응용약물학회지, The Journal of Applied Pharmacology 6, 9-13(1998)

일산화탄소 폭로후 고압산소 투여가 흰쥐 심장에서의 malondialdehyde 함량과 산소유리기 반응에 미치는 영향

신인철* · 고현철 · 하지희
한양대학교 의과대학 약리학교실

Effects of Hyperbaric Oxygen Treatment on the Malondialdehyde Level and Oxygen Free Radical Reactions in the Heart of the Rats Exposed to Carbon Monoxide

In Chul SHIN*, Hyun Chul KOH and Ji Hee HA
Department of Pharmacology, College of Medicine, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

(Received November 20, 1997; accepted December 27, 1997)

Abstract – In an attempt to define the effects of hyperbaric oxygen treatment on the lipid peroxidation and oxygen free radical reactions in rats exposed to carbon monoxide, we studied malondialdehyde(MDA) level and activities of catalase and superoxide dismutase in the heart of the rats exposed to carbon monoxide. Male Sprague-Dawley albino rats weighing 240 to 260gm were used. Experimental groups consist of Control group (=breathing with air), HBO group(=exposed to hyperbaric oxygen[HBO, 3ATA, 100%] after air breath), CO group(=exposed to CO[3,970 ppm] after air breath), CO-Air group(=exposed to CO after air breath followed by air breath) and CO-HBO group(=exposed to CO after air breath followed HBO treatment). The CO group showed significantly higher MDA level, catalase activity and SOD activity as compared to that of control group. The CO-HBO group showed significantly lower MDA level as compared to that of CO group, and did not show significantly lower catalase activity and SOD activity as compared to that of CO group. These results suggest that the excessive oxygen free radicals is an important determinant in pathogenesis of CO-induced cardiotoxicity and HBO inhibits the lipid peroxidation caused by excessive oxygen free radicals in the heart of the rats exposed to carbon monoxide.

Keywords□ Heart, Carbon monoxide, Hyperbaric oxygen (HBO), Malondialdehyde (MDA), Catalase, Superoxide dismutase (SOD)

일산화탄소의 중독은 우리 나라의 경우 최근의 감소추세에도 불구하고 아직 국민건강상의 중요한 문제로 남아있고, 세계적으로 난방, 조리 및 교통기관 등에 화석연료가 주로 사용되는 한 일산화탄소 중독의 발생은 계속될 것이다. 일산화탄소 중독의 기전은 주로 일산화탄소와 혈색소(hemoglobin)의 강한 결합력(산소의 약 200배)때문에 산소가 혈색소와 결합하는 것을 억제하고, 동시에 말초 조직에서의 산소 해리마저 저하시키며, 또한 cytochrome oxidase의 억제를 통해서 조직의 산소 이용을 저해하여 급속한 조직의 저산소 상태를 유발한다. 일산화탄소 폭로후에는 뇌의 광범위한 영역에 손상을 가져오며(Okeda 등, 1981; Okeda 등, 1982) 이러한 일산화탄소 중독 치료에 고압산소 요법이 오늘날 최선의 치료방법으로 이용되고 있다.

한편 호기성 세포에서는 superoxide radical(O_2^-), hydroxyl radical ($OH^·$) 및 hydrogen peroxide (H_2O_2)가 발생될 수 있으며, 어떤 유해물질이나 약물 등에 폭로되었을 때나 병적상태에서는 이들이 과다하게 생성되어 조직에 치명적인 손상을 입힐 수 있다(Goldberg와 Stern, 1977; Simon 등, 1981; Moody와 Hassan, 1982; Weiss와 Lobuglio, 1982; Fantone과 Ward, 1985; Baud와 Ardaillou, 1986; Junqueira 등, 1986; Weiss, 1986). 본 연구에서는 일산화탄소 폭로후 고압산소 투여가 흰쥐 심장에서의 지질 과산화와 산소유리기 반응에 미치는 영향을 관찰하였고, 일산화탄소의 흰쥐 심장에 대한 독작용과 일산화탄소 폭로후 고압산소 요법의 효과간의 oxygen free radicals와의 관계를 규명하고자 본 실험을 시도하였다.

* To whom correspondence should be addressed.

