

Selenium이 MPTP(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine)에 의해 유도된 생쥐의 신경독성에 미치는 영향

김석환¹ · 이주연 · 김여정 · 강혜옥 · 이항우² · 최종원*

경성대학교 약학대학, ¹동아대학교 식품영양학과, ²대구전통생물소재산업화센터

Received January 6, 2006 / Accepted March 20, 2006

Effect of Selenium Yeast on MPTP (1-methyl-4-phenyl-propion-oxypiperidine)-Induced Neurotoxicity in Mice. Seck-Hwan Kim¹, Joo-Yeon Lee, Yeo-Jeong Kim, Hye-Ok Kang, Hang-Woo Lee² and Jong-Won Choi*. *College of Pharmacy, Kyunsung University Busan 608-736, Korea.* ¹Department of Food and Nutrition, Dong-A University, Busan 604-714, Korea, ²Traditional Bio-materials Industry Center, Daegu 704-230, Korea – This study is investigated the effect of selenium against neurotoxicity induced by MPTP(1-methyl-4-phenyl-propion-oxypiperidine) in mice. In order to demonstrate neuroprotective activity of selenium, mice were administrated orally with selenium(25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, once/day) for 10 days, and MPTP(10 mg/kg) was injected subcutaneously into the mice for 6 days from the beginning 1hr before selenium treatment. Test of rota road activity was inhibited by treatment with selenium in MPTP-induced neurotoxicity group when compared to MPTP treatment group in normal mice. Monoamine oxidase(MAO)-B activity and cerebral lipid peroxide content were significantly decreased in the treatment of selenium in MPTP-induced neurotoxicity group when compared to MPTP treatment group in normal mice and MAO-A was not affected. Activities of cerebral superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase were significantly increased in the treatment of selenium in MPTP-induced neurotoxicity group when compared to MPTP treatment group in normal mice. These results suggest that selenium might be estimated the result from the cooperative action of its inhibitory effect on monoamine oxidase-B with that of the enhancement of antioxidant(SOD, catalase, GSH-Px) defence ability.

Key words – Selenium, MPTP, neurotoxicity, MAO-B, antioxidant

세계인구의 고령화는 의학기술이 발달함에 따라 선진국에서부터 이루어지고 있으며 최근 그 속도가 매우 빨라지고 있는 추세이다. 이에 따라 노인 복지와 질환에 대한 관심이 높아지고 있으며 대표적인 노인성 질환으로는 Alzheimer's disease와 Parkinson's disease가 있다. 그 중 현재 발병률이 점차 증가하고 있는 Parkinson's disease에 대한 관심 또한 높아지고 있다.

Parkinson's disease는 Alzheimer's disease와 함께 가장 흔한 퇴행성 뇌질환 중 하나로 중추 신경계의 basal ganglia의 손상에 의한 뇌질환의 일종으로 뇌조직 추체외로의 질환 중 가장 흔하게 나타나는 질환이다. 1817년 James Parkinson에 의해 paralysis agitans(전진마비), shaking palsy(떨리는 마비)라는 용어로 설명되었으며 mask-like face와 근육 경련, akinesia 등을 주 증상으로 한다[14,30,31]. 최근 25년 동안 Parkinson's disease의 병리 생리와 약물 요법의 진전을 통하여 발병률의 감소를 가져왔지만 그 발병원인은 아직도 불확실한 상태이며 흑질에 존재하는 dopamine 생성 신경세포가 파괴되어 선조체의 dopamine 함량이 현저히 감소되는 것이 특징이다[15,32,37]. 역학조사에 의하면 Parkinson's disease는 환경적 요인과 관련이 있는 것으로 알

려져 있으며 환경적 요인 중의 하나인 MPTP는 그에 노출될 경우 증상이 손 떨림이나 경직 움직임의 저하나 둔함, 자세의 불안정 등 Parkinson's disease와 동일하여 Parkinson's disease 유발 모델을 만들 때 많이 사용되고 있다.

MPTP는 항정신성 의약품인 MPPP의 합성과정 부산물로서 brain barrier를 통과하면서 MPP⁺로 대사되고 세포내로 흡수된다. 흡수된 MPP⁺는 미토콘드리아 내막에 축적되어 미토콘드리아 complex I의 전자 전달계를 방해하여 catecholamine을 산화시켜 reactive oxygen species를 생성한다[1,2,10,17,21].

MPTP에 의해 유발된 신경독성의 증가는 첫째로 MAO의 활성이 증가되거나 둘째 활성산소인 MPP⁺ 자체에 의해 증가되거나, 셋째 dopamine과 같은 catecholamine의 대사과정에서 생성된 활성산소에 의해 증가되는데 이때 활성산소에 의하여 oxidative stress가 증가하여 항산화 효소를 결핍시키고 항산화 방어기작을 파괴하여 Parkinson's disease의 원인이 되는 것으로 사료된다[35].

