– –	4	0.24 ± 0.13
20	–	– –	–	– –	–	– –	4	0.30 ± 0.22
30	–	– –	7	0.35 ± 0.09	4	0.16 ± 0.05	7	0.41 ± 0.14
45	–	– –	–	– –	–	– –	4	0.21 ± 0.06
60	–	– –	6	0.37 ± 0.06	4	0.38 ± 0.03	7	0.39 ± 0.05
65	–	– –	–	– –	–	– –	9	0.27 ± 0.14
90	–	– –	6	0.39 ± 0.04	6	0.36 ± 0.05	7	0.38 ± 0.06
120	–	– –	8	0.37 ± 0.06	6	0.39 ± 0.04	7	0.41 ± 0.06

@ : air exposure
@@ : the control group

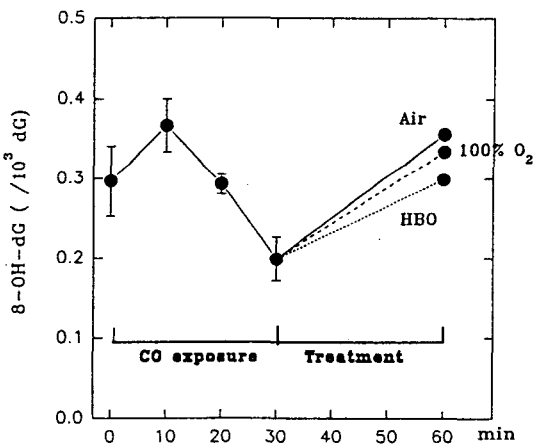

Fig. 9. Changing pattern of the lung 8-OH-dG concentrations by the treatment method after exposure to carbon monoxide gas. These groups were treated with 3 ATA-100% oxygen for 30 minutes (HBO), with 1 ATA-100% oxygen for 30 minutes (100% O_2), or with ambient air for 30 minutes (Air) after 30 minute exposures to 4000 ppm carbon monoxide gas.

가하는 경우는 없었다(Table 13, Fig. 11).

HBO시의 산소분압과 치료시간을 독립변수로 하고 폐조직중 8-OH-dG 농도를 종속변수로 하는 중회귀분석에서도 산소분압은 유의하지 않았으나 치료시간은 유의한 변수로 나타났다(Table 14).

5 ATA-65 분간의 HBO만을 시행한 후 즉시 희생시켜서 장기를 적출한 실험군과 고압산소 처치 후 30분간 대기중에 방치한 다음 장기를 적출한 실험군의 폐조직중 8-OH-dG의 농도는 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 15).

고 찰

사립체에서 사용되는 산소의 96~99%는 시토크롬 산화효소(cytochrome oxidase)에 의하여 소비되며 나머지가 부분 환원이 이루어지면서 산소 유리기를 생성한다고 알려져 있다. CO는 시토크롬 산화효소를 억제하는 작용이 있으므로 CO 중독시에는 산소 유리기의 생성속도가 증가할 것으로 예상되지만 CO가, 혈색소와 결합하므로써 산소와 혈색소간의 결합을 막고 조직에서 oxyhemoglobin의 산소 해리를 억제하는 작용을 하므로, 조직의 산소분압은 감소하게 될 것이다. 따라서 CO에 중독된 개체의 조직에서 생성되는 산소 유리기의 양이 증가하는지 아니면 감소하는지는 예측하기 어려웠다. 본 연구에서 CO 폭로후 즉시

Table 12. Regression analysis between lung 8-OH 1G concentration and HBO duration in the HBO only group of same oxygen partial pressure

Oxygen partial pressure	intercept	β	s.e.(β)@	R^2	F	p-value
1 ATA	0.3180	0.0006	0.0003	0.0908	3.295	0.0786
3 ATA	0.2630	0.0010	0.0004	0.2101	6.917	0.0142
5 ATA	0.2863	0.0009	0.0004	0.0677	3.993	0.0507

Model: 8-OH-dG concentration = intercept + β · (HBO duration in minutes)
@ : standard error of β