실험방법

실험동물은 체중 240-260 gm의 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 사용하였으며 실험기간중 사료와 물은 임의로 섭취하게 하였고, 각 실험조건에 10마리씩 실험하였다. 일산화탄소와 산소 폭로를 위하여 내경 37 cm, 외경 40 cm, 길이 80 cm의 원통형 아크릴 수지로 제작된 실험용 고압 폭로장치를 사용하였다. 초기에 일산화탄소 또는 대기, 산소를 실험조건의 농도를 상승시키기 위하여 분당 30리터로 10분간 관류한후 각 조건에서 30분씩 폭로하였다. 동일 실험군에서 조건을 바꿀 때에도 역시 분당 30리터로 10분간 관류한후 해당조건의 가스의 관류를 분당 10리터로 유지하였다. 일산화탄소(CO)는 흰쥐에서 중간 치사량인 4,000 ppm을, 고압산소(hyperbaric oxygen, HBO)는 100% 의료용을 사용하였다. 대조군은 폭로장치 내에서 대기만을 호흡케 하였으며(대기 → 대기 → 대기), CO군은 30분간 대기 호흡후 다시 대기와 일산화탄소로 각 30분간 호흡시켰고(대기 → 대기 → CO), HBO군은 30분간 대기 호흡후 다시 대기와 3기압 100% 산소로 각 30분간 호흡시켰다(대기 → 대기 → HBO). CO-대기군은 30분간 대기 호흡후 일산화탄소와 대기로 각 30분간 호흡시켰으며, CO-HBO군은 30분간대기 호흡후 일산화탄소와 3기압 100% 산소로 각 30분간 호흡시켰다. 폭로후 즉시 동물을 단두도살한후 개복하여 phosphate buffered saline (PBS)을 좌심실을 통해 관류시킨후 심장을 떼어내어 pellet pestle tube에 넣고 potassium phosphate buffer(pH 7.3)로 균질화(homogenization) 시킨후 초음파 세포막 분쇄기(ultrasonic cell membrane disruptor, Sonics & Materials Co., Danbury, USA)로 세포막을 파괴 하여 thiobarbituric acid를 이용한 Shah 등(1983)의 방법으로 bovine serum albumin(BSA)을 표준으로하여 534 nm에서 그 흡광도를 분광광도계(Gilford 260, Ohio, USA)로 측정하여 지질 과산화 정도를 malondialdehyde (MDA) 함량으로 측정 하였으며, 구체적 과정은 다음과 같다.

가. Pellet pestle tube에 0.5 ml potassium phosphate buffer (PB)와 심장조직을 넣고 조직을 homogenization 시킨다.

나. 20초간 sonication 시킨다.

다. Test tube에 4.5 ml PB와 sonication 시킨 조직을 vortex mixing 한다.

라. Homogenate 1 ml를 취한후 17.5% TCA 1 ml를 첨가한다.

마. 0.6% thiobarbituric acid 1ml를 첨가한다.

바. 100℃ 수조에서 15분간 반응시키고 식힌후 70% TCA 1 ml를 넣고 실온에서 20분간 방치한 다.

마. 3000 rpm에서 30분간 원심분리시킨 상층액의 흡광도를 분광광도계로 파장 534 nm에서 측정 한다.

한편 $KMnO_4$ 적정을 이용한 Cohen 등(1970)의 방법으로 480 nm에서 그 흡광도를 분광광도계(Gilford 260, Ohio, USA)로 catalase 활성도를 측정 하였으며, 구체적 과정은 다음과 같다.

가. Pellet pestle tube에 0.5 ml potassium phosphate buffer(PB)와 심장조직을 넣고 조직을 homogenization 시킨다.

나. 20초간 sonication 시킨다.

다. Test tube에 4.5 ml PB와 sonication 시킨 조직을 vortex mixing 한다.

라. 30분간 cold ice water bath에서 incubation 한다.

마. 2500 rpm에서 10분간 원심분리 시킨후 상층액 990 μl를 취하여 100% ethanol 10 μl를 첨가한다.

바. 30분간 cold ice water bath에서 incubation 한후 10% Triton X-100 100 μl를 첨가하여 9.9 ml PB와 vortex 한후 측정한다.