Selenium은 불포화지방산으로부터 형성된 과산화물을 대사하는 항산화효소인 glutathione peroxidase의 구성성분으로 생체내 효소의 구성성분으로 작용하고 있으며 주로 간에서 작용하여 항산화 방어 역할을 한다는 것은 이미 알려져 있다[11,13,19]. Selenium은 생체내의 glutathione peroxidase와 glutathione 등의 SH 화합물질의 SH기에 selenium이 치환되어 그 생리적 활성을 증가시키며[6,28] 세포막의 microsome

*Corresponding author

Tel : +82-51-620-4883, Fax : +82-51-620-4804

E-mail : jwchoi@ks.ac.kr

과 mitochondria에 많이 분포되어 있는 불포화지방산의 peroxidation 과정에서 chain reaction을 방지함으로써 과산화물질 형성을 방지하고 생체막을 보호하여 세포가 정상적으로 기능을 유지하도록 하는 기능을 가지고 있다[27]. 그러나 selenium이 주로 간장에서 작용한다고 알려져 있고 뇌 조직에서의 항산화 작용에 관한 연구는 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 Parkinson's disease 치료에 활용 가능성이 있는지 알아보기 위하여 MPTP에 의해 신경독성이 유도된 mouse를 사용하여 selenium을 투여한 후 selenium이 신경독성물질의 체내대사를 억제하는가를 조사하고 이의 작용기전을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

시료제조

MPTP는 Sigma사에서 구입하였으며 selenium은 selenium yeast(540 µg/g)를 (주)대우약품에서 공급받아 사용하였다.

실험동물 및 실험설계

실험동물은 대한 BioLink(충북음성)로부터 분양받은 체중 22- 25g의 ICR계 mouse를 본 대학 동물사에서 일정한 조건(온도 : 22±1℃, 습도 : 55±3%, 명암 : 12시간 light/dark cycle)으로 1주 동안 고형 사료로 적응시킨 후 사용하였다. MPTP는 10 mg/kg를 6일간 복강주사하고 3일간 질병 유발 기간을 주었으며 selenium yeast는 4% Tween 80에 현탁(25, 50, 100 µg/kg)하여 10일간 경구투여 하였으며 투여 마지막 날 12시간동안 사료를 제거하고 물만 섭취케 하였다.

중추신경계에 미치는 영향 - 운동기능에 미치는 영향

회전봉법 - MPTP를 10 mg/kg을 6일간 복강 주사하고 selenium yeast를 용량별로 10일간 경구투여하며 1, 3, 6, 9일째 실험한다. 체중 23-28 g의 4주된 ICR계 수컷 mouse를 사용하여 전봉(직경 3 cm, 매분 6회전)위에 올려놓고 2분 이상 떨어지지 않는 동물을 골라 1군 5마리고 하여 실험하였으며 sample을 투여하면서 4분 이상 낙하하지 않는 경우를 작용 없음이라고 판정하였다.

Monoamine oxidase 활성에 미치는 영향

체혈을 마친 실험동물에서 뇌를 적출하여 대뇌, 흑색질로 분리하여 mitochondria 분획을 분리한 다음 monoamine oxidase A (MAO-A)의 함량은 Welyer와 Salach[36]의 방법, monoamine oxidase B (MAO-B)의 함량은 Kalaria 등[16]의 방법에 준하였다.

지질과산화 함량에 미치는 영향

CO₂ gas로 치사시킨 쥐의 혈액을 대동맥으로부터 취하여 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈액 중의 thiobarbituric

acid reactive substances (TBARS)의 함량측정은 Suenatsu 등 [33]의 방법으로, 적출한 뇌를 대뇌 흑색질로 분리한 다음 뇌 조직에서 TBARS의 함량측정은 Ohkawa 등[24]의 방법에 준하였다.

뇌조직 중 항산화 효소계에 미치는 영향

체혈을 마친 실험동물에서 뇌를 적출하여 대뇌, 흑색질로 분리하여 cytosol 분획을 분리한 다음 glutathione reductase (GR)의 함량은 Mize와 Langdon [23]의 방법, superoxide dismutase (SOD)의 활성은 Gao등의 방법[12], catalase의 활성은 Aebi[3]의 방법, glutathione peroxidase의 활성은 Paglia와 Valentine[25]의 방법에 준하였다.

단백질 정량 및 통계 처리

단백질의 정량은 bovine serum albumin (Sigma Fr.IV)을 표준품으로 하여 Lowry 등[21]의 방법에 따라 측정하였으며 실험결과는 평균치±표준편차로 표시하였고 통계적 유의성은 Duncan's new multiple range test를 이용하였다. P값이 5% 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

결 과

운동기능에 미치는 영향

MPTP를 10 mg/kg을 6일간 복강 주사하고 selenium을 용량별로 10일간 경구투여하며 1, 3, 6, 9일째 회전봉법을 실시한 결과가 Table 1이다. 정상군에서는 1일, 3일, 6일, 9일째 inhibition of performance의 변화를 관찰할 수 없었으며 MPTP 10 mg/kg 투여군에서는 9일째 inhibition of performance가 70%까지 증가 되었으나 selenium 25 µg/kg를 투여한 군에서는 9일째 60%, 50 µg/kg을 투여한 군에서는 9일째 50%, 100 µg/kg을 투여한 군에서는 9일째 50%로 감소되는 경향을 보였다.