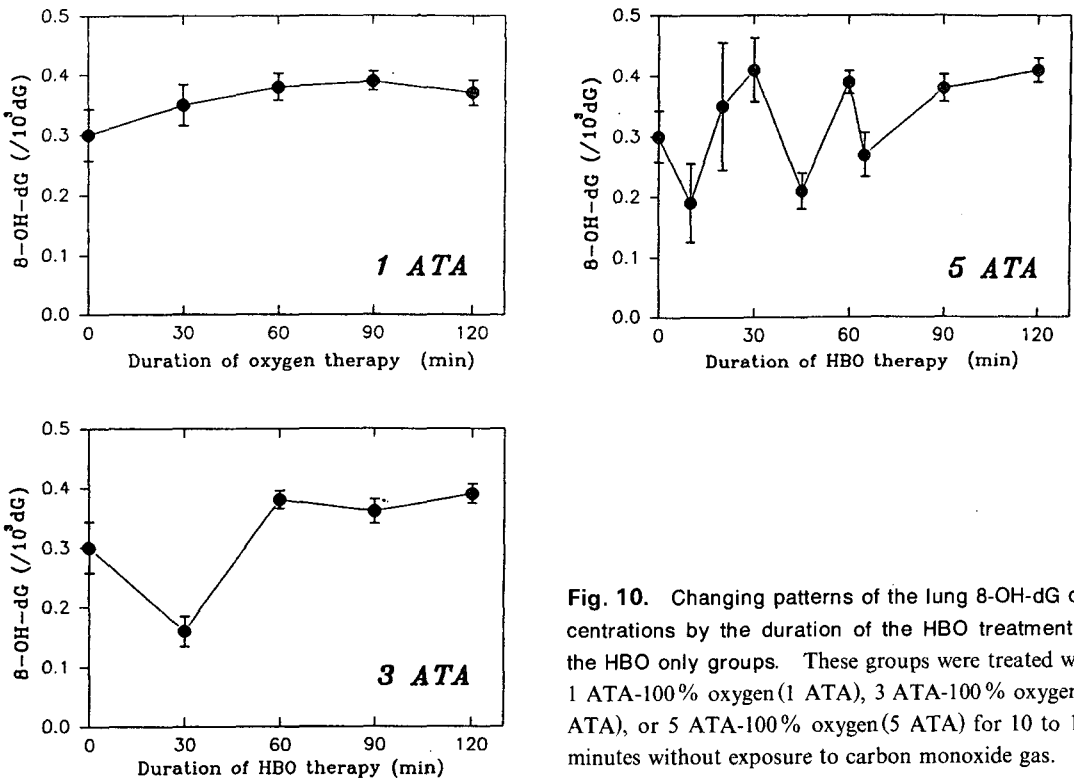

Fig. 10. Changing patterns of the lung 8-OH-dG concentrations by the duration of the HBO treatment in the HBO only groups. These groups were treated with 1 ATA-100% oxygen(1 ATA), 3 ATA-100% oxygen(3 ATA), or 5 ATA-100% oxygen(5 ATA) for 10 to 120 minutes without exposure to carbon monoxide gas.

희생시켜 장기를 적출한 군의 8-OH-dG 농도는, 뇌조직과 폐조직에서 모두 대조군과 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 뇌조직의 8-OH-dG 농도는 CO 폭로시간이 증가함에 따라서 일정한 변화양상을 보이지 않았으나, 폐조직의 8-OH-dG 농도는 유의하게 감소하는 경향을 나타냈다 (Fig. 2와 7). 이 결과는 CO 폭로에 의한 저산소증만으로는 산소 유리기의 발생량이 증가하지 않는다는 가설에 부합된다.

CO 중독후 공기중에 방치하거나 100% 산소로 치료한 실험군들의 뇌조직과 폐조직중 8-OH-dG 농도도 모두 대조군의 농도와 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 2와 9). 일반적으로 CO 중독환자에 사용하는 3 ATA-100% 산소를

Table 13. Regression analysis between lung 8-OH-dG concentration and oxygen partial pressure in the HBO only group of same duration of HBO

Duration of HBO(min)	intercept	β	s.e.(β)@	R^2	F	p-value
30	0.2893	−0.0144	0.0187	0.0355	0.588	0.4542
60	0.3617	0.0055	0.0070	0.0393	0.613	0.4457
90	0.3844	−0.0023	0.0071	0.0062	0.107	0.7480
120	0.3557	0.0100	0.0070	0.0966	2.031	0.1703

Model: 8-OH-dG concentration = intercept + β · (oxygen partial pressure)
@ : standard error of β

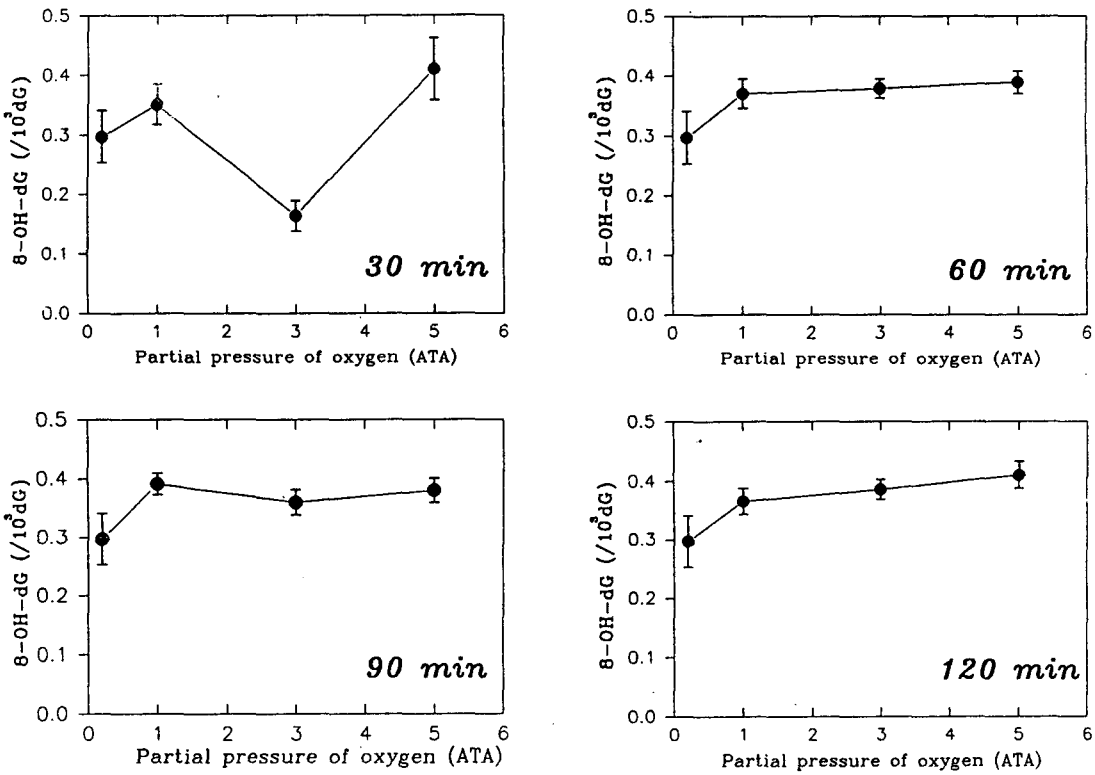

Fig. 11. Changing patterns of the lung 8-OH-dG concentrations by the partial pressure of oxygen in the HBO only groups. These groups were treated for 30, 60, 90, or 120 minutes without exposure to carbon monoxide gas.