Catalase 활성도는 1차등급 반응상수인 k로 표현될 수 있으며 그식은 다음과 같다.

$$k=\log(S_0/S_t)\times 2.3/t$$

여기서 t는 반응시간(minutes)이고, S_0는 H_2O_2의 초기 농도, St는 H_2O_2의 t분때의 농도를 의미한다.

그리고 pyrogallol의 autoxidation 억압을 이용한 Marklund와 Marklund(1974)의 방법으로 bovine kidney SOD를 표준으로 하여 420 nm에서 그 흡광도를 분광광도계(Gilford 260, Ohio, USA)로 측정하여 superoxide dismutase(SOD) 활성도를 측정 하였으며, 구체적 과정은 다음과 같다.

가. Pellet pestle tube에 0.5 ml의 10 mM potassium phosphate buffer(PB)와 30 mM KCl에다 심장조직을 넣고 조직을 homogenization 시킨다.

나. 4.5 ml의 10 mM potassium phosphate buffer(PB)에 30 mM KCl를 첨가한다.

다. 4℃에서 30초간 sonication 시킨다.

라. 30분간 20000 g에서 원심분리시킨다.

마. 2500 rpm에서 10분간 원심분리 시킨후 상층액 990 μl를 취하여 100% ethanol 10 μl를 첨가한다.

바. Sample, Blank 및 SOD Standard에다 Tris-acetate buffer 9.8 ml를 넣고 votex mixing한후 pyrogallol 100 μl를 첨가한후 흡광도를 분광광도계로 파장 420 nm에서 흡광도를 측정하고 3분간 반응시킨후 다시 흡광도를 측정하였다.

MDA 함량과 catalase와 SOD 활성도의 분석은 mg 단백질에 대한 함량과 활성도로 표현되며, 단백질은 Lowry 등(1951)의 방법으로 측정하였다.

ANOVA's test를 이용하여 통계처리하였고, 각 데이타는 평균±표준편차로 나타내었다.

실험결과

MDA 함량(nmol/mg protein)

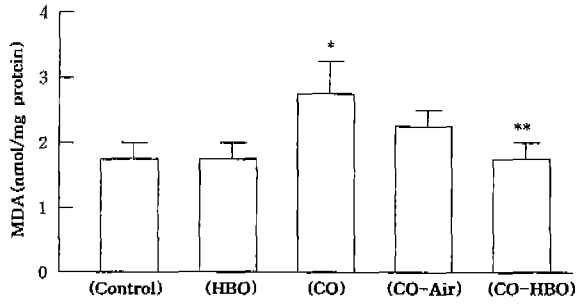

Fig. 1. Malondialdehyde (MDA) level in the heart of the Air-treated (Control), HBO-treated, CO-treated, CO+Air-treated and CO+HBO-treated group. *P<0.01 (N=7) vs Control. **P <0.01 (N=7) vs CO. The data represent the mean±S.D..

대조군에서는 1.68±0.17이고, HBO군, CO군, CO-대기군 및 CO-HBO군에서는 각각 1.60±0.18(대조치의 95%), 2.69 ±0.39(대조치의 160%), 2.26±0.22(대조치의 135%), 1.71± 0.22(대조치의 102%)로 CO군에서는 대조군 보다 유의하게 (P<0.005) 증가되었으나, CO-HBO군에서는 CO군에서의 증가가 유의하게(P<0.01) 억제되었다(Fig. 1).

Catalase 활성도 (k/mg protein)

대조군에서는 19.90±4.75이고, HBO군, CO군, CO-대기군 및 CO-HBO군에서는 각각 18.98±4.13(대조치의 95%), 192.94±23.15(대조치의 970%), 224.53±35.29(대조치의 1128%), 187.26±31.52(대조치의 941%)로 CO군, CO-대기군 및 CO-HBO군에서는 대조군 보다 유의하게(P<0.01) 증가되었다(Fig. 2).