Monoamine oxidase 활성에 미치는 영향

MAO-A의 활성 Moradrenalin과 5-hydroxytyr amine을 대사하는 MAO-A의 활성도를 정상군, MPTP 투여군,

Table 1. Effect of selenium on the rota road test in MPTP induced mice

Treatment	Dose (µg/kg)	N	Inhibition of performance(%)			
			1	3	6	9day
Normal		10	0	0	0	0
MPTP		10	20	40	70	70
	25	10	20	50	60	60
MPTP+selenium	50	10	30	40	40	50
	100	10	30	30	30	50

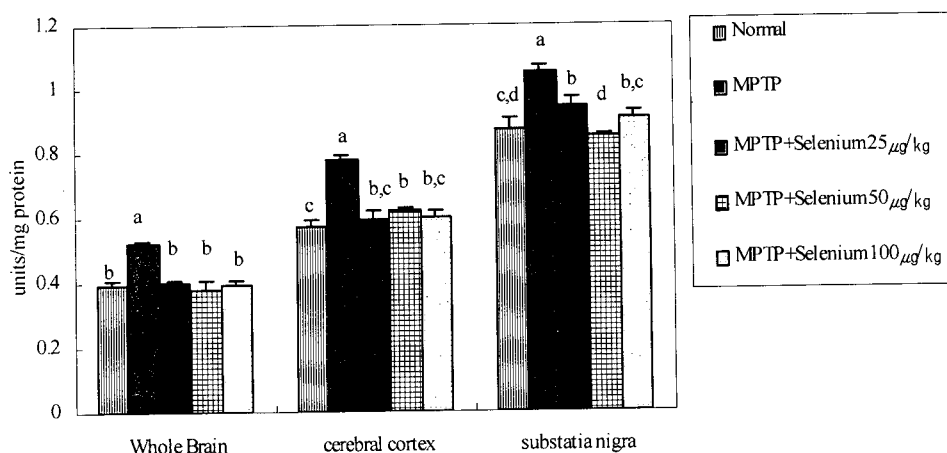


Fig. 2. Effect of MPTP and selenium treatment on monoamine oxidase-B activity in the whole brain, cerebral cortex, substantia nigra of MPTP induced mice.

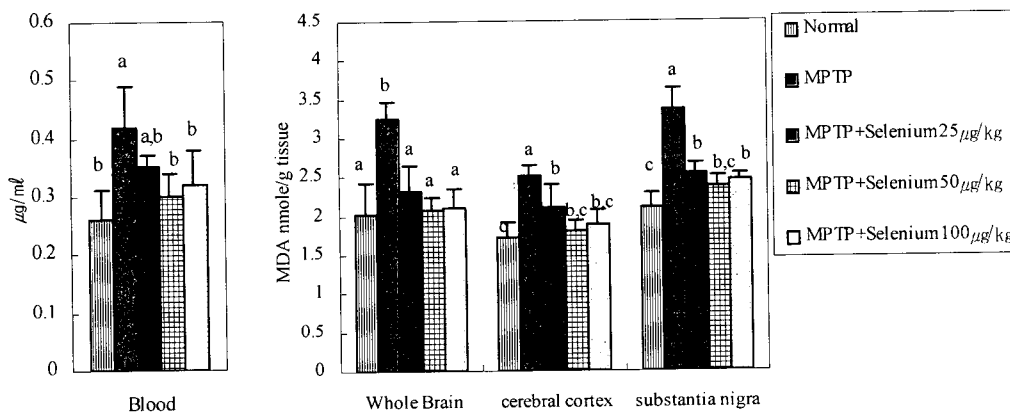


Fig. 3. Effect of MPTP and selenium treatment on blood lipid peroxide content and on lipid peroxide content in the whole brain, cerebral cortex, substantia nigra of MPTP induced mice.

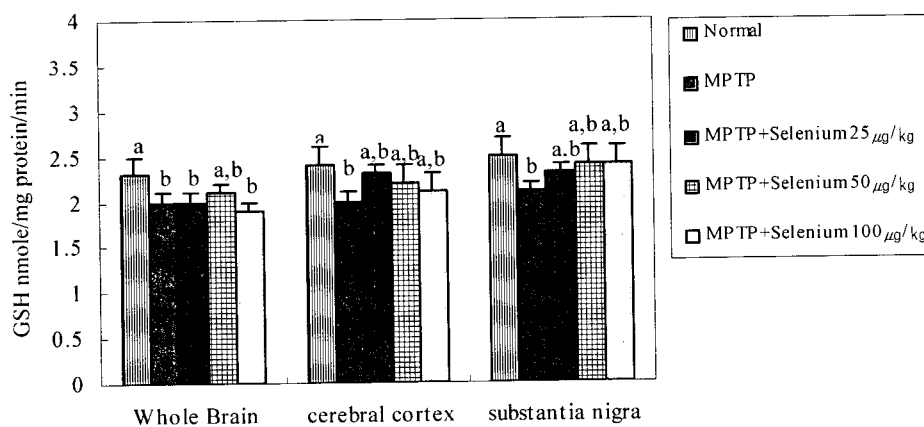


Fig. 4. Effect of MPTP and selenium treatment on glutathione reductase activities in the whole brain, cerebral cortex, substantia nigra of MPTP induced mice.