30분간 흡입시킨 실험군에서도 같은 소견이었다. 또, CO 폭로후 투여하는 산소의 분압이 증가하는 경우에도 조직내 8-OH-dG 농도는 증가하는 양상을 보이지 않았다(Fig. 4). 이는 CO에 의하여 저산소증이 유발된 조직에 산소공급이 재개되면, 마치 허혈-재관류 현상에서 볼 수 있듯이, 조직의 산소 유리기 발생량이 증가하고 그에 따라 8-OH-dG 농도가 증가할 것이라는 예측과는 어긋나는

Table 14. Multiple regression analysis of lung 8-OH-dG concentration by oxygen partial pressure and duration of HBO in the HBO only group

Variables	d.f.@	β	s.e.(β)@@	T	p-value
Intercept	1	0.2951	0.0261	11.312	0.0001
Oxygen partial pressure(ATA)	1	−0.0046	0.0055	−0.847	0.3997
Duration of HBO (min)	1	0.0009	0.0003	3.321	0.0012

Model: 8-OH-dG = intercept + β_1 · (oxygen partial pressure in ATA) + β_2 · (duration of HBO in minutes)
R^2 = 0.0998, F = 5.599 (degree of freedom: 2, 101; p-value = 0.0049)
@ : degree of freedom
@@ : standard error of β

Table 15. Lung 8-OH-dG concentrations of the HBO(5 ATA-65min) only group and the HBO(5 ATA-65min)-air exposure(30min) group (unit: /10^3 dG)

Exposure condition	N	Mean	S.D.
HBO(5 ATA-65min) only	9	0.268	0.135
Air exposure(30min) after HBO(5 ATA-65min)	4	0.298	0.170

p-value = 0.817 by Wilcoxon rank-sum test

소견이다. 그러나 30분간 CO 폭로후 30분간 대기나 100% 산소를 흡입시킨 실험군들의 폐조직중 8-OH-dG 농도는 아무런 처치를 하지 않은 대조군이나 CO에 30분간 폭로시킨 후 즉시 희생시킨 실험군의 농도보다 높은 경향을 나타냈으며(Fig. 9), 이중 CO 폭로후 30분간 대기에 방치한 실험군과 CO에 30분간 폭로시킨 후 즉시 희생시킨 실험군과는 통계적으로 유의한 차이를 나타냈다(Table 10). 이러한 사실로 미루어, 연구에 사용한 실험동물의 수를 늘린다면, CO 폭로후 HBO로 치료한 실험군의 폐조직중 8-OH-dG 농도는 대조군이나 일산화탄소 폭로군의 농도와 유의한 차이를 보일 수 있을 것으로 생각된다. 이는 조직에 산소공급이 중단된 수 분내에 거의 모든 xanthine 탈수소효소가 xanthine 산화효소 형태로 변환하게 되고(Parks 등, 1986) 산소공급이 재개되면서 xanthine 산화효소나 여타의 다른 경로를 통해서 산소 유리기가 생성되며(McCord 등, 1978; Singal 등, 1982; Turrens 등, 1982; Samuelsson, 1983), 이 산소 유리기가 핵내의 핵산을 공격하여 8-OH-dG를 생성한다는 기존의 가설과 일치하는 소견이다. 따라서, CO-HBO도 허혈-재관류 현상처럼 산소 유리기의 생성을 유발할 것으로 생각된다. 그러나 본 실험 결과중 뇌조직의 8-OH-dG 농도는 이와는 반대 현상을 나타내고 있다. 즉 CO 폭로후 대기나 산소로 치료한 실험군의 뇌조직중 8-OH-dG 농도가 대조군이나 일산화탄소폭로군에 비하여 낮은 현상을 보이며(Fig. 4), 특히 일산화탄소폭로후 대기호흡군과 일산화탄소폭로군은 통계적으로도 유의한 차이를 나타내고 있다(Table 3). 이러한 현상은 CO 중독후의 HBO에 의하여 유발되는 저산소증-재산소화가 허혈-재관류에 의한 저산소증-재산소화와 그 양상이 조금 다르기 때문으로 생각된다. 즉 특징적인 허혈-재

관류 현상에서는 막혔던 혈류가 일시에 순환되면서 산소공급이 부족하였던 조직으로 짧은 시간내에 산소공급이 재개되지만 CO 중독의 경우는 이와 달리 carboxyhemoglobin이 혈색소와 CO로 서서히 해리되고, 이 해리된 혈색소에 의해서 산소공급이 재개될 것이기 때문이다. CO에 중독된 후 CO에 대한 폭로를 중단하고 대기중에 방치한 경우 혈중 carboxyhemoglobin의 생물학적 반감기는 약 5시간 20분 가량이며, 100% 산소를 흡입하는 경우에는 80분, 3 ATA-100% 산소를 흡입하는 경우에는 23분으로(Kindwall, 1977), 공급되는 산소의 분압이 증가할수록 그 생물학적 반감기는 감소하는 것으로 알려져 있다. 결국 CO에 폭로되었다가 대기나 산소를 흡입하는 경우에는 저산소증-재산소화 현상이 나타나며, 흡입되는 공기의 산소 분압이 높을수록 허혈-재관류 현상에 의한 저산소증-재산소화에 가까와진다고 할 수 있다. 반면, CO에 중독되었던 동물이나 사람이 일반대기를 흡입한다면, 저산소증-재산소화 현상이 나타난다 하여도 이때의 재산소화는 비교적 서서히 진행되므로 추가로 발생되는 산소 유리기의 양은 많지 않을 것으로 생각되며 이러한 정도의 산소 유리기는 superoxide dismutase 등의 생체 방어기전에 의하여 완벽하게 제거될 가능성도 있기 때문이다. 그러나 이러한 설명만으로는 위와 같은 본 실험의 결과를 완벽하게 설명하기에는 미흡한 점이 있다.