Superoxide dismutase 활성도 (unit/mg protein)

대조군에서는 11.56±1.13이고, HBO군, CO군, CO-대기군 및 CO-HBO군에서는 각각 13.37±1.52(대조치의 116%), 21.73±1.59(대조치의 188%), 19.60±0.67(대조치의 170%), 20.54±1.93(대조치의 178%)로 CO군, CO-대기군 및 CO-HBO군에서는 대조군 보다 유의하게(P<0.01) 증가되었다

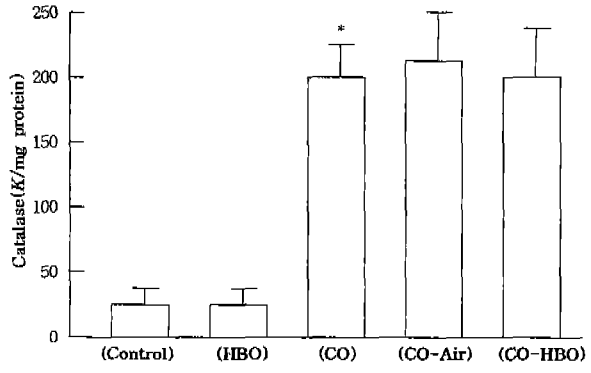

Fig. 2. Catalase activity in the heart of the Air-treated (Control), HBO-treated, CO-treated, CO+Air-treated and CO+HBO-treated gruop. *P<0.01 (N=7) vs Control. The data represent the mean±S.D..

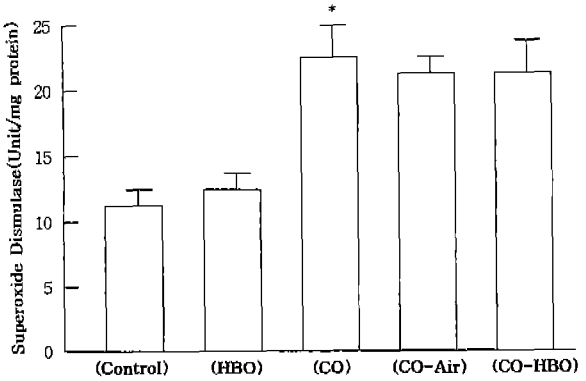

Fig. 3. Superoxide dismutase activity in the heart of the Air-treated (Control), HBO-treated, CO-treated, CO+Air-treated and CO+HBO-treated group. *P<0.01 (N=7) vs Control. The data represent the mean±S.D..

(Fig. 3).

고 찰

고압산소 요법은 일산화탄소 중독, 감압병, 가스괴저, 혐기성 세균 감염, 만성 골수염 및 방사선 조사에 의한 가스괴저 등의 질환에 광범위하게 사용되고 있다(Myers와 Schnitzer, 1985; Gerald, 1986). 특히 우리나라에서는 1980년대 중반까지도 연간 일산화탄소 중독 환자가 약 100만명, 사망자가 약 3,000명이 발생하는 것으로 보고되고 있어, 이에 따른 고압산소 요법의 사용 빈도도 높아지고 있는 실정이다. 일산화탄소 중독에 의한 생체의 손상은 조직의 산소 이용 능력의 상실로 오는 조직 저산소증에 의하여 모든 장기에 다양한 조직 병변을 나타낼 수 있다. 특히 저산소증에 대한 감수성이 예민한 간장, 심장, 폐장 및 신장 등의 장기에 심각한 병변을 유발하는 것으로 알려져 있다(Fukuki 등, 1987). 일산화탄소 폭로후에는 뇌의 광범위한 영역에 손상을 가져오며(Okeda 등, 1981; Okeda 등, 1982) 이러한 일산화탄소 중독 치료에 고압산소 요법이 오늘날 최선의 치료 방법으로 이용되고 있다. 일산화탄소 중독에 대한 고압산소 요법은 3기압 100% 산소를 사용하고 있고 고압산소 치료의 기전은 혈색소로부터 일산화탄소를 해리하여 산소운반 능력을 회복하여 조직에 이르러서는 반대로 산소의 해리, 이용을 촉진하는 농도 효과와, 혈장 속에 더 많은 산소를 용해, 운반케 하는 압력 효과, 그리고 hemoglobin-CO complex를 분해하여 조직의 산화를 회복시키는 약리 효과 등 세가지로 설명된다(David와 Hunt, 1977).

