

Xanthine Oxidase에 의한 급성 허혈성의 뇌손상기전과 Allopurinol의 효과에 대한 실험적 연구*

이화여자대학교 의과대학 신경외과학교실

신 규 만

이화여자대학교 의과대학 신경내과학교실

최 경 규

= Abstract =

The Pathogenesis of the Brain Injury by the Xanthine Oxidase and the Effect of Allopurinol on the Acute Focal Ischemia

Kyu Man Shin

Department of Neurosurgery, College of Medicine, Ewha Womans University

Kyng Kyu Choi

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Ewha Womans University

The purpose of this study was to demonstrate the effect of allopurinol on ischemia and reperfusion-induced cerebral injury and to investigate the importance of xanthine oxidase (XO)-linked free radical in cerebral injury. Acute focal cerebral ischemia was induced by occlusion of the left middle cerebral artery (MCA). The experimental animals were divided into three groups. The group I was the sham control and group II the cats of 4-hour occlusion and recirculation. The group III, the treatment group, was given allopurinol (50mg/kg) of peritoneal injection 2 hours prior to the occlusion of the MCA. The brain tissue of left MCA territory was removed, and homogenate was made. Supernatant and cytoplasm were obtained by centrifuge 30min at 3,000rpm (4°C), and recentrifuge 20min at 11,000rpm (4°C), respectively. XO activities were measured in all samples by spectrophotometer. The XO activities was increased in group II, allopurinol significantly suppressed the XO activities in group III. It suggested that the XO may play important role in the pathogenesis of ischemic injury of cat brain and allopurinol could be used as therapeutic agents in the clinical field of the focal cerebral ischemic patients.

서 론

그간 실험적 연구들¹⁾²⁾에 의하면 국소 뇌혈류

량이 12cc/100gm/min 이하로 2시간 이상 지속되
거나, 중대뇌동맥(MCA)이 완전히 폐쇄된 상태에
서 뇌혈류량이 17~18cc/180gm/min 이하이면 큰

*본 논문의 요지는 1990년도 이화여자대학교 교수연구기금으로 이루어졌음.

뇌조직 손상이 발생된다. 허혈성 부종의 초기에는 세포독성 부종, 후기에는 혈관인성 부종의 연합으로 발생된다^{3~6)}. 세포독성 부종은 동맥폐쇄후 30분부터⁵⁾ 시작하여 두세시간 계속 되며 이후 3~6시간후에는 혈액-뇌 관문의 내피세포손상으로 혈관인성 부종으로 진행된다. 허혈로 인한 일차적 뇌조직 손상은 energy 대상 장애이나, 완전 허혈상태가 불완전 허혈상태보다 재관류시 energy 대상장애가 덜하다는 보고들^{7~9)}은 허혈로 인한 뇌조직손상의 또 다른 기전이 관여함을 암시한다. 1980년 Demopoulos등¹⁰⁾은 허혈성 뇌손상은 병인론에 유리기들이 연루되어 있음을 시사한 후 허혈로 인한 유리기 반응에 의한 지방과산화등으로 뇌손상의 기전을 밝히려는 연구들이 지속되어 오고 있다. 최근 학자들은¹¹⁾ 유리기들의 발생근원으로서 xanthine oxidase (XO)에 초점이 맞추어지고 있다. XO는 허혈로 인하여 purine의 nucleotides의 이화과정을 통한 산물인 hypoxanthine, xanthine을 요산으로 분해한다. 장기의 허혈성 손상, 저혈량증성속, 신장이식 및 피부이식후 허혈성 조직손상에 이 효소가 중요히 연루되어있음이 실험적으로 발표되었고¹²⁾, 뇌속에 xanthine과 XO 혼합물을 주사한 실험결과 뇌부종 발생¹³⁾과 내피세포 용해로 혈액-뇌 관문 기능의 파괴¹⁴⁾가 관찰되었다. 요산증가로 발생하는 동통질환의 치료제인 allopurinol은 XO 억제제로서 허혈성 조직손상을 개선시킬 수 있음이 실험적으로 증명되어 오고 있다^{15~19)}. 그러나 뇌조직 특히 포유류 뇌조직내 XO 존재에 대하여 학자들은 의견이 일치되지 못한 상태이며, 이 효소에 의한 허혈성 뇌조직손상 기전과, allopurinol의 치료효과에 대하여도 충분히 밝혀져 있지 않은 실정이다. 더욱이 XO는 허혈후 재관류시 산소분자로부터 과산소기와 과산화수소기의 유리기들을 방출하여 이러한 유리기들에 의하여 조직이 손상된다¹²⁾.