CO 폭로후 HBO에 의하여 산소 유리기의 생성이 증가함에도 불구하고 본 연구와 같은 결과가 나타날 수 있는 경우는 다음의 두 가지를 생각할 수 있다. 첫째, CO 폭로후 대기중에 방치한 군에서 뇌조직중 8-OH-dG 복구효소(復舊酵素, repair enzyme)의 활성도가 현저히 증가하여 8-OH-dG의 복구속도가 8-OH-dG의 생성속도를 앞지르는 경우이다. CO 폭로후 대기를 흡입하면서 발생된 산소 유리기에 의하여 생성된 8-OH-dG가 복구효소의 작용에 의하여 감소될 수 있는 시간은, 본 연구의 경우에는 최장 30분 정도인데, 8-OH-dG의 생물학적 반감기는 약 90분으로 알려져 있으므로(Kasai 등, 1986), 이러한 가능성은 매우 낮아 보인다. 두번째는 뇌조직의 산소 유리기 생성속도가 느리거나, 산소 유리기 제거제(scavenger)의 활성도가 CO 폭로후 대기중에 방치한 군에서 현저히 증가되어, 산소 유리기가 핵산을 공격하여 8-OH-dG를 생성하기 이전의 단계에서 차단하는 경우이다. 중추신경계는 재관류손상에서 중추적인 역할을 하는 것으로 알려진 xanthine 산화효소가 거의 존재하지 않으며 그 대신 혈뇌장벽(血腦障壁, blood-brain barrier)이 이러한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Betz, 1985). 더구나 대뇌 저산소증에 의해서 미세혈관의 phospholipase A와 lipoxygenase의 활성도가 증가하게 되는데(Yoshida 등, 1980, Koide 등, 1986) 이중 lipoxygenase는 대뇌에 purine이 축적되는 것을 방지하는 효과가 있다(Koide 등, 1986). 그러므로 동일한 정도의 산화적 긴장(oxidative stress)이 가해지는 경우라도, 대뇌에서의 산소 유리기 생성량은 다른 조직에 비하여 상대적으로 적을 것으로 생각된다. 또 생성된 산소 유리기에 대한 방어기전의 하나인 glutathione 농도가 대뇌에서는 말초신경의 10배 이상이며 대뇌의 glutathione-관련 효소 활성도도 말초신경보다 높아서(Romero 등, 1991) 산소 유리기에 의한 손상에 대하여 대뇌가 상대적으로 강한 것으로 알려져 있다. 결국 저산소증-재산소화에 의한 중추신경계 손상은 다른 기관에서와는 달리 국소적인 경향이 있고 그러한 소견은 본 연구의 결과와 어느 정도 일치한다고 보여진다. CO에 폭로한 후 3 ATA로 30분간 HBO를 시행한 경우의 폐조직중 8-OH-dG 농도는, 비록 통계적으로 유의하지는 않지만, CO 폭로없이 3 ATA로 30분간 HBO를 시행한 군에 비하여 증가하는 경향이 있었으나(Fig. 8) 뇌조직중 8-OH-dG의 농도는 오히려 감소하는 경향을 보이고 있는데(Fig. 3) 이 사실도 저산소증-재산소화에 따른 산소 유리기에 의한 조직손상에 대해서 중추신경계가 다른 조직에 비하여 상대적으로

강하다는 가설에 부합한다.

한편, 단순 고압산소처치군에서 처치시간이 길어질수록 뇌조직의 8-OH-dG 농도가 증가하는 경향을 보이지 않았으며(Table 5, Fig. 5), 처치에 사용한 산소분압이 증가하는 것에 따라서 증가하는 경향도 없었다(Table 6, Fig. 6). 특히 산소분압이 증가하는 경우에는, 비록 통계적인 유의성은 없지만, 8-OH-dG 농도가 오히려 감소하는 추세를 보였다. 이러한 결과는 산소분압이 증가하면 산소 유리기의 생성이 증가한다는 기존의 가설(Jackson, 1990)에 부합되지 않는 것이다. 이는 전술한 바와 같이 중추신경계에 xanthine 산화효소가 존재하지 않으며, glutathione의 농도가 높아서 산소 유리기에 대한 저항성이 강하다는 점 때문으로 생각된다. 또 대뇌조직에는 dimeric flavoprotein의 일종인 DT diaphorase가 전자 두개를 한꺼번에 전달하여 quinone을 환원시키므로, 전자를 하나씩 전달할 때 생기는 산소 유리기의 생성을 막는 효과가 있다는 것(Schultzberg 등, 1988)도 이유중 하나이다.

폐조직의 8-OH-dG 농도는 단순 고압산소처치군에서 고압산소 처치시간이 증가할수록 함께 증가하는 현상을 보이고 있으며 1 ATA-100 % 의 산소분압을 적용한 경우보다는 3 ATA, 5 ATA 등 비교적 높은 산소분압을 적용한 경우에 현저하였고, 특히 3 ATA의 산소분압을 적용한 경우는 통계적으로도 유의하였다(Table 12, Fig. 10). 고압산소에 의한 폐독성에 대해서는 이미 오래전부터 알려져 있고 산소분압이 증가할수록 산소 유리기 생성속도가 비례하여 증가한다고 보고되었으며(Jones, 1985) 본 연구의 결과도 이와 일치한다. 그러나 치료시간을 고정하고 산소분압만 증가시킨 경우에는 이러한 현상은 나타나지 않았으며(Table 13, Fig. 11) 고압산소 치료시간과 산소분압을 독립변수로 포함한 중회귀분석에서도 이와 동일한 결과를 얻었다(Table 14). 기존의 폐조직에 대한 산소독성에 대한 연구에서 인체에 0.9 ATA 분압의 산소를 3시간동안 흡입시키면, 비록 폐활량에는 차이가 없지만 기관지 점액의 이동속도가 감소되며(Sackner 등, 1975), 토끼에게 0.9 ATA의 분압으로 2시간동안 산소를 투여한 결과 기관의 섬모밀도가 유의하게 감소하였다(Konradova 등, 1988)는 점을 상기한다면 1 ATA의 산소를 30분간 투여한 경우에 8-OH-dG의 농도가 유의하게 증가하지 않은 것으로 나타난 본 연구의 결과는 산소중독에 대한 기존의 연구결과와 거리가 있는 것처럼 보인다. 그러나 본 연구에서 비교적 높은 산소분압을 적용한 경우에는 폭로시간에 따라서 폐조직의 8-OH-dG 농도가 유의하게 증가하는 양상을 보였고, 산소분압의 영향을 고려한 상태에서도 고압산소 치료시간이 폐조직중 8-OH-dG 농도에 미치는 영향이 통계적 유의성을 보이고 있으므로, 1 ATA-100 % 의 산소를 흡입시키는 경우라도 좀 더 긴 시간동안 HBO를 시행한다면 폭로시간이 증가할수록 8-OH-dG의 농도가 증가할 것으로 생각된다. 또 실험동물 종간의 산소독성에 대한 감수성의 차이(Bostek, 1989)도 고려되어야 한다. 이러한 예로서 쥐의 경우에는 100 % 산소를 40시간동안 흡입시킨 뒤에도 아무런 형태학적 변화를 발견할 수 없었지만 60시간동안 흡입시킨 경우에는 모세혈관의 내피세포와 폐포의 상피세포에 손상이 유발되었다고 보고된 바 있다(Crapo 등, 1980). 1 ATA-100 % 산소에 오랜 시간동안 폭로된 경우에 Type II 폐포세포(pneumocyte)의 수적 증가, Type I 폐포세포의 형태학적인 변화와 더불어 호중구 등 염증세포의 침투가 증가하는데, 이 염증세포는 산소 유리기를 생성하여 급성 폐손상(Till 등, 1985)과 adult respiratory distress syndrome(이하 ARDS라 표시)을 유발한다(Bryan 등, 1988). 한편 고압산소를 흡입하는 경우 폐혈관은 확장되지만 다른 기관의 혈관은 수축되는 경향을 보이며(Bryan 등, 1988), 고압산소 흡입시 폐의 microsome은 평상시의 3~5배 정도의 산소 유리기를 만들어내므로(Turrens 등, 1982) 산소독성이 산소 유리기에 의한 것이라면 다른 기관보다 폐에서 현저하게 나

