

저산소성 허혈성 뇌손상 신생백서에서 21-aminosteroid U74389G 투여가 뇌손상 및 뇌부종에 미치는 영향

연세대학교 의과대학 소아과학교실, 아주대학교 의과대학 소아과학교실*

이미선 · 박문성* · 박국인 · 이 철 · 한동관

= Abstract =

Effect of 21-aminosteroid U74389G on the Extent of Brain Damage and Edema in the Newborn Rats with Hypoxic-ischemic Injury

Mi Seon Lee, M.D., Moon Sung Park, M.D.*, Kook In Park, M.D.,
Chul Lee, M.D. and Dong Gwan Han, M.D.

*Department of Pediatrics, Yonsei University College of Medicine,
Department of Pediatrics, Aju University College of Medicine, Seoul, Korea.*

Purpose : To investigate the effect of 21-aminosteroid U74389G (U) on the extent of brain damage and edema formation in the newborn rats with hypoxic ischemic (HI) brain injury.

Methods : This is a randomized, placebo-controlled, experimental study. The subjects were 113 seven-days-old rats with HI injury. Pups were treated with 3, 10, or 20 mg/kg of U intraperitoneally 30 minutes before hypoxia (Group 1, 2, 3: n=10, 13, 11), 10 mg/kg of U immediately after hypoxia (n=11) (Group 4), 10 mg/kg of U 30 minutes before and after hypoxia (n=13) (Group 5), or vehicle (n=12) (Group C). We expressed the degree of brain infarction and brain edema in % atrophy (Left hemisphere-Right hemisphere/Left hemisphere \times 100) and water content % (wet weight-dry weight/wet weight \times 100)

Results : There were significant reductions in the diameters of right hemisphere compared with those of left hemisphere in vehicle and U treated animals ($P<0.05$). As to the cortical thickness, group 2, 3 and 5 pups showed no significant reductions in the right side compared with the left side implicating that U treatment in these groups was of benefit in attenuating HI cortical injury, while there was significant difference between the right and left side in group 1, 4 and C animals ($P<0.001$). There was a significant difference ($P<0.01$) in % atrophy of group 2, 3, 5 versus group C, but the mean % atrophy was similar in groups 1, 4 and C. There was a significant ($P<0.05$) increase of water content in right hemisphere compared with left hemisphere both in U and vehicle treated groups.

Conclusion : Pre-treatment and prepost-treatment at moderate doses (10 or more mg/kg) of 21-aminosteroid U74389G reduced the extent of perinatal hypoxic-ischemic brain damages, especially in the cortex, but do not affect the extent of brain edema. (J Korean Soc Neonatal 2001;8:265-271)

Key Words : 21-aminosteroid U74389G, Hypoxic-ischemic brain injury, Perinatal brain damage, Newborn rat, Lipid peroxidation, Oxygen-free radical, Brain edema, Antioxidant, Scavenger

서 론

주산기 치료의 향상에도 불구하고 출생시 신생아가사로 인한 저산소성 허혈성 뇌손상은 뇌성마비, 정신지체, 간질과 같은 만성장애의 주요한 원인이며, 이에 대한 새로운 치료법이 계속 연구 중에 있다. 현재 실험 중인 약물로는 산소유리기 생성 억제제, 산소유리기 제거제, 흥분성 아미노산 길항제, 칼슘 채널 길항제 및 nitric oxide 합성 억제제 등이 있다.

특히 새로운 종류의 화합물인 non-glucocorticoid, 21-aminosteroid 제제는 저산소성 허혈성 뇌손상을 받은 성숙 및 미성숙 동물 모델에서 강력한 신경 보호 효과를 나타냄이 보고되었는데^{1,2)} 이 화합물은 peroxy radical을 제거함으로 철 의존성 지질 과산화를 명백하게 예방하며 특히 혈관에 우세하게 작용하여서 재관류 손상을 감소시키는 효과가 있다³⁾ U74389G도 이 화합물의 일종으로서 동물 실험에서 허혈-재관류에 관한 연구가 이루어져 왔으며⁴⁻⁶⁾ 본 연구에서도 저산소성 허혈성 뇌손상을 받은 신생백서에서 U74389G의 뇌손상 및 뇌부중에 미치는 영향을 알아보고자 한다.