이에 저자는 고양이의 좌측 MCA를 4시간 폐쇄후 4시간 재관류를 행할 수 있는 실험모형을 이용하여, 고양이의 뇌조직 내 및 급성국소 허혈상태시의 뇌조직내 XO 활성도를 관찰하였으며, 동맥 폐쇄전 allopurinol을 투여후 급성국소허혈상태에 대한 약제의 치료효과를 관찰하기 위해 뇌조직내 XO 활성도를 관찰하여, 향후 허혈성 뇌졸중

환자의 치료에 응용할 수 있는 밑거름이 되고자 본 실험을 수행하였다.

실험재료 및 방법

1. MCA 폐쇄 수술 및 실험군 분류

실험동물은 체중 3.0~4.0kg의 성숙한 잡종고양이 18마리로 체중 kg당 ketamine hydrochloride 15 mg을 근육주사한 전신마취상태에서 실험대위에 고정 후 기관절개부를 통하여 분당 30회로 호흡을 유지하였다. 고양이의 체온을 36~8°C를 유지시키면서 실험중 동맥혈내의 산소 및 이산화탄소 분압을 측정하였다. 후안와절근법으로 좌측 안각의 5mm 후방안와돌기위의 피부를 절개후 안면신경의 안와분지를 이동시킨후 근막과 근육으로부터 분리하여 상하의 안와돌기들과 관골궁의 상부 절반을 제거하였다. 천측두근 일부를 절제후 측두근 심부 앞부분을 측두골로부터 하악골 구상돌기에 인접된 부위에 절제하여 안와근막내의 눈과 측상방의 누선과 안근막주위의 지방으로 구성된 안와내용물의 측방부를 완전히 시야에 노출시킨후 안와중위 지방내에서 안근막을 절개되지 않도록 주의하면서 눈을 부드럽게 견축하고 익돌근의 내측부를 절형골악으로부터 이동시켜서 시신경공의 측상부를 약 6mm 크기의 골절제술을 시행한후 경막을 절개하여 뇌지주막을 박리하고 MCA 기시부를 5×1.7 mm의 heifetz 협자로 협자술을 시행하여 혈류를 차단시켰다. 상기와 같이 MCA 기시부를 노출시키고 협자술을 시행하지 않은 실험동물을 수술대조군 (제 I군), 4시간 중대뇌동맥폐쇄후 4시간 재관류시킨군을 비치료군 (제 II군) 그리고 0.5% allopurinol, 3% mannitol을 0.125 mole/l NaOH와 혼합물을 체중 kg당 50mg을 동맥폐쇄 2시간전에 복강내로 주입후 제 II과같이 시행한군을 치료군 (제 III군)으로 분류하였다(도 1).

2. 뇌 균등액과 추출물

1) 뇌 균등액

고양이 뇌 1g을 Tris-Hcl buffer (0.05M, pH 8.1) 4ml가 들어있는 균등액 시험관에 옮겨 4°C 냉수욕조통에서 1분간 초자마쇄하여 20% 균등액을 만들었다.

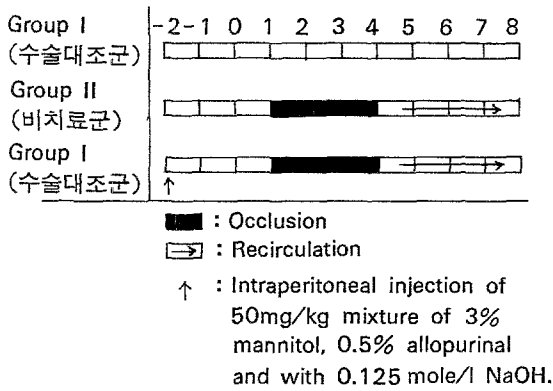


Fig. 1. Experimental group according to occlusion and recirculation of middle cerebral artery, and treatment.