타나는 경향이 있고 폐에 비하여 뇌조직은 상대적으로 적은 산소독성을 나타내는 것으로 보인다.

특징적인 산소중독 현상은 신경계와 폐조직에서 흔히 나타난다. 신경계에서 나타나는 증상의 대표적인 유형은 눈, 입, 이마 주위를 쫑긋거리다가 갑자기 간질의 대발작(grand mal seizure)과 구별하기 어려운 전신발작으로 이어지는 것이다. 이에 비하여 폐에서 나타나는 증상은 비교적 장기간에 걸쳐서 서서히 나타나는 것으로 알려져 있다. 특히 폐부종(pulmonary edema)이나 폐섬유화(pulmonary fibrosis)는 1.0 ATA의 산소를 흡입하는 경우 24시간내에 시작하기는 하지만 폐조직에 대한 산소독성의 말기에 나타나는 것이다(Bostek, 1989). 본 연구의 결과를 보면, 폐조직에서는 단순 고압산소처치군이 대조군에 비하여 조직중 8-OH-dG의 농도 증가가 현저하였으나 뇌조직에서는 이러한 현상을 찾아보기 어려웠다.

산소중독 증상이 만약 산소 유리기에 의하여 유발되며(Haugaard, 1968), 8-OH-dG 농도가 산소 유리기 생성에 대한 간접적인 지표라고 가정한다면 일반적인 산소중독 증상과 본 실험의 8-OH-dG 또는 산소 유리기 생성정도가 일치하지 않는 이유는 무엇인가? 산소 유리기에 의한 세포의 손상은 다음의 두 가지로 나누어진다. 첫째, 산소 유리기에 의한 직접작용이다. 이는 산소 유리기에 의해서 세포막의 지질 과산화가 일어나고 인접한 인지질(phospholipid)로부터 수소원자를 탈취하면서 주위로 퍼져나간다(Ernster, 1988). 세포막의 지질 과산화는 결국 심한 세포손상을 야기하고 세포내 기관을 파괴시킨다. 산소 유리기의 직접작용중 다른 하나가 핵산을 공격하여 8-OH-dG를 형성하는 것이며 또 다른 하나는 효소의 비활성화이다. 두번째는 세포에 대한 간접작용으로서 칼슘의존성 단백질분해효소(Ca^{++}-dependent protease)를 활성화시켜 세포내 Ca^{++} 이온의 농도를 상승시키는 것이다. 세포질내의 Ca^{++} 이온 농도가 상승하면 phospholipase A2가 활성화되며 이 효소에 의하여 세포골격(cytoskeleton)이 파괴되고 세포표면의 수포화(blebbing)가 일어난다. 만약 산소중독이 산소 유리기의 간접작용에 의해 주로 나타나는 것이라면, 산소중독의 정도는 산소 유리기의 직접작용에 의해서 생성되는 8-OH-dG 농도와 서로 비례하지 않을 수 있다. 즉 신경계에서는 산소 유리기의 간접작용에 의한 조직손상이 먼저 일어나고 산소 유리기의 직접작용에 의한 8-OH-dG의 생성은 늦어지는 반면에, 폐조직에서는 8-OH-dG의 생성은 먼저 일어나지만 간접작용에 의한 조직손상이 늦게 발생하는 경우를 생각할 수 있다. 뇌조직이나 폐조직은 세포막이나 핵막의 구성성분에 차이가 있어서 산소 유리기에 의한 조직손상 정도에 차이를 나타낼 수 있으므로, 조직손상이 조직의 종류에 따라 선택적으로 나타날 수 있다는 가능성을 완전히 배제할 수는 없다. 그러나 본 연구의 결과를 종합하면 산소독성이 전적으로 산소 유리기에 의한 것만은 아니라는 설명이 그러한 가설보다 더 타당한 것으로 보여진다. 폐조직에서는 호중구가 산소 유리기를 생성하는 것으로 알려져 있으며, 산소 유리기 제거제를 투여하면 ARDS에 대한 예방효과가 있는 것으로 보고되었다(Perez 등, 1980). 그러나 산소중독 효과중 더 많은 부분이 산소 유리기에 의해서 설명될 수 있는 폐조직에서도 산소 유리기 제거제 투여나 호중구 고갈만으로 ARDS가 완벽하게 예방되지 않는다는 사실(Bryan 등, 1988)은, 산소중독이 전적으로 산소 유리기에 의한 것만은 아니라는 사실을 입증하는 또 다른 증거이다.