호기성 세포에서는 superoxide radical, hydroxyl radical 및 hydrogen peroxide가 발생될 수 있으며 어떤 유해물질이나 약물 등에 폭로되었을 때나 병적 상태에서는 이들이 과다하게 생성되어 지질 과산화반응, 단백질 파괴, 염색체 이

상 및 적혈구 파괴 등 조직에 치명적인 손상을 입힐 수 있다(Goldberg와 Stern, 1977; Simon 등, 1981; Moody와 Hassan, 1982; Junqueira 등, 1986). 간장이나 신장의 허혈시에는 조직내의 adenosine triphosphate(ATP) 감소와 ATP 분해산물인 adenosine, inosine 및 hypoxanthine의 증가를 초래하며 hypoxanthine의 축적에 의하여 매우 반응적인 oxygen free radicals인 superoxide radical, hydroxyl radical 및 hydrogen peroxide가 생성되어 사립체, 용해소체막 및 원형질막의 지질 과산화반응을 통한 세포 손상을 야기시킨다(Paller 등, 1984). 한편 정상적으로 조직은 내인성 제거제(endogenous scavengers)를 함유하고 있어 oxygen free radicals 손상에 대해 방어적으로 작용하고 있어(Chance 등, 1979; Wendel과 Feuerstein, 1981) 비정상적으로 증가하는 oxygen free radicals의 제거를 위하여 그 활성도가 높아지는 것으로 알려져 있다(Paller 등, 1984; Wasil 등, 1987). 이러한 제거제로서는 superoxide radical 제거제로는 superoxide dismutase, hydroxyl radical 제거제로는 alpha-tocopherol(vitamin E), dimethylthiourea, dimethylsulphoxide, ascobate, histidine 및 tryptophan 등, hydrogen peroxide 제거제로는 catalase와 glutathione peroxidase 등이 있고 허혈동안에는 제거제의 공급이 고갈된다(Pallor 등, 1984; Wasil 등, 1987). 이러한 oxidative stress가 주로 영향을 미치는 장기는 폐와 중추 신경계이며(Halliwell과 Gutteridge, 1984), 특히 중추 신경계의 손상이 쉽게오는 이유는 뇌의 세포막에 많은 불포화 지방산을 함유하고 있으며 항산화효소의 활성도가 미약하고, 산소유리기 반응에 중요한 역할을 하는 Fe^{2+}가 뇌손상후 많이 방출된다는 것 등이다(Packer와 Glazer, 1990). Catalase는 다수의 과산화수소 생성효소들과 복합체를 형성하여 peroxisomes에 주로 분포하여(Chance 등, 1979) 과산화수소를 물과 산소로 분해함으로써 과산화수소 증가에 따른 조직손상을 방어하는 효과가 있다고 하였다(Frank와 Massaro, 1980). 한편 방사선 조사나 약물 투여 등 생체내에서의 oxygen free radicals 생성을 증가시키는 조건에서 catalase 활성도가 증가되며, 또한 catalase를 투여하면 oxygen free radicals의 과다생성으로 인한 조직손상을 방어할 수 있다고 하였다(Gutteridge 등, 1983; Yoshikawa 등, 1983). SOD는 hydrogen ion과 superoxide radical이 반응하여 과산화수소로 전환시키고 과산화수소는 catalase에 의해 물과 산소로 분해됨으로써(Baud와 Ardaillou, 1986) superoxide radical와 과산화수소 증가에 따른 조직손상을 방어하는 효과가 있고, superoxide radical와 과산화수소와의 반응이 생기지않아 hydroxyl radical의 생성이 차단되어 hydroxyl radical 증가에 따른 조직손상을 방어하는 효과가 있다고 하였다 (Frank와 Massaro, 1980). 한편 oxygen free radicals에 의한 심장 독성에 대하여 Miura 등 (1997)은 고양이 심장에서 단기간의 허혈후 oxygen free radicals가 생겨 myocardial stunning과 심장으로 가는 교감신경의 neuronal stunning이 생긴다고 보고하였다. 또한 심장허혈후 oxygen free radicals가 증가되어 지질 과산화반응이 생겨 심근손상이 생긴다고 하였다(Myers 등, 1985; Hoshida 등, 1993). Griffin 등(1988)은 항암제인 adriamycin이 사립체와 세포질세망의 막을 구성하는 불포화 지방산을 과산화시켜 형태와 기능의 장애를 일으킨다고 하였으며, 이러한 과산화에 superoxide radical, hydroxyl radical, hydrogen peroxide 및 철이온이 관여하고 약제의 심장에 대한 독작용은 막지질의 과산화와 관련이 있다고 하였다.