2) 뇌 추출물

20% 균등액과 이를 4°C에서 3,000rpm으로 30분간 원심분리하여 상층액을 얻었고 또 더 분할하기 위해 3,000rpm 원심분리에서 얻은 상층액은 다시 4°C에서 11,000rpm으로 20분간 원심분리하여 다시 상층액을 얻었다.

3) 효소측정

Xanthine oxidase activity는 pterine을 기질로 사용하여, 형광물질인 isoxanthopterin을 생성한 양을 측정하는 분광형광광도계 방법으로 하였으며, 본 실험에 사용된 분광형광광도계는 Shimadzu RF-510을 사용하였다. Pterine은 excitation wavelength 360nm, emission wavelength 440nm에서 fluorescence 최고치를 보였으며, isoxanthopterin은 excitation wavelength 345nm, emission wavelength 405nm에서 fluorescence 최고치를 보였는데,

pterine의 fluorescence 최고치와의 중복을 최소화하기 위해, 생성된 isoxanthopterin의 형광은 excitation wavelength 345nm, emission wavelength 390nm에서 측정하였다. 측정혼합물은 H₂O 1,000ml, 1mM pterine 40ml, Tris-HCl buffer (0.05M, pH 7.8) 1,000ml로 구성된 기질 혼합물 150μl와 enzyme preparation(sample) 60μl를 사용하였고, 측정혼합물은 50°C 수조에서 30분간 반응을 시켰다. 반응후 반응을 멈추기 위한 Acetate buffer (0.1M, pH 5.3) 3ml를 추가하였다. 생성된 isoxanthopterin 형광은 반응이 끝나고, 30분후에 읽었다. Isoxanthopterin 농도는 standard isoxanthopterin 농도와 fluorescence intensity간의 그래프에서 계산되었다. 최종적인 Xanthine oxidase activity는 pM isoxanthopterin formation/hr/ml sample로 표현되었다.

실험 성적

본 연구의 실험대조군 및 각 실험군에서 20% 뇌 균등액 (homogenate), 균등액을 3,000rpm으로 원심분리하여 세포막과 핵을 침전시킨 상층액 (supernatant) 즉 뇌사립체와 세포질 그리고 균등액 11,000rpm으로 원심분리하여 세포막, 핵, 과사립체를 침전시킨 상층액 즉 세포질내에서의 XO 활성수치는 Table 1 그리고 Table 2, Table 3 및 Table 4에서와 같다.

1. 20% 균등액에서 XO 활성도의 변화

수술대조군 즉 제 1군의 XO 활성도는 1213.3±295.6pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample, 제 2군에서는 1580.5±160.6pM isoxanthopterin

Table 1. Xanthine oxidase activity in cat brain

Sample	Group I (sham control)	Group II (no treatment)	Group III (treatment)
20% Homogenate	1213.3±295.6	1580±160.0*	719.8±353.8*
3,000rpm supernatant	517.3±334.5	596.2±158.8	92.5±69.8**
11,000rpm supernatant	465.4±342.2	585.1±1812.6	75.6±37.3**

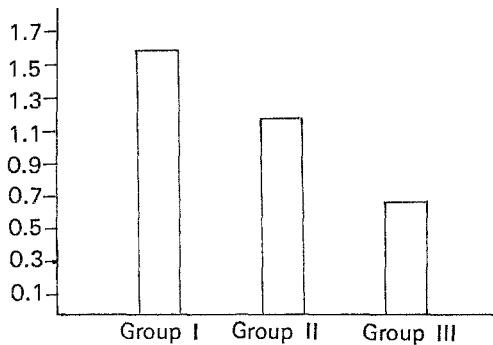
All values expressed as pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample, are mean ± standard errors.