CO 폭로후 HBO를 시행한 군과 CO에 폭로하지 않고 HBO만 시행한 군의 뇌조직중 8-OH-dG 농도는 유의한 차이를 보이지 않았는데(Fig. 3), CO 폭로후 HBO를 시행하는 것이 전형적인 저산소증-재산소화 모델에 해당되지 않거나, 해당된다고 하여도 생성되는 산소 유리기의 농도가 비교적 낮아서 조직의 방어기전에 의해서 산소 유리기나 8-OH-dG가 충분히 제거될 수 있는 것

으로 보인다. 쥐에게 45분간 CO를 폭로시킨 후 1, 2, 3 ATA의 산소를 투여한 Thom(1990)의 연구에서, 1 ATA의 산소는 대뇌의 지질 과산화를 억제하지 못하였으나 3 ATA의 경우는 현저히 억제하였으며 2 ATA의 경우는 그 중간쯤에 해당되었다. 따라서 HBO의 효과는 단지 carboxyhemoglobin 농도를 저하시키는 것만이 아니라 대뇌의 세포수준에 또 다른 영향을 미치는 것으로 보인다. 이러한 결과는 HBO가, 조직에 축적되는 hypoxanthine과 xanthine의 양을 감소시키며 xanthine 산화효소의 활성도를 저하시켜 산소 유리기의 발생량을 줄이는 효과가 있다는 Tai 등(1993)의 연구결과와도 일치하는 것이다.

폐조직의 경우에도 CO 폭로후 1 ATA나 3 ATA로 30분간 HBO를 시행한 군의 8-OH-dG 농도와 CO 폭로 없이 동일조건으로 HBO를 시행한 군의 농도는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 8). 이중 CO 폭로 없이 3 ATA의 산소로 HBO를 시행한 군의 8-OH-dG 농도는 대조군이나 1 ATA-100% 산소로 처치한 실험군에 비하여 상대적으로 낮은 값을 나타냈다. 본 연구의 결과중 뇌조직에서는 이러한 경향이 나타나지 않았으며, 3 ATA의 산소분압을 적용한 단순 고압산소처치군에서 고압산소 폭로시간이 증가할수록 폐조직중 8-OH-dG 농도가 증가하였고, 폐조직에서 HBO에 의한 산소독성이 산소분압에 비례한다는 사실(Jones, 1985)을 감안한다면 이 결과는 쉽게 설명이 되지 않는 것이다. 본 연구중 이 실험군에 배정된 대상동물의 숫자가 너무 적었기 때문에 이러한 결과가 나타난 것으로 생각된다.

5 ATA로 65분간 HBO를 시행한 후 즉시 희생한 군과 그후 30분간 대기에 더 폭로시킨 군의 뇌조직(Table 8)과 폐조직(Table 15)의 8-OH-dG 농도는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 비록 통계적 유의성은 없었지만 5 ATA-65분의 HBO 직후에는 뇌조직중 8-OH-dG 농도가 감소하였다가 30분간 대기에 추가로 폭로되면서 대조군의 농도와 비슷한 수준까지 상승하는 경향을 보였고 이러한 양상은 폐조직에서도 비슷하였다. 이들 각군의 8-OH-dG 농도를 대조군과 비교하였을 때는 모두 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다(p-value $>$ 0.05 by Wilcoxon rank-sum test). 그러나 5 ATA로 65분간 HBO를 시행한 때에는 혈장중에 녹아 있는 산소의 농도가 대조군에 비하여 현저히 증가한 상태이므로 산소 유리기의 생성이 증가될 것으로 추측된다. 특히 산소독성의 정도가 적용된 산소분압에 비례하는 폐조직에서는 이러한 현상이 더욱 현저할 것이다. 그렇다면 5 ATA로 HBO를 받은 대조군에 비하여 8-OH-dG 농도가 줄어드는 경향을 보이는 이유는 무엇인가? 이에 대한 가능한 해석중 하나는, 5 ATA의 매우 높은 압력의 산소에 65분동안이나 폭로됨으로써, xanthine 산화효소등 산소 유리기의 생성에 관련된 효소의 변성이 유발되어(윤덕로, 1981; Tai 등, 1993) 산소 유리기의 생성이 감소하다가, 공기중에 폭로되면서 그 기능을 차츰 회복하기 때문이 아닌가 생각된다. 그러나 이러한 가설을 입증할 충분한 증거는 아직 없으며, 앞으로 이 부분에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결국 폐조직에서는 높은 분압의 산소를 흡입하는 경우에 폭로시간에 따라서 조직내의 8-OH-dG 농도가 증가하는 양상을 보였으나 뇌조직에서는 이러한 양상을 보이지 않았다. 그러나 HBO의 산소분압이 증가함에 따라서 8-OH-dG 농도가 유의하게 증가하지는 않았으므로 CO 중독환자에 대한 HBO는 압력을 높이더라도 폭로시간을 줄이는 방향으로 개선할 여지가 있으나, 조직의 8-OH-dG 농도뿐 아니라 다른 모든 생리적 변화를 충분히 고려한 다음에 이러한 개선이 이루어져야 할 것이다. 8-OH-dG 농도변화가 산소중독의 증상 발현이나 병리학적 변화양상과 일치하지 않는 부분이 있으며 이러한 현상은 폐조직보다 뇌조직에서 뚜렷한 양상을 보였다. 따라서 고분압의 산소에 의한 산소중독은 산소 유리기에 의한 것만

은 아닐 것으로 생각된다.

결 론

일산화탄소폭로군, 일산화탄소폭로후 대기호흡군, 그리고 일산화탄소폭로-고압산소치료군의 뇌조직과 폐조직중 8-OH-dG 농도는 대조군의 농도와 유의한 차이를 보이지 않았다. 4000 ppm CO에 대한 폭로시간이 증가함에 따라 일산화탄소폭로군의 뇌조직중 8-OH-dG 농도는 일정한 변화경향을 보이지 않았으나 폐조직의 8-OH-dG 농도는 유의하게 감소하였다. 30분간 CO에 폭로된 실험군의 뇌조직중 8-OH-dG 농도는 일산화탄소폭로후 대기호흡군이나 일산화탄소폭로-고압산소치료군에 비하여 높은 경향을 나타냈으며, 특히 일산화탄소폭로후 대기호흡군과는 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 그러나 폐조직의 경우는 CO에만 폭로된 실험군에 비하여 일산화탄소폭로후 대기호흡군이나 일산화탄소폭로-고압산소치료군의 8-OH-dG 농도가 높은 경향을 나타냈으며, 특히 일산화탄소폭로후 대기호흡군은 통계적으로도 유의한 차이를 보였다.