selenium 투여군, MPTP+ selenium 투여군의 뇌를 전뇌, 대뇌, 흑색질로 분리하여 각 조직의 미토콘드리아 분획을 사용하여 측정된 결과가 Fig. 1 이다. 전뇌에서는 정상군에 비교하여 MPTP 투여군과 selenium 투여군에서 별다른 변화를 보이지 않았으며 대뇌에서는 selenium을 투여한 군에서 다소 감소되는 경향을 보였으나 통계적인 유의성이 없었으며 흑색질에서도 정상군에 비해 MPTP 투여군에서 MAO-A의 활성이 다소 증가하던 것이 selenium을 투여한 결과 감소하는 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다.

Fig. 2는 dopamine을 대사하는 효소인 MAO-B의 활성도를 정상군, MPTP 투여군, selenium 투여군, MPTP+selenium 투여군의 뇌를 전뇌, 대뇌, 흑색질로 분리하여 각조직의 미토콘드리아 분획을 사용하여 측정된 결과이다. 전뇌에서는 MAO-B의 활성이 정상군에 비해 MPTP를 투여한 군에서 증가하던 것이 selenium 투여군에서 유의성 있게 감소하였고 대뇌와 흑색질에서도 전뇌에서와 마찬가지로 정상군에 비해 MPTP를 투여한 군에서 MAO-B의 활성이 증가하던 것이 selenium을 투여한 군에서 유의성 있게 감소하였다.

지질과산화 함량에 미치는 영향

혈액 및 뇌조직 중의 지질과산화 함량을 측정된 결과가 Fig. 3이다. 정상군에 비하여 MPTP 투여군에서 $0.42 \pm 0.07 \mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 지질과산화 함량이 현저히 증가되던 것이 selenium 투여군에서 유의성 있게 감소하였다. Selenium $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 에서는 $0.3 \pm 0.04 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 정상군의 지질과산화 함량과 거의 비슷한 수준으로 감소되는 경향을 보였다.

뇌조직의 지질과산화 함량은 전뇌에서 정상군에 비하여 MPTP 투여군에서 지질과산화 함량이 $3.75 \text{ nmole}/\text{g tissue}$ 로 현저히 증가하던 것이 selenium 투여군에서는 유의성 있게 감소하였다. 대뇌에서는 MPTP 투여군에서 증가하던 것이 selenium 투여군에서 유의성 있게 감소하였으며 흑색질에서도 전뇌와 대뇌에서와 마찬가지로 정상군에 비해 MPTP

투여군에서 현저히 증가하던 것이 selenium 투여군에서 유의성 있게 감소하였다.

Glutathione reductase 활성에 미치는 영향

Glutathione reductase의 활성을 측정된 결과가 Fig. 4이다. 전뇌에서 정상군에 비하여 MPTP 투여군에서 활성이 현저히 감소하던 것이 selenium 투여군에서는 다소 증가하였으나 통계적인 유의성은 없었다. 대뇌에서도 정상군에 비하여 MPTP 투여군에서 활성이 감소하던 것이 selenium을 투여한 군에서 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다.

흑색질에서도 전뇌, 대뇌에서와 마찬가지로 정상군에 비하여 MPTP 투여군에서 활성이 현저히 감소하던 것이 selenium 투여군에서는 다소 증가하였으나 통계적인 유의성은 없었다.

Superoxide dismutase 활성에 미치는 영향

Superoxide dismutase (SOD) 활성에 미치는 영향을 실험한 결과가 Fig. 5와 같았다. 전뇌에서 정상군에 비하여 MPTP 투여군에서 SOD 활성이 현저히 감소하던 것이 selenium 투여군에서는 유의성 있게 증가하였다. 대뇌와 흑색질에서도 MPTP 투여군에서 현저히 감소하던 것이 selenium 투여군에서 유의성 있게 증가하였다. Selenium $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 에서는 전뇌, 대뇌, 흑색질에서 정상군의 지질과산화 함량과 거의 비슷한 수준으로 감소되는 경향을 보였다.

Catalase 활성에 미치는 영향

Catalase 활성에 미치는 영향을 실험한 결과 Fig. 6와 같았다. 전뇌에서 catalase 활성이 정상군에 비하여 MPTP 투여군에서 현저히 감소하던 것이 selenium 투여군에서는 유의성 있게 증가하였다. 대뇌와 흑색질에서도 MPTP 투여군에서 현저히 감소하던 것이 selenium 투여군에서 유의성 있게 증가하였다. Selenium $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 에서는 전뇌, 대뇌, 흑색질에서 정상군의 지질과산화 함량과 거의 비슷한 수준으로 감소되는 경향을 보였다.