● : Different between group I and group II with 0.020>p>0.01

* : Different between group II and group III with 0.020>p>0.01

** : Different between group II and group III with 0.010>p>0.001

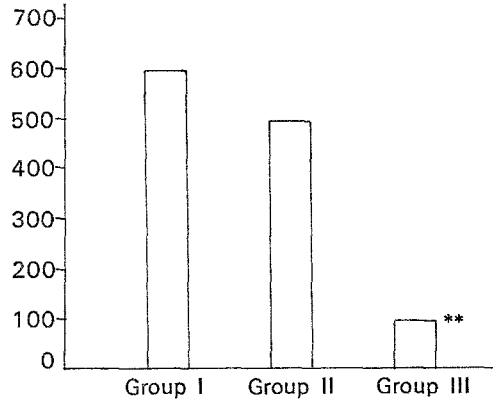
unti : pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample



● : Different between group I and group II with $0.020 > p > 0.01$
 * : Different between group II and group III with $0.020 > p > 0.01$

Fig. 2. Xanthine oxidase activity in the 20% homogenate of experimental groups.

unti : pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample



** : Different between group I and group III with $0.010 > p > 0.001$

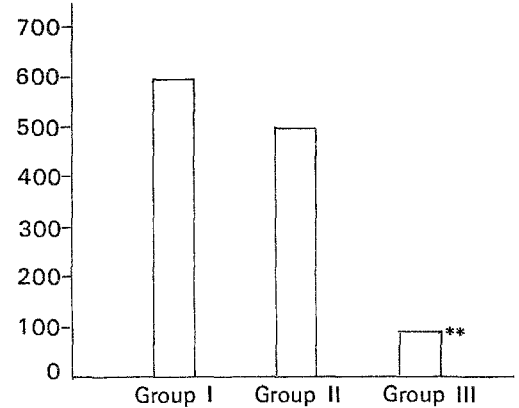
Fig. 3. Xanthine oxidase activity in 1,100rpm supernatant of experimental group.

formation/hr/ml/sample으로 제 1군보다 22% 의의있게 증가하였으며, 제 3군에서는 719.8 ± 353.8 pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample로서 제 2군보다 46% 의의있게 저하되었다.

2. 뇌사립체와 세포질내에서의 XO 활성도의 변화

제 1군의 XO 활성도는 517.3 ± 334.5 pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample, 제 2군에서는 596.2 ± 158.8 pM isoxanthopterin formation/hr/ml

unti : pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample



** : Different between group I and group III with $0.010 > p > 0.001$

Fig. 4. Xanthine oxidase activity in 3,000rpm supernatant of experimental groups.

/sample로서 제 1군보다 15% 증가되었으나 통계학적으로 의의는 없었다. 제 3군에서는 92.5 ± 69.8 pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample로서 제 1군에 비하여 16% 의의있는 감소를 보였다.

3. 세포질내에서의 XO 활성도의 변화

제 1군에서 465.4 ± 345.2 pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample, 제 2군에서는 585.1 ± 182.6 pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample으로 제 1군보다 26% 의의있게 증가하였으며, 제 3군에서는 제 2군보다 13% 의의있게 감소하여 75.6 ± 37.3 pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample를 보였다.

총괄 및 고안

XO는 체내 모든 조직속에 균등하게 분포되어 있지 않다. 간과 장의 점막에서 이 효소의 활성도가 가장 높고 뇌조직에는 이 효소의 활성도는 거의 없거나 매우 낮은 것으로 알려져 있다²⁰⁻²². Betz등은²³ 뇌의 XO 활성도는 뇌의 모세혈관내에 존재한다고 보고하였으나, 최근 소의 뇌에서 면역조직학적 방법을 이용하여 연구결과 뇌 모세혈관에서 이 효소는 검출되지 않았다²⁴. 따라서 현재까지 뇌조직내의 XO 효소의 존재여부에 대하여 논쟁으로 남아 있다. 장기의 허혈상태시 XO에