대상 및 방법

1. 저산소성 허혈성 뇌손상 유발

Sprague-Dawley 쥐 113마리를 대상으로 하였으며 이들의 몸무게는 13에서 20 gm 사이였다. 생후 7 일째 백서의 오른쪽 총경동맥을 결찰하고 8% 산소에 노출시킴으로 저산소성 허혈성 뇌손상을 유발하였다.⁷⁻⁹⁾ 오른쪽 총경동맥 결찰은 halothane 마취(4% induction; 1% maintenance)하에서 이루어졌으며 4 번 수술실로 영구 결찰 후 상처는 봉합되었다.

이 과정은 5분 이내로 시행되었고 이후 어미 쥐에게로 보내져 3시간 동안의 회복기를 가진 후 어미에게서 다시 분리하여 밀폐된 chamber로 보내져 8% 산소와 92% 질소로 혼합된 가스에 2시간 동안 노출된 후 어미쥐에게로 돌려 보내졌다.

2. 뇌경색과 뇌부종 실험

이 실험은 뇌경색과 뇌부종 측정을 위해 크게 2개의 실험군으로 나누어졌다. 실험에 사용된 U74389G는 부형제인 CS-4 formulation vehicle (vehicle)을 사용하여 4℃에서 2시간동안 2 mg/ml의 농도로 용해되었으며 U74389G와 vehicles은 모두 복강내로 주입되어졌다.

1) 뇌경색 실험 및 측정

첫 번째 실험군은 뇌경색 실험을 위한 그룹으로 다시 6개의 소그룹으로 분류되었으며, 각각은 저산소증에 노출되기 30분전 U74389G 3 mg/kg (group 1, n=10), 10 mg/kg (group 2, n=13), 20 mg/kg (group 3, n=11)을 투여받은 그룹, 저산소증에 노출 후 즉시 U74389G 10 mg/kg (group 4, n=11)을 투여받은 그룹, 저산소증 노출 30분 전과 노출 직후에 10 mg/kg (group 5, n=13)을 투여받은 그룹, 그리고 저산소증 노출 30분 전에 vehicles 10 mg/kg 을 투여한 대조군 (group C, n=12)이었다.

저산소증에 노출한 후 7일 뒤에 쥐의 뇌를 분리하여 뇌경색 측정을 위해 포르말린 용액에 즉시 보관하였다.

육안상 뇌경색의 유무는 뇌 분리에 기록되었으며 양측의 대뇌 반구의 직경과 피질의 두께는 dorsal hippocampus level의 관상면에서 측정되었다.

뇌위축 정도(% atrophy)는 다음과 같은 공식으로 나타내었으며 이 결과를 토대로 양측 대뇌 반구의 뇌경색 정도를 비교하였다.

$$\% \text{ atrophy} = [(L-R) / L] \times 100$$

(L:좌측 대뇌반구의 직경 혹은 피질의 두께, R:우측 대뇌반구의 직경 혹은 피질의 두께)

2) 뇌부종 실험 및 측정

두 번째 실험군은 뇌부종 측정을 위해 크게 저산소증에 노출되지 않은 대조군과 저산소증에 노출시킨 신생백서로 나누었다. 대조군(control, n=12)은 경동맥 결찰이나 저산소증에 노출된 적이 없는 생후 9일된 백서였고, 다른 군은 생후 7일 경 우총경동맥 결찰을 받은 백서로 저산소증 노출 30분 전 U74389G 10 mg/kg (n=15)을 1회 투여 받은 그룹과 같은 양의 vehicle (n=16)만을 1회 투여 받은 그룹으로 다시 나

누어졌다. 이후 이들은 어미쥐와 42시간의 회복기를 가진 후 뇌부종 측정을 위해 뇌는 분리되었다.

뇌부종 측정을 위하여 뇌절제후 각 대뇌반구의 후외측 부분을 남겼으며 glass vial에 넣어 무게를 측정하였고 80℃에서 72시간 건조시킨 후 무게를 다시 측정하였다. 수분 함량(water content %)은 다음과 같은 공식을 사용하여 계산하였고 수분 함량 값을 통해 양측 대뇌 반구의 뇌부종 정도를 비교 관찰하였다.

$$\text{water content \%} = \frac{(\text{wet weight} - \text{dry weight})}{\text{wet weight}} \times 100$$

3. 결과 처리 및 비교

모든 결과는 평균값과 표준 편차로 표현하였으며 육안상 병리 결과와 사망률의 비교를 위해 Fisher's exact test를 사용하였고 각 반구의 직경과 피질의 두

께, 뇌위축 정도, 수분 함량의 비교를 위해 paired *t* test와 unpaired *t* test를 사용하였다. *P*<0.05인 경우 비교값 사이에 유의한 차이가 있는 것으로 간주하였다.