Thom(1990)은 일산화탄소 폭로후 2 또는 3기압의 100% 산소를 투여한 실험군보다 대기나 1기압의 100% 산소를 투여한 실험군의 뇌에서 MDA 발생이 증가되었다고 하였으며, 이를 근거로 일산화탄소 중독의 경우 고압산소 치료가 뇌에서 지질 과산화반응을 적게 유발 시킨 것으로 결론지었다. 그러나 일산화탄소 폭로가 심장에 미치는 영향에 대해서는 보고된 바가 없으나 본 실험에서는 일산화탄소 폭로로 MDA 함량이 증가하였는데 이는 불포화 지방산의 지질 과산화반응을 통한 심근손상을 의미한다. 이러한 과산화에 superoxide radical과 hydroxyl radical이 관여하고 일산화탄소 중독의 심장에 대한 독작용은 막지질의 과산화와 관련이 있는 것으로 사료된다. 한편 catalase와 SOD 활성도는 증가하였는데 이는 일산화탄소 중독에 의한 심장 독성의 한 작용기전으로 oxygen free radicals가 주요인자로 작용함을 보여준 것이다. 일산화탄소 폭로로 catalase와 SOD 활성도가 증가된 것은 oxygen free radicals의 증가로 인한 지질 과산화반응의 촉진을 감소시켜 심근손상을 감소시키기 위한 체내 항상성으로 사료된다. 일산화탄소 폭로후 대기 및 고압산소 투여한 군에서 일산화탄소 폭로한 군보다 MDA 함량이 감소하였고 일산화탄소 폭로후 고압산소 투여한 군에서 일산화탄소 폭로후 대기 투여한 군보다 MDA 함량이 더 감소하였으므로 일산화탄소 폭로후 고압산소 요법이 oxygen free radicals 증가로 인한 지질 과산화반응을 효율적으로 억제하는 것으로 사료된다. 그러나 catalase와 SOD 활성도는 일산화탄소 폭로후 고압산소 투여한 군과 일산화탄소 폭로한 군 사이에 유의한 차이점이 없었으므로, 체내 장기별로 차이가 있는 것인지 아니면 다른 이유가 있는지 등에 대한 더 깊은 연구가 필요하다고 사료되며, 일산화탄소 폭로후 심장 손상의 회복에 대한 한 지표로서 catalase와 SOD 활성도보다 MDA 함량이 더 관련이 있는 것으로 예측된다.

감사의 말씀

본 연구는 1997년도 교내 연구비 지원에 의하여 수행하였기에 감사드립니다.

참고문헌

Baud, L. and Ardaillou, R. (1986). Reactive oxygen species; Production and role in the kidney. *Am. J. Physiol.* **251**, F 765-F776.

Chance, B., Sies, H. and Boveris, A. (1979). Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev.* **59**, 527-605.

Cho, Y. J. and Cho, K. C. (1993). Effects of cisplatin on free radical scavenging enzymes and inhibitions of cisplatin-induced nephrotoxicity by free radical scavengers. *J. Cath. Med. Coll.* **46**, 753-762.

Cohen, G., Dembiec, D. and Marcus, J. (1970). Measurement of catalase activity in tissue extracts. *Analyt. Biochem.* **34**, 30-38.

Davis, W. B. and Hunt, T. K. (1977). Hyperbaric oxygen therapy. Undersea Medical Society, Maryland.

Fantone, J. C. and Ward, P. A. (1985). Polymorphonuclear leukocyte-mediated cell and tissue injury: oxygen metabolites and their relations to human disease. *Human. Pathol.* **16**, 973-978.

Frank, L. and Massaro, D. (1980). Oxygen toxicity. *Am. J. Med.* **69**, 117-126.

Fukuki, Y., Alane, A. and Takahashi, S. (1987). Derivative spectrophotometric studies on cytotoxic effects of carbon monoxide. Foresic. Sci. Int. **33**, 75-82.

Gerald, H. C. (1986). Hyperbaric oxygen therapy. *Postgrad. Med.* **79**, 89-92.

Goldberg, B. and Stern, A. (1977). The role of the superoxide anion as a toxic species in the erythrocyte. *Arch. Biochem. Biophys.* **178**, 218-225.