의하여 과산화유리기가 발생되어 혈관벽을 손상시키는 즉 허혈성으로 인한 손상에 대한 매우 중요한 병인론적 역할을 하는 것으로 밝혀진 후²⁵⁾ 1980년 Demopoulos 등¹⁰⁾은 뇌의 허혈성 손상발생 기전은 유리기작용에 의한 것이라 시사후 뇌의 허혈성 손상에 대하여 많은 학자들은¹¹⁾ 유리기 발생의 근원으로 XO가 주목을 끌기 시작하였으며 이 효소의 활성도의 변화를 추구하기 시작하였으나, 아직도 미미한 실정이다. XO는 과산화기와 과산화수소같은 산화제의 근원으로서 hypoxanthine을 xanthine으로 또 xanthine을 요산으로 이화작용의 촉매제로서 작용하며 체내에는 NAD(nicotinamide adenine dinucleotide)-dependent dehydrogenase, 즉 type D와 oxygen-dependent superoxide-producing oxidase, 즉 type O의 두가지 형태로 존재하는데, 정상생리학적 상태에서는 전자인 type D 형태의 효소가 후자에 비해 월등히 우세하게 존재한다²⁶⁾. ATP 생산이 충분하지 못하게 산소를 공급할 정도의 허혈상태가 발생하면 세포의 energy 대전이 저하되어 세포막간의 적절한 ion의 전기차가 이루어지지 않아 세포내의 Ca^{2+} 함량이 증가하게 되어 protease를 활성화시켜 dehydrogenase를 oxidase로 전환시킨다²⁷⁾. 동시에 세포내 ATP가 고갈되면 ATP는 이화과정으로 즉 nucleotides는 adenosine과 inosine과 같은 nucleocides 및 adenine과 hypoxanthine등 즉 purine 염기로 분해된다. Hypoxanthine 뿐만 아니라 xanthine은 xanthine dehydrogenase 또는 oxidase에 대한 산화되어지는 purine 기질로 이용된다. 그러나 허혈상태로 인하여 조직내 XO의 활성이 증가하고 조직의 재관류로 인하여 공급되는 산소분자는 이 효소의 활성유지의 기질로 이용되어 과산화기와 과산화수소기를 생산하여 병리적 유리기 반응으로 허혈부위의 뇌조직을 손상시킨다. 실험적으로 XO는 장의 허혈성손상, 저혈량증성 속, 신장이식 및 피부이식에 중요한 병인론적 요소로 보고되어 오고 있다²⁴⁾. 이와 더불어 XO가 허혈로 인한 조직의 손상이 주병인론 요소라면 이 효소를 특이적으로 억제하는 allopurinol은 허혈성 조직손상을 개선할 수 있다는 보고들이 논증되어 오고 있다^{15~19)}.

이에 저자들은 고양이의 MCA 기시부를 4시간 급격히 폐쇄하여 급성국소허혈상태를 유발시킨후

4시간 재관류를 시행한 실험모형을 설정하여, 실험대조군, 허혈후 재관류 즉 제 2군과 동맥폐쇄전 allopurinol을 투여한 제 3군에서 XO 활성수치를 측정하여, 고양이의 허혈성 뇌손상에 대한 이 효소의 병인적 요소에 대한 증명과 allopurinol의 치료효과를 논증할 목적으로 본 실험을 수행하였다. 저자들의 실험대조군 즉 제 1군의 20% Homogenate 3,000rpm과 11,000rpm 원심분리후 상청액의 xanthine oxidase 활성도는 각 1231.3 ± 295.6 pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample, 517.3 ± 334.5 pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample 과 465.4 ± 345.2 pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample로서 측정되어 고양이의 뇌조직에 xanthine oxidase가 있음을 입증하였다. 그러나 전세포, 사립체와 세포질 및 세포질내에 이 효소 함유량의 수치차이에 대하여는 본 실험만으로 설명할 수 없었다. 실제 아직까지 뇌조직내에 XO의 존재여부는 아직까지 확실치 않으며, 일반적으로 포유동물의 뇌조직에는 XO로 존재하지 않는 것으로 알려져 있다²⁸⁾. 그러나 Al-Khalidi와 Chaglassia²⁰⁾은 뇌에 소량의 이 효소가 있다고 보고하였고 Vilela²²⁾도 몇몇의 포유동물에서 이 효소의 존재자료는 발표하였으며, 1989년 Nihei 등²⁹⁾도 쥐 뇌조직에서 hypoxanthine, xanthine과 요산을 allopurinol 치료군, 비치료군 및 대조군에서 측정하여 XO가 있음을 간접적으로 증명하였다. Chan 등¹³⁾은 hypoxanthine과 XO 혼합물을 실험적으로 대뇌에 주입한 결과 지질과산화 부종 및 종창이 발생하였음을 보고하였고 또 Beckman 등¹⁴⁾은 허혈성 뇌조직에서 형성된 것으로 믿어지는 다량의 XO를 첨가한 xanthine은 배양된 뇌피세포간벽기능을 파괴하였고 세포용해를 일으킴을 발표한 후, 그들은 XO에 의하여 형성된 유리기는 허혈성 뇌조직에 재관류 3~5 시간후에 혈관벽을 파괴하므로서 혈관인성 부종 발생을 야기시킨다고 가정하였다. 최근 Kanemitsu 등³⁰⁾들도 국소허혈실험 약 4시간후에 xanthine 농도가 최고치에 달하였다고 보고하였던바 저자들은 좌측 MCA 기시부 폐쇄후 4시간 재관류를 시행한후 좌측 MCA 영역의 뇌조직내에서 XO 활성도를 측정한 결과 XO 활성도가 허혈후재관류시킨 제 2군의 20% 군등에서 제 1군보다 22% 의의있게 증가하였고 3,000rpm