적용한 HBO의 압력과 시간을 짝지어서 비교한, 일산화탄소폭로-고압산소치료군과 단순 고압산소처치군의 뇌조직과 폐조직의 8-OH-dG 농도는 모두 유의한 차이가 없었다. 단순 고압산소처치군에서, 고압산소 처치시간이나 산소분압이 증가함에 따라 뇌조직중 8-OH-dG 농도는 증가하는 경향을 보이지 않았으나, 폐조직중 8-OH-dG 농도는, 산소분압을 고정하였을 때, 고압산소 처치시간이 증가함에 따라 유의하게 증가하였다.

이러한 결과는 폐조직에서는, 조직에 산소공급이 중단되었다가 재개되면서 xanthine 산화효소가 산소 유리기를 형성하고 이 산소 유리기가 핵내의 핵산을 공격하여 8-OH-dG를 생성한다는 기존의 가설에 일치하는 소견이지만, 뇌조직에서는 이 가설과 어긋나는 것이다. 이는, 뇌조직에 xanthine 산화효소가 거의 존재하지 않으며, phospholipase A와 lipoxygenase가 대뇌에 purine이 축적되는 것을 방지하고, 대뇌 조직의 glutathione 농도와 glutathione-관련효소 활성도가 높으며, DT diaphorase가 산소 유리기의 생성을 막는 효과가 있기 때문에, 산소 유리기에 의한 손상에 대하여 대뇌가 상대적으로 강하기 때문으로 생각된다.

8-OH-dG 농도변화가 산소중독의 증상 발현이나 병리학적 변화양상과 일치하지 않는 부분이 있으며, 이러한 현상이 폐조직보다 뇌조직에서 뚜렷한 양상을 보이고 있으므로, 100% 산소 및 고분압의 산소흡입에 의한 산소중독은 산소 유리기에 의한 것만은 아닐 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

강희찬, 윤덕로. 급성일산화탄소중독의 신경정신학적 후유증에 관한 6개월간의 추적조사. 대한신경과학회지 *1985;3(2):175-186*

박병주, 조수헌, 안윤옥, 신영수, 윤덕로. 급성일산화탄소중독의 신경학적 후유증에 관한 역학적 연구. 예방의학회지 *1984;17:5-24*

박항배. 각종 중독과 고압산소요법. 대한의학협회지 *1989;32(2):134-138*

윤덕로. 고압산소요법. 신광출판사, 서울, *1981, pp. 80-93.*

윤덕로. 일산화탄소 중독의 현황과 대책. 대한의학협회지 *1985;28:1069-1076*

조수헌, 양대현, 안형식, 강대희, 윤덕로. 다인용 고압산소치료장치 운영실적 분석 -강남병원 고압산소 치료센타 2년간 치료환자 898례를 중심으로-. 대한의학협회지 *1989;32:649-656*

한봉전. 급성 일산화탄소 중독의 약물요법에 관한 실험적 연구. 부산의대잡지 *1971;11:197-204*

홍순철, 임철재, 이만희, 유환무, 신현찬. 일산화탄소중독 및 조직저산소증에 대한 고압산소요법. 대한내과학회잡지 *1967;10:63-66*

Ames BN. *Oxygen radicals and 8-hydroxyguanosine in DNA. Jap J Cancer Res 1991;82:1460-1461*

Battelli MG, Della Corte E, Stirpe F. *Xanthine oxidase type D(dehydrogenase) in the intestine and other organs of the rat. Biochem J 1972;126:747-749*

Betz AL. *Identification of hypoxanthine transport and xanthine oxidase activity in brain capillaries. J Neur-*

ochem 1985; 44: 574-579

Blakely WF, Fuciarelli A, Wegher BJ, Dizdaroglu M. *Hydrogen peroxide-induced base damage in deoxyribonucleic acid. Radiation Res 1990; 121: 338-343*

Bostek MCC. *Oxygen toxicity: An introduction. AANA J 1989; 57: 231-237*

Bryan CL, Jenkinson SG. *Oxygen toxicity. Clin Chest Med 1988; 9: 141-152*

Chung MH, Kasai H, Jones DS, Inoue H, Ishikawa H, Ohtsuka E, Nishimura S. *An endogenous activity of Escherichia coli that specifically removes 8-hydroxyguanine residues from DNA. Mut Res 1991; 254: 1-12*

Crapo JD, Barry BE, Foscue HA, Shelburne J. *Structural and biochemical changes in rat lungs occurring during exposures to lethal and adaptive doses of oxygen. Am Rev Respir Dis 1980; 122: 123-143*

Crapo JD, Freeman BA, Barry BE, Turrens JF, Young SL. *Mechanism of hyperoxic injury to the pulmonary microcirculation. Physiologist 1983; 26: 170-176*

Ernster L. *Biochemistry of reoxygenation injury. Crit Care Med 1988; 16: 947-953*

Floyd RA. *Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. FASEB J 1990; 4: 2587-2597*

Fraga CG, Shigenaga MK, Park J, Degan P, Ames BN. *Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87: 4533-4537*

Hearse DJ, Manning AS, Downey JM, Yellon DM. *Xanthine oxidase: A critical mediator of myocardial injury during ischemia and reperfusion? Acta Physiol Scand Supp 1986; 548: 65-68*

Haugaard N. *Cellular mechanisms of oxygen toxicity. Physiol Rev 1968; 48: 311-373*

Ikeda Y, Brelsford KL, Ikeda K, Bulkley GB, Long DM. *Effect of superoxide dismutase in cats with cold-induced edema. Adv Neurol 1990; 52: 203-210*