Griffin, G. E. A., Zaleska, M. M. and Erecinska M. (1988). Adriamycin-induced lipid peroxidation in mitochondria and microsomes. *Biochem. Pharmacol.* **37**, 3071-3077.

Gutteridge, J. M. C., Beard, A. P. C. and Quinlan, G. J. (1983). Superoxide-dependent lipid peroxidation; Problems with the use of catalase as a specific probe for Fenton-derived hydroxyl radicals. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **117**, 901-907.

Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (1984). Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy. *Lancet* **23**, 1396-1397.

Hoshida S., Kuzuya T., Yamashita N., Oe H., Fuji H., Hori M., Tada M. and Kamada T. (1993). Brief myocardial ishemia affects free radical generating and scavenging systems in dogs.

Junqueira, V. B. C., Simiz, K., Videla, L. A. and Barros, S. B. M. (1986). Dose-dependent study of the effects of acute lindane administration on rat liver superoxide anion production, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation. *Toxicology* **41**, 193-204.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.

Marklund, S. and Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* **47**, 469-474.

Miura, H., Morgan, D. A. and Gutterman, D. D. (1997). Oxygen-derived free radicals contribute to neural stunning in the cannine heart. Am. *J. Physiol.* **273**, H1569-H1575.

Moody, C. S. and Hassan, H. M. (1982). Mutagenicity of oxygen free radicals. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **79**, 2855-2859.

Myers, M. L., Bolli R., Lekich, R. F., Hartley, C. J. and Roberts, R. (1985). Enhanced of recovery of myocardial function by oxygen free radical scavengers after reversible reginal ischemia. Circulation **72**, 915-921.

Myers, R. A. and Schnitzer, B. M. (1984). Hyperbaric oxygen use. *Postgrad. Med.* **76**, 83-95.

Okeda, R., Funata, N., Song, S. J., Higashino, F., Takano, T. and Yokoyama, K. (1982). Comparative study on pathogenesis of selective cerebral lesions in carbon monoxide poisoning and nitrogen hypoxia in cats. *Acta. Neuropathol.* **56**, 265-272.

Okeda, R., Funata, N., Takano, T., Miyazaki, Y., Higashino, F., Yokoyama, K. and Manabe, M. (1981). The pathogenesis of carbon monoxide encephalopathy in the acute phase-physiological and morphological conditions. *Acta. Neuropathol.* **54**, 1-10.

Packer, L. and Glazer, A. N. (1990). Oxygen radicals in biologic system. Academic Press, San Diego.

Paller, M. S., Hoidal, J. R. and Ferris, T. F. (1984). Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J. Clin. Invest.* **74**, 1156-1164.

Shah, S. V., Cruz, F. C. and Baricos, W. H. (1983). NADPH-induced chemiluminescence and lipid peroxidation in kidney microsomes. *Kidney International* **23**, 691-698.

Simon, R. H., Scoggin, C. H. and Patterson, D. (1981). Hydrogen peroxide causes the fatal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals. *J. Biol. Chem.* **256**, 7181-7186.

Thom, S. R. (1990). Antagonism against carbon monoxide mediated brain lipid peroxidation by hyperbaric oxygen. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **105**, 340-344.

Wasil, M., Halliwell, B., Grootveld, M., Moorhouse, C. P., Hutchison, D. C. S. and Baum H. (1987). The specificity of thiourea, dimethylthiourea and dimethylsulphoxide as scavengers of hydroxyl radicals. *Biochem. J.* **243**, 867-870.

Weiss, S. J. (1986). Oxygen, ischemia and inflammation. *Acta. Physiol. Scand.* **548**, 9-37.

Weiss, S. J. and Lobuglio, A. F. (1982). Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Lab. Invest.* **47**, 5-18.

Wendel, A. and Feuerstein, S. (1981). Drug-induced lipid-peroxidation in mice-1; Modulation by monoxygenase activity, glutathione and selenium status. *Biochem. Pharmacol.* **30**, 2513-2520.

Yoshikawa, T., Murakami, M., Yoshida, N., Seto, O. and Kondo, M. (1983). Effects of superoxide dismutase and catalase on disseminated intravascular coagulation in rats. *Thromb. Haemostas.* **50**, 869-872.