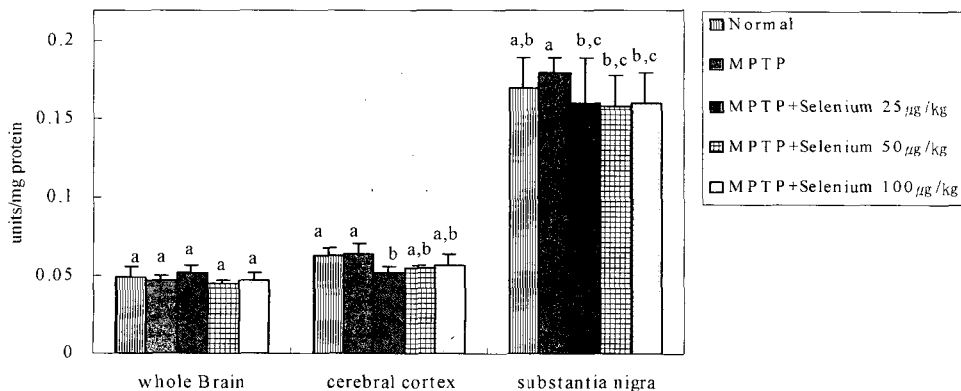


Fig. 1. Effect of MPTP and selenium treatment on monoamine oxidase-A activity in the whole brain, cerebral cortex, substantia nigra of MPTP induced mice.

Glutathione peroxidase 활성에 미치는 영향

Glutathione peroxidase 활성에 미치는 영향을 실험한 결과 Fig. 7와 같았다. 전뇌에서는 glutathione peroxidase 활성이 정상군에 비해

여 MPTP 투여군에서 감소하던 것이 selenium 투여군에서는 유의성 있게 증가하였으며 대뇌와 흑색질에서도 glutathione peroxidase의 활성이 MPTP 투여군에서 감소하던 것이 selenium 투여군에서 유의성 있게 증가하였다.

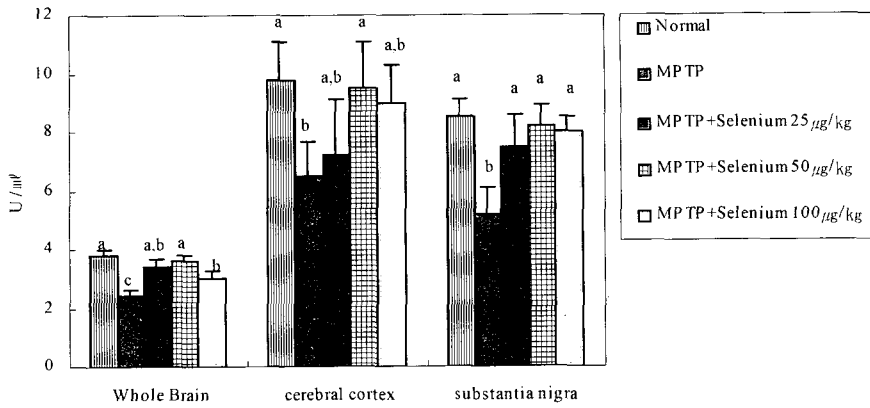


Fig. 5. Effect of MPTP and selenium treatment on superoxide dismutase activities in the whole brain, cerebral cortex, substantia nigra of MPTP induced mice.

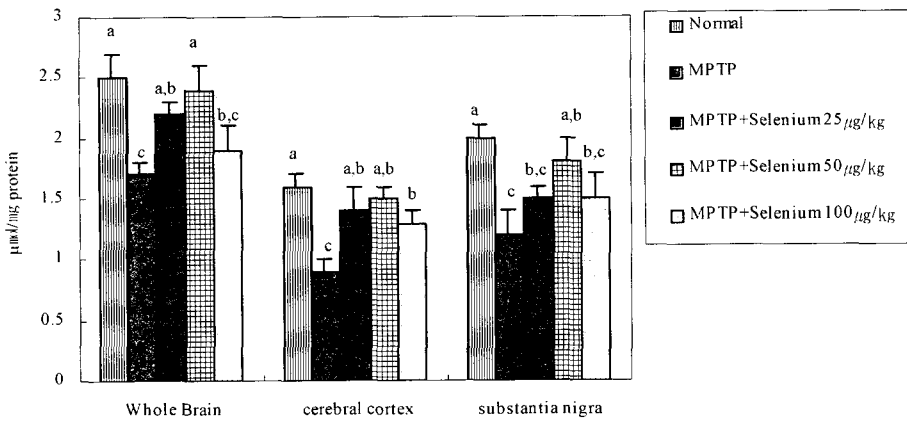


Fig. 6. Effect of MPTP and selenium treatment on catalase activities in the whole brain, cerebral cortex, substantia nigra of MPTP induced mice.

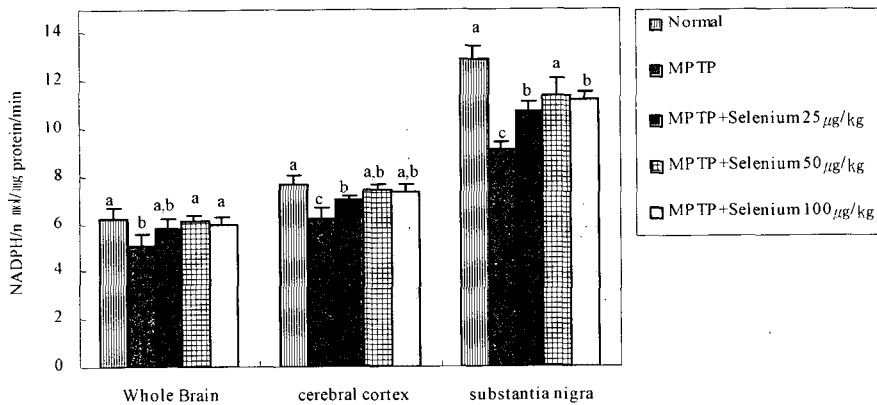


Fig. 7. Effect of MPTP and selenium treatment on glutathione peroxidase activities in the whole brain, cerebral cortex substantia nigra of MPTP induced mice.