supernatant 및 11,000rpm에서 각각 15%, 26% 증가하였으며, 특히 allopurinol 치료군인 제 3군에서는 비치료군에 비해 각각 46%, 16% 그리고 13% 의의있는 저하를 보인 사실을 허혈로 인하여 고양이의 뇌조직은 손상을 XO에 의한 과산화기와 과산화수소기의 유리기들이 생산되는 이러한 병리적 유리기 반응에 의한 것으로 풀이되었고, allopurinol은 XO 반응을 억제하여 허혈로 인한 뇌조직 손상을 방지하였던 것으로 사료된다. 인체의 좌상상태의 뇌에서 요산이 증가가 확인된 보고²⁹⁾로 미루어 보아 인체내에 XO가 존재하고 이 효소가 여러 병적상태에서 유리기 발생에 중요한 역할을 하는 것으로 생각되면 본 저자들의 실험연구 결과와 더불어 고려하면 allopurinol은 특별히 인체의 허혈성 뇌부종에서 뇌손상을 경감시키는 치료제로서 향후 임상에서 응용될 수 있을 것으로 사료되는 바이다.

결 론

뇌허혈상태가 발생하면 ATP 생산이 중지되고 고-energy는 고갈되어 energy 전위는 떨어져 세포막간의 ion의 전위차가 유지되지 못하여 세포질내 Ca^{2+} 농도가 증가하게 되어 protease를 활성화시켜 조직내의 xanthine dehydrogenase를 xanthine oxidase로 전환시킨다. xanthine oxidase는 허혈상태로 인하여 고-energy 분해작용으로 인한 hypoxanthine, xanthine과 재관류시 산소분자를 이질로 이용하여 과산화기 및 과산화수소등의 유리기를 발생시켜 유리기반응에 의하여 세포막의 과산화, 부종과 종창을 초래하여 결국 혈액-뇌 관문을 파괴하여 허혈발생 수시간 후에는 혈관인성 부종이 발생하여 뇌조직이 비가역적 상태로 심히 손상되고 만다. 뇌조직내에 xanthine oxidase의 존재여부 특히 포유동물 뇌조직내의 이 효소의 존재여부는 논란중이나, 최근 인체의 좌상을 잃은 뇌에서 요산량이 증가가 확증된 사실은 뇌조직의 병적상태시 xanthine oxidase가 유리기들을 발생하여 이러한 유리기 반응에 의하여 뇌조직이 손상되는 기전으로 사료되어, 이에 저자들은 고양이의 중대 뇌동맥을 4시간 폐쇄후 4시간 재관류시키는 실험모형을 이용하여, 수술대조건

비치료군과 동맥폐쇄전 allopurinol을 투여한 치료군으로 분류하여 각 군들에서 20% 균등액, 20% 추출물을 3,000rpm으로 30분간 원심분리한 상층액과 11,000rpm에서 20분간 원심분리한 상층액에서 xanthine oxidase 활성치를 pterine을 기질로 사용하여 형광물질인 isoxanthopterin을 생성한 양을 측정하는 분광형광비색계 방법으로 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 20% 균등액의 xanthine oxidase 활성도의 변화

제 1군의 xanthine oxidase 활성치는 1213.3 ± 295.6 pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample, 제 2군에서는 1580.5 ± 160.6 pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample으로 제 1군에 비하여 22% 증가하였고, 제 3군에서는 719.8 ± 353.8 pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample으로 제 2군에 비하여 46% 의의있게 감소하였다.