결 과

1. 뇌경색 실험

1) 사망률 및 뇌경색 발생률

사망률의 비교에서 대조군과 U74389G로 치료 받은 군 사이에 유의한 차이는 없었다(Fig. 1).

경동맥 결찰을 시행 받은 대뇌 반구에서는 육안적으로 신경교증(gliosis)이나 액화(liquefaction)를 동반한 뇌경색이 관찰되는데 이 뇌경색은 그룹 2에서는 13마리중 2마리(15%), 그룹 3에서는 11마리중 2마리(18%), 그룹 5에서는 13마리중 2마리(15%)임이 확인

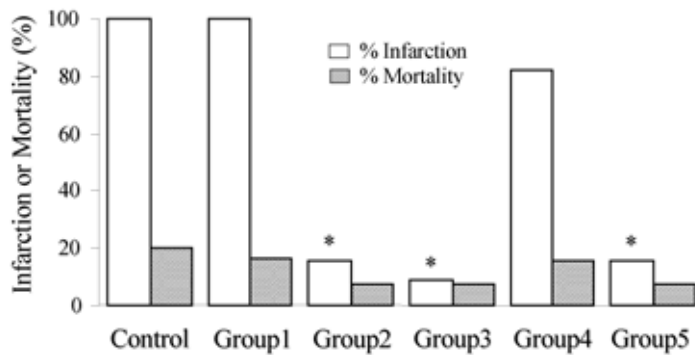


Fig. 1. Incidence of gross cerebral infarction and mortality in U74389G and vehicle treated rat pups. **P*<0.001, different from control group.

Table 1. Morphometric Analysis of the Effect of U74389G Treatment on Hypoxic-Ischemic Brain Injury in Rat Pups by Measuring the Diameter of Cerebral Hemisphere and the Cortical Thickness under a Microscope

Group	Hemisphere diameter under microscope		Cortical thickness under microscope	
	Right	Left	Right	Left
Control (N=12)	4.2±0.1*	5.8±0.1	0.72±0.06 [†]	1.21±0.06
Group 1 (N=10)	4.3±0.1*	6.1±0.1	0.68±0.07 [†]	1.33±0.07
Group 2 (N=13)	5.8±0.1*	6.1±0.1	1.20±0.04	1.23±0.04
Group 3 (N=11)	5.4±0.2*	6.0±0.1	1.03±0.10	1.15±0.06
Group 4 (N=11)	4.7±0.2*	6.1±0.1	0.87±0.07 [†]	1.25±0.04
Group 5 (N=13)	5.6±0.1*	5.9±0.1	1.11±0.07	1.20±0.04

Values are mean±SD (mm)

**P*<0.05: different from the left, [†]*P*<0.001: different from the left

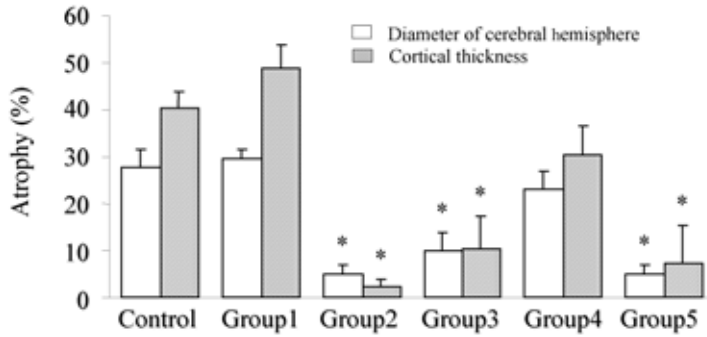


Fig. 2. Comparison of the extent of cerebral and cortical atrophy between vehicle and U74389G treated rat pups. The % atrophy was expressed by measuring the diameter of each cerebral hemisphere (open bars) and by measuring the cortical thickness under a microscope (hatched bars). * $P < 0.01$, different from control group.

되어서 12마리중 12마리(100%)에서 뇌경색이 발견된 대조군과 비교시 뇌경색 발생 빈도에서 유의할 만한 감소가 있었다($P < 0.001$). 그러나, 그룹 1과 4에서는 그룹 1에서 10마리 중 10마리(100%), 그룹 4에서 11마리 중 9마리(82%)에서 뇌경색이 발생하여 대조군과 비슷한 발생율을 보였다(Fig. 1).