고 찰

MPTP는 유기합성에 사용되는 화학물질로서 주위 환경에 노출되어 생체내로 유입되며 중뇌의 흑질 부위를 비가역적으로 파괴하여 Parkinson's disease와 유사한 증상이 발현된다. MPTP 자체는 뇌에 치명적이지 않으나 뇌에서 몇 단계를 거치면서 MPP⁺로 변화하여 도파민계 신경세포에만 유독하게 되어 손떨림이나 경직 움직임의 저하나 둔함, 자세의 불안정 등 Parkinson's disease와 같은 증상을 나타내게 된다. 주로 MPTP의 독성시험은 주로 mouse를 사용하고 있으며 현재 MPTP의 신경독성을 완화시킨다고 알려진 것은 L-deprenyl, sodium salicylate와 pramipexole 등이 보고되고 있다[8,9]. 본 실험에서 사용하고자 하는 selenium은 glutathione peroxidase의 구성성분으로 주로 간장에서 작용한다고 알려져 있으며 뇌 조직에서 selenium의 항산화 작용에 관한 연구는 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 selenium이 Parkinson's disease 치료에 활용 가능성이 있는지 알아보기 위하여 MPTP로 mouse에 신경독성을 유도한 뒤 selenium을 투여하여 신경독성을 완화하는 것을 알아보려고 하였다.

먼저 MPTP를 투여하여 운동능력에 미치는 영향을 알아보기 위해 현수법 실험을 행하였더니 MPTP를 투여함에 따라 운동능력이 저하되던 것이 selenium을 투여함에 따라 운동능력저하가 억제됨을 확인할 수 있었다.

Selenium의 MPTP에 의한 운동능력의 보호효과의 기전을 규명하고자 신경 생화학적 지표성분들을 뇌에서 측정하였다. Monoamine oxidase는 미토콘드리아 외막에 존재하는 통합단백질로서 MAO-A와 MAO-B type이 있다. 특히 생체내에서 MAO-B의 활성 증가는 MPTP의 대사를 촉진하여 신경독성을 지닌 MPP⁺의 축적을 증가시킨다. 그러므로 MAO-B inhibitor는 MPTP의 신경독성을 억제하는 수단으로 이용되고 있다[8]. 본 연구에서 selenium을 투여하였을 때 MAO-A의 활성은 전뇌와 대뇌에서는 별다른 변화가 없었으며 흑색질에서는 감소되는 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다. MAO-B의 활성은 전뇌, 대뇌, 흑색질에서 모두 감소되는 경향을 보였다. 그러므로 실험에 사용하고자 하는 selenium의 용량은 생체내 독성을 유발하지 않으며 MAO-B의 활성을 억제시켜 독성으로부터 신경세포의 파괴를 억제하는 것으로 생각된다. 본 실험에서는 MPP⁺가 활성산소를 생성하여 지질과산화물을 일으켜 MDA의 함량을 증가시킨다는 것[7]을 감안하여 혈액과 뇌조직 중의 지질과산화 함량을 측정된 결과 혈액에서 selenium을 투여하므로써 MDA의 함량이 유의하게 감소하는 것이 확인되었고 뇌조직 중 전뇌, 대뇌, 흑색질에서 MPTP에 의해 증가된 MDA의 함량이 selenium을 투여함으로써 감소하는 것이 확인되었다. 이러한 결과에 따라 selenium이 MPTP 신경독성에 의한 혈액과 뇌조직중의 지질과산화와 단백질의 산화적 손상을 억제함으

로써 신경세포를 보호할 것으로 추정된다.

Selenium이 glutathione 농도에 영향을 미치는 것을 알아보기 위해 산화된 glutathione을 NADPH로 환원시켜 세포내에 필요한 GSH를 공급하는 역할[4,34,38]을 하는 glutathione reductase의 활성을 측정하였더니 selenium을 투여함에 따라 전뇌, 대뇌, 흑색질에서 다소 증가하는 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다.