2) 뇌사립체와 세포질내에서의 xanthine oxidase 활성도의 변화

제 1군에서는 517.3 ± 334.5 pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample, 제 2군에서는 596.2 ± 158.8 pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample 그리고 제 3군에서는 92.5 ± 69.8 pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample로서 제 2군은 제 1군에 비하여 15% 증가하였고, 제 3군은 제 2군보다 16% 의의있게 감소하였다.

3) 세포질내 xanthine oxidase 활성도의 변화

제 1군에서 465.4 ± 345.2 pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample, 제 2군에서는 제 1군보다 26% 증가된 585.1 ± 182.6 pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample이었고, 제 3군에서는 75.6 ± 37.3 pM isoxanthopterin formation/hr/ml/sample으로 제 2군보다 13% 의의있게 감소하였다.

이상의 결과들은 허혈성 뇌조직의 손상은 xanthine oxidase가 재관류때 산소분자와 energy 대사산물인 hypoxanthine 및 xanthine을 요산으로 분해하면서 과산화기와 과산화수소기등의 유리기를 발생하여 유리기 반응으로 종국에 혈액-뇌 관문이 붕괴되어 혈관인성 부종이 발생되어 뇌조직이 비가역적 손상을 초래하는 것으로 풀이되며, allopurinol이 xanthine oxidase 활성치를 저하시킨 사실을 향후 이 약제는 임상에서 허혈성 뇌손상을

방지 또는 치료제로서의 가능성을 시사해 주었다. 그러나 xanthine dehydrogenase가 xanthine oxidase로 전환은 세포질내의 Ca^{2+} 농도의 증가에 기인하는 기전을 고려할때, 향후 calcium 길항제 및 allopurinol의 각각 또는 병합투여후 xanthine oxidase의 활성도 변화와 병리조직적 검사소견에 대한 연구의 추구가 요망되는 바이다.

References

- 1) Crowell RM, Marcoux FW, Degirolami U : *Variability and reversibility of focal cerebral ischemia in unanesthetized monkeys. Neurology* 1989 : 31 : 1295-1302
- 2) Crowell RM, Olsson Y, Klatzo I, Ommayo A : *Temporary occlusion of the middle cerebral artery in the monkey : Clinical and pathological observations. Stroke* 1970 : 1 : 439-448
- 3) Osterholm JL : *Pathophysiological consequences of brain ischemia neurosurgery 1st ed, edited by wilkins RH and rengachary SS. New York, St. Lois, San Francisco, Auckland, Bogota, Guatemala, Hamburg, Johannesburg, Lisbon, London, Madrid, Mexico, Montreal, New Delhi, Panama, Paris, San Juan, Sga Paulo, Singapore, Sydney, Tokyo, Toronto, McCraw-Hill Bood Co* 1985 : 2 : 1185-1188
- 4) Siesjö BK : *Cerebral circulation and metabolism. J Neurosurg* 1984 : 60 : 883-908
- 5) Meyer FB, Anderson RE, Thoralf BS, Sundt JR, Yaksh TL : *Treatment of experimental focal cerebral ischemia with mannitol. J Neurosurg* 1987 : 66 : 109-115
- 6) Spetzler R, Nehls DG : *Cerebral protection against ischemia. Cerebral Blood Flow (Physiologic and Clinical Aspects) ed. Wood JH McGraw-Hill Bood Co. 1987 : (41) : 651-676*
- 7) Nordström CH, Siesjö BK : *Effects of phenobarbital in cerebral ischemia. Stroke* 1978 : 9 : 327-335
- 8) Nordström CH, Rehnrona S, Siesjö BK : *Effects of phenobarbital in cerebral ischemia. Part II : Restitution of cerebral energy state, as well as of glycolytic metabolities, citric acid cycle intermediates and associated amino acids after pronounced incomplete ischemia. Stroke* 1978 : 9 : 335-343
- 9) Nordström CH, Rehnrona S, Siesjö BK : *Restitution of cerebral energy state, as well as of glycolytic metabolism and associated amino acids after 30min of complete ischemia in rats anesthetized with nitrous oxide or phenobarbital. J Neurochem* 1978 : 30 : 479-486
- 10) Demopoulos HB, Flamm ES, Pietronigro DD, Seligman ML : *The free radical pathology and the microcirculation in the major central nervous system disorders. Acta Physiol Scand (Suppl)* 1980 : 492 : 91-119
- 11) McCord JM, Fridovich I : *Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). J Biol Chem* 1969 : 244 : 6049-6055
- 12) McCord JM : *Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. New Engl J Med* 1985 : 312 : 159-163
- 13) Chan PH, Schmidley JW, Fishman RA, Longars SM : *Brain injury, edema, and vascular permeability changes induced by oxygen derived free radicals. Neurology* 1984 : 34 : 315-320
- 14) Beckman JS, Eju TH, Hogan EL, Freeman BA, Hsu CY : *Oxygen free radicals and xanthine oxidase in cerebral ischemic injury in the rat. Soc Neurosci Abstr* 1987 : 13 : 1498
- 15) Chambers DE, Parks DA, Patterson G, Boy R, McCord JM, Yoshida S, Parmley LF, Downey JM : *Xanthine oxidase as a source of free radical damage in myocardial ischemia. J Mol Cell Cardiol* 1985 : 17 : 145-152
- 16) Crowell JW, Jones CE, Smith EE : *Effect of allopurinol on hemorrhagic shock. Am J Physiol* 1969 : 216 : 744-748
- 17) Cunningham SK, Keaveny TV : *Effect of a xanthine oxidase inhibitor on adenine nucleotide degradation in hemorrhagic shock. Eur Surg Res* 1987 : 10 : 305-313
- 18) Owens ML, Lazarus HM, Walcott MW, Maxwell JG, Taylor JB : *Allopurinol and hypoxanthine pretreatment of canine lidnes donors. Transplantation*

- 1974 : 17 : 424-427
- 19) Parks DA, Bulkley GB, Granger DN : *Role of oxygen derived free radicals in digestive tract diseases. Surgery* 1983 : 94 : 415-422
 - 20) Al-Khalidi UAS, Chaglassian TH : *The spectes distribution of xanthine oxidase. Biochem J* 1965 : 97 : 318-320
 - 21) Markley HG, Faillace LA, Mezey E : *Xanthine oxidase activity in rat brain. Biochim Biophys Acta* 1973 : 309 : 23-31
 - 22) Villela GGy *Xanthine oxidase activity in the brain. Experientia* 1968 : 24 : 1101-1102
 - 23) Betz AL : *Identification of hypoxanthine transport and xanthine oxidase activity in brain capillaries. J Neurochem* 1985 : 44 : 574-4779
 - 24) Jarasch E, Bruder G, Heid HW : *Significance of xanthine oxidase in capillary endothelial cells. Acta Physiol Scand (Suppl)* 1986 : 548 : 39-46
 - 25) Parks DA, Granger DN : *Ischemia-induced vascular changes : role of xanthine oxidase and hydroxyl radicals. Am J Physiol* 1983 : 245 : G285-289
 - 26) Della CE, Stirpe F : *The regulation of rat liver xanthine oxidase. Biochem J* 1972 : 126 : 739-745
 - 27) Meerson FZ, Kagan VE, Kozlov YP, Belkina LM, Arkhipenko YV : *The role of lipid peroxidation in pathogenesis of ischemic damage and the antioxidant protection of the heart. Basic Res Cardiol* 1982 : 77 : 465-485
 - 28) Siesjö BK : *Brain energy metabolism. Chichester. John Wiley & Sous* 1979 : 174-181
 - 29) Nihei H, Kanemitsu H, Oka H, Tamura A, Tomukai N, Sano K, Iriyama K, Iwamoto T, Yoshiura M : *Changes of cerebaral uric acid level in experimental cord injury of rat brain and contused brain of man. Uric Acid Res* 1987 : 11 : 81-88