2) 뇌위축 정도

Vehicle만 투여받은 대조군과 U74389G가 투여된 실험군 모두에서 경동맥 결찰을 시행받은 우측 대뇌반구는 경동맥 결찰을 시행받지 않은 좌측과 비교시 유의할 만한 대뇌 반구 직경의 감소를 보였다($P < 0.05$). 또한 그룹 1, 4 및 대조군은 대뇌 피질 두께(cortical thickness)의 측정에서도 좌측과 비교시 우측반구에서 의미있는 감소를 보였다($P < 0.001$) (Table 1).

뇌위축 정도는 현미경하에서 측정된 각 대뇌 반구의 직경과 대뇌피질의 두께를 측정하여 표현하였는데 그룹 2, 3과 5에서는 대조군과 비교시 뇌위축 정도에서 유의할 만한 차이를 보였으나($P < 0.01$), 그룹 2, 3 그리고 그룹 5 각각의 사이에서는 유의할 만한 차이는 없었다(Fig. 2).

2. 뇌부종 실험

대조군(control, n=12)은 우측과 좌측반구의 수분 함량 정도에 차이를 보이지 않았으나 U74389G (group A, n=15)와 vehicle (group B, n=16)이 투여된 그룹은 좌측 반구에 비해 우측 반구의 수분함량이 유의하게

Table 2. Water Content as Percentage of Cerebral Hemisphere Weight in Control and Experimental (Hypoxia-Ischemia) Rat Pups Pretreated with U74389G or Vehicle

Group	Cerebral hemisphere water content(%)	
	Right	Left
Control (N=12)	88.03±0.06	88.17±0.08
Hypoxia-Ischemia Rats		
U74389G (N=15)	89.57±0.60*	87.39±0.09
Vehicle (N=16)	90.66±0.41*	88.14±0.10

Values are mean±SD (%)

* $P < 0.05$, different from the left

증가되어 있었다($P < 0.05$) (Table 2). 수분 함량의 증가 정도는 U74389G 투여받은 그룹($2.49 \pm 0.61\%$)과 vehicle 투여받은 그룹($2.86 \pm 0.51\%$) 사이에서 비슷하였다.

고 찰

지질 과산화의 강력한 억제제인 21-aminosteroids의 효능은 주산기 저산소성 허혈성 뇌손상 동물 모델에서 그 동안 계속 연구 되어왔었는데 U74006F의 사용은 뇌허혈이 있는 게르빌루스 쥐(gerbil) 모델에서 생존율을 향상시키고 신경 피사의 진행을 늦춘다고 보고되었으나,¹⁰⁾ 또 다른 연구에서는 뇌허혈로부터 뇌

를 보호하는 효과가 없다는 보고도 있었다.^{11, 12)} 본 연구에서는 미성숙한 신생백서에서 뇌손상 전이나 뇌손상 전과 후에 함께 U74389G를 10 mg/kg 이상의 중등도 용량을 투여했을 때 저산소성 허혈성 뇌손상에서 특히 대뇌 피질의 보호 효과가 있음을 보여주었다. 그러나 이것은 뇌부종의 형성에는 특별한 영향을 주지 못했다.

최근 연구에 의하면 저산소성 허혈성 뇌손상시 일련의 생화학적 변화가 뇌손상이 진행되는 동안 시작되어 심폐 소생술 후 뇌손상에서 회복되는 시기에도 계속하여 진행되고 있음이 확인되었으며, 흥분성 신경전달 물질의 과분비, 세포 내 이온 유입의 이상, 산소 유리기 매개에 의한 지질 과산화^{3, 7)} 등이 현재 저산소성 허혈성 뇌손상의 가능한 기전으로 생각되고 있다.

저산소성 허혈성 뇌손상에 있어서 지질의 과산화는 중요한 병리 기전의 하나이나 허혈성 손상 후 혈액이 재관류된 조직에서 초기에 산소 유리기 등의 출현을 직접적으로 감지하기가 쉽지 않다.²³⁾ 따라서 지질 과산화를 변화시키는 약물을 사용한 후 뇌손상시 신경 손상의 정도에 미치는 영향을 확인함으로써 지질 과산화의 중요성을 간접적으로 확인할 수 있는데¹⁵⁾ 21-aminosteroids 일종인 U74006F는 전형적인 glucocorticoid나 mineralocorticoid의 특성은 가지지 않지만 강력한 지질 과산화 억제제이므로 이러한 약제의 개발 및 사용은 산소 유리기 매개의 지질 과산화가 뇌허혈 후 뇌손상의