세포는 superoxide radicals (O₂⁻)에 과도하게 노출되면 superoxide dismutase (SOD)의 활성이 증가한다. SOD는 xenobiotics로 인하여 생성된 superoxide anion을 H₂O₂로 전환시키는 효소로 생체내 해독 과정에 관여하는 효소 중 하나이다. 이러한 radical scavenging enzyme[6,18,19,20]의 활성은 전뇌, 대뇌, 흑색질에서 selenium을 투여함에 따라 SOD의 활성이 유의성 있게 증가하였다. 또 다른 radical scavenging enzyme 중의 하나인 catalase는 체내에서 지방의 자동 산화 및 유기물의 산화로 생기는 H₂O₂를 H₂O와 O₂로 분해하여 무독화 시킨다. Oxidative stress에 의해 생성된 과산화물을 무독화시키는 GSH는 a glutathione peroxidase를 통하여 지질과산화 반응에서 생성된 과산화물을 무독한 물질로 전환시키거나 지질과산화물과 결합물을 형성해 이를 체외로 배설시킴으로써 생체내 과산화에 대해 보호작용을 하는 glutathione peroxidase 역시 catalase와 같은 기능을 수행하는 효소[26]로 catalase와 glutathione peroxidase의 활성은 전뇌, 대뇌, 흑색질에서 selenium yeast를 투여함에 따라 유의성 있게 증가하였다. 이러한 결과는 selenium이 MPTP에 의해서 감소되던 SOD와 catalase, glutathione peroxidase의 활성도가 감소되는 것을 효과적으로 억제함으로써 활성산소의 분해를 촉진하는 것으로 판단되어 진다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 selenium은 MPTP를 MPP⁺로 대사시켜 신경독성을 유발하는 MAO-B의 활성을 억제하여 MPTP에 의한 신경독성을 효과적으로 감소시키는 것으로 생각되며 이러한 신경독성에 대한 selenium의 보호효과는 활성산소 해독계 효소인 SOD, catalase, glutathione peroxidase의 활성증가에 의한 결과로 사료되어 진다.

요 약

MPTP에 의해 유도된 Parkinsonism에 대한 selenium의 보호효과와 그 보호작용에 대한 항산화적 해독기전을 조사하기 위하여 MPTP 10mg/kg을 6일간 주사하고 selenium (25, 50, 100 µg/kg)을 10일간 경구 투여하였으며 처음 6일간은 selenium와 MPTP를 병용 투여하였다. 실험동물을 마지막으로 selenium을 투여하고 24시간 후에 처사시켜 일반적인 독성과 항산화 방어능과 관련된 지표성분과 monoamine oxidase와 같은 신경생화학적 지표성분들을 뇌조직에서 측정하였으며 그 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