Ikeda Y, Long DM. *The molecular basis of brain injury and brain edema: the role of oxygen free radicals. Neurosurgery 1990; 27: 1-11*

Jackson RM. *Molecular, pharmacologic and clinical aspects of oxygen-induced lung injury. Clinics Chest Med 1990; 11: 73-86.*

Jones DP. *The role of oxygen concentration in oxidative stress: hypoxic and hyperoxic models, in Oxidative stress, Sies H,. ed., Academic Press, New York, 1985.*

Kasai H, Crain PF, Kuchino Y, Nishimura S, Ootsuyama A, Tanooka H. *Formation of 8-hydroxyguanine moiety in cellular DNA by agents producing oxygen radicals and evidence for its repair. Carcinogenesis 1986; 7: 1849-1851*

Kasai H, Nishimura S. *Hydroxylation of guanine in nucleosides and DNA at the C-8 position by heated glucose and oxygen radical-forming agents. Environ Health Perspect 1986; 67: 111-116*

Kasai H. *DNA damage by oxygen radicals and carcinogenesis. Gan To Kagaku Ryoho 1989; 16: 459-465*

Kasai H, Nishimura S. *Formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in DNA oxygen free radicals and its biological significance. in Oxidative stress-oxidants and antioxidants. Sies H, ed., Academic Press, London, 1991, pp. 99-116*

Kindwall EP. *Carbon monoxide poisoning and cyanide poisoning. in Hyperbaric oxygen therapy. Davis JC, Hunt TK, eds., Undersea Medical Society, Maryland, 1977, pp. 177-190*

Kiyosawa H, Suko M, Okudaira H, Murata K, Miyamoto T, Chung MH, Kasai H, Nishimura S. *Cigarette smoking induces formation of 8-hydroxydeoxyguanosine, one of the oxidative DNA damages in human peripheral leukocytes. Free Rad Res Comms 1990; 11: 23-27*

Koide T, Asano T, Matsushita H, Takakura K. *Enhancement of ATPase activity by a lipid peroxide of arachidonic acid in rat brain microvessels. J Neurochem 1986; 46: 235-242*

Konradova V, Janota J, Sulova J, Sukova B, Copova M. *Effects of 90% oxygen exposure on the ultrastructure of the tracheal epithelium in rabbits. Respiration 1988; 54: 24-32*

McCord JM, Day ED Jr. *Superoxide-dependent production of hydroxyl radicals catalyzed by the iron-EDTA complex. FEBS Lett 1978; 86: 139-142*

McCord JM, Fridovich I. *The biology and pathology of oxygen radicals. Ann Int Med 1978; 89: 122-127*

Marmur J. *A procedure for the isolation of DNA from microorganism. J Mol Biol 1961; 3: 208-218*

Olson KR, Becker CE, Myers MB. *Hyperbaric oxygen for carbon monoxide poisoning (Letter). J Am Med Assoc 1982; 248: 172-173*

Parks DA, Granger DN. *Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. Am J Physiol 1986; 250: G947-G953*

Park JW, Flyod RA. *Lipid peroxidation products mediate the formation of 8-hydroxyguanosine in DNA. Free Radic Biol Med 1992; 12: 245-250*

Perez HD, Weksler BB, Goldstein IA. *Generation of a chemotactic lipid from arachidonic acid by exposure to a superoxide-generating system. Inflammation 1980; 4: 313-328*

Romero FJ. Monsalve E, Hermenegildo C, Puertas FJ, Higueras V. Nies E, Segura-Aguilar J, Roma J. *Oxygen toxicity in the nervous tissue: comparison of the antioxidant defense of rat brain and sciatic nerve. Neurochem Res 1991; 16: 157-161*

Sackner MA. Landa J, Hirsch J, Zapata A. *Pulmonary effects of oxygen breathing. A 6-hour study in normal men. Ann Intern Med 1975; 82: 40-43*

Samuelsson B. *Leukotrienes: Mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. Science 1983; 220: 568-575*

Schultzberg M, Segura-Aguilar J, Lind C. *Distribution of DT diaphorase in the rat brain: biochemical and immunohistochemical studies. Neuroscience 1988; 27: 763-776*

Singal PK, Kappur N, Dhillon KS, Beamish RE, Dhalla NS. *Role of free radicals in catecholamine-induced cardiomyopathy. Can J Physiol Pharmacol 1982; 60: 1390-1397*

Stoklasova A. *Defence against the toxic action of oxygen. Sb Ved Pr Lek Fak Karlovy Univerzity Hradci Kralove 1989; 32: 157-168*

Tai Yj, Birely BC, Im Mj, Hoopes JE, Manson PN. *The use of hyperbaric oxygen for preservation of free flaps. Am Plast Surg (in press)*

Thom SR. *Antagonism of carbon monoxide-mediated brain lipid peroxidation by hyperbaric oxygen. Toxicol Appl Pharmacol 1990; 105: 340-344*

Till GO, Ward PA. *Oxygen radicals in complement and neutrophil-mediated acute lung injury. J Free Radic Biol Med 1985; 1: 163-168*

Torok B, Roth E, Tigyi A, Zsoldos T, Matkovics B, Szabo L. *Membrane pertubations in myocardium: oxygen radicals mediate injuries in experiments. Acta Chir Hung 1984; 25: 185-192*

Turrens JF, Freeman BA, Crapo JD. *Hyperoxia increases H_2O_2 release by lung mitochondria and microsomes. Arch Biochem Biophys 1982; 217: 411-419*

Yoshida S, Inoh S, Asano T, Sano K, Kubota M, Shimazaki H, Ueta N. *Effect of transient ischemia on free fatty acids and phospholipids in the gerbil brain. Lipid peroxidation as a possible cause of postischemic injury. J Neurosurg 1980; 53: 323-331*

Zweier JL. *Measurement of superoxide-derived free radicals in the reperfused heart: evidence for a free radical mechanism of reperfusion injury. J Biol Chem 1988; 263: 1353-1357*