우선 MPTP를 투여함에 따라 운동능력이 저하되던 것이 selenium을 투여함에 따라 운동능력이 증가되었으며, 이러한 결과의 기전은 selenium을 투여함으로써 MPTP를 MPP⁺로 대사시키는 MAO-B의 활성을 억제하였으며 MPP⁺에 의해 유도된 신경독성에 대한 selenium의 보호 효과는 selenium을 투여함으로써 활성산소 해독계인 SOD, catalase, glutathione peroxidase의 활성을 증가시키기 때문인 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Adams, J. D., J. H. M. Johanssen, J. P. Schuller, S. P. Bacon and S. P. Markey. 1986. The role of oxidative stress in the systematic toxicity of MPTP and MPP⁺. pp. 571-571, Academic Press, New York. .
- Adams, J. D., L. K. Klaidman and A. C. Leugn. 1993. MPP⁺ and MPDP⁺ induced oxygen radical formation with mitochondrial enzymes. *Free Radic. Biol. Med.* **15**, 181-186.
- Aebi, H. 1974. Catalase. In "Methods of enzymetic analysis" Bergmeyer, H.U., Academic Press, New York., **2**, 673-684.
- Ballard, P. A., J. W. Tetrad and J. W. Lanston. 1985. Permanent human parkinsonism due to N-methyl-4-phenyl -1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). *Neuro.* **35**, 949-956.
- Bang, J. S. and S. J. Rhee. 1991 Effect of dietary selenium on δ -aminolevulinic acid dehydratase activity in lead poisoned rats. *Korean J. Nutr.* **24**, 526-533.
- Brady, P. S., J. E. Shelle and D. E. Elrey, 1977. Rapid changes in equine erythrocyte glutathione reductase with exercise. *Am. J. Vet. Res.* **38**, 1045-1047.
- Birkmayer, W., P. Riederer and W. D. Rausch. 1979. In advances in neurology(Poirier, L. H., Sourkes, T. L., Bedard, J. P., Eds). pp. 499-510. Ravan Press, New York..
- Chan, P., L. E. Delanney, L. Irwin, J. W. Langston and D. D. Monte. 1991. Rapid ATP loss caused by N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine in mouse brain. *J. Neurochem.* **57**, 348-351.
- Chiba, K., E. T. Kubota, Y. Miyakawa, Y. Kato and T. B. Ishizaki. 1988. Characterization of hepatic microsomal metabolism as *in vivo* detoxication pathway of N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine(MPTP) in mice. *J. Pharm. Exp.* **246**, 1108-1115.
- Chiba, K., A. Trevor. and N. J. Castagnoli, 1984. Metabolism of the neurotoxic tertiary amine, MPTP, by brain monoamine oxidase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **120**, 574-578.
- Dombs, G. F. Jr. and S. B. Combs. 1984. The nutritional biochemistry of selenium. *Ann. Rev. Nutr.* **4**, 254-280.
- Gao R., Z. Yuan, Z. Zhao and X. Gao., 1998. Mechanism of pyrogallol autoxidation and determination of superoxide dismutase enzyme activity. *Biol. Chem.* **45**, 41-45.
- Harrison, I., D. L. John and G. S. Fell. 1996. DisAribution of selenium in human blood plasma and serum. *Analycet* **121**, 189-194.
- Javoy-Agid, F. and Y. Agid. 1980. Is the mesocortical dopaminergic system involved in Parkinson's disease? *Neurology* **30**, 1326-1330.
- Kojima, S., O. T. Matsuki, T. Nomura, M. T. Yamaoka and E. Niki, 1999. Elevation of antioxidant potency in the brain of mice by low dose γ -ray irradiation and its effect on 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahy-dropyridine (MPTP) induced brain damage. *Free Radical Biology & Medicine* **26**, 388-395.
- Kalaria, R. N., M. J. Mitchell and S. I. Harik. 1987. Correlation of 1-methyl-4-pheny-1,2,3,6-tetrahydropyridine neurotoxicity with blood brain barrier monoamine oxidase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **84**, 3521-3525.
- Langstone, J. W., P. Ballard and R. A. Irwin. 1983. Chronic parkinsonism in humans due to a product of meperidine analog synthesis. *Science* **219**, 979-980.
- Lawrene, R. A. and R. F. Burk. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium deficiet rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **71**, 952-958.
- Leibovitz, B. E. and B. V. Siegel. 1980. Aspects of free radical reactions in biological systems. *Aging J. Gerontol.* **35**, 45-59.
- Little, C. and P. J. O'Brine. 1968. An intracellular GSH -peroxidase with lipid peroxide substrate. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **31**, 145-150.
- Lowry, O. H., N. J. Rodebrough, A. L. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
- Markey, S. P., J. N. Johannesse, C. S. Chiuen and M. A. Herkenham. 1984. Intraneuronal generation of a pyridinium metabolic may cause drug-induced parkinsonism. *Nature* **311**, 464-467.
- Mize, C. E. and R. G. Langdon. 1962. Hepatic glutathione reductase purification and general kinetic properties. *J. Biol. Chem.* **237**, 1589-1595.
- Ohkawa, H., N. Ohishi and K. Yaki, 1979. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**, 351-358.
- Paglia, E. D. and W. N. Valentin. 1967. Studies on the quantitative and qualitative charaterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* **70**, 158-69.
- Reddy, C. C., C. P. D. Tu, J. R. Burgess, C. Y. Ho, R. W. Scholz and E. J. Massaro. 1981. Evidence for the occurrence of selenium - independent glutathione peroxidase activity in rat liver microsome. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **101**, 970-978.
- Rhee, S. J. and W. K. Choi. 1991 Effect of heated oil and vitamin E on lipid peroxidative liver damage in rat. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **20**, 111-120.
- Robert, F. L. and A. F. Clement. 1977. Effect of iron status on δ -aminolevulinic acid dehydratase activity. *Biol. Med.* **18**, 323-329.
- Sakurai, H. and K. A. Tsuchya. 1975. Tentative

- recommendation for the maximum daily intake of selenium. *Environm. Phys. Biochem.* **5**, 107-118.
30. Sourkes, T. L. 1989, Disorders of basal ganglia. In Basic Neurochemistry. pp. 811, 4th Eds., Raven Press, New York.
 31. Snyder, S. H. and R. J. D'Amato. 1986. MPTP. A neurotoxin relevant to the pathophysiology of Parkinson's disease. *Neurology* **36**, 250-258.
 32. Sriram, K., K. S. Pai, M. R. Boyd and V. Ravindranath. 1997. Evidence for generation of oxidative stress in brain by MPTP: in vitro and in vivo studies in mice. *Brain Research* **749**, 44-52.
 33. Suenatsu, T., T. Kamada, H. Abe, S. Kikuchi and K. Yagi. 1977. Serum lipoperoxide levels in patients suffering from liver disease. *Clin. Chem. Acta* **79**, 267-270.
 34. Tanner, C. M. and J. W. Langston. 1990. Do environmental toxins cause Parkinson's disease? A critical review. *Neurology* **40**, 17-30
 35. Thiffault, C., N. Aumont, R. Quirion and J. Poirier. 1995. Effect of MPTP and L-Deprenyl on antioxidants enzymes and lipid peroxidation level in mouse brain. *J. Neuro. Int. Soc. Neurochemistry* **2725-2733**.
 36. Welyer, W. and J. I. Salach. 1985. Purification and properties of mitochondrial monoamine oxidase type A from human placenta. *J. Biological Chemistry* **260**, 13199-13207.
 37. Wong, S. S., R. H. Y. Li and A. Stadlin. 1999. Oxidative stress induced by MPTP and MPP⁺: selective vulnerability of cultured astrocytes. *Brain Research* **836**, 237-244.
 38. Zou, L. L., J. Xu, Y. Jankovic, S. H. He, and W. D. Le. 2000. Pramipexole inhibits lipid peroxidation and reduced injury in the substantia nigra induced by the dopaminergic neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetra- hydroxy-pyridine in C57BL/6 mice. *Neuroscience Letters* **281**, 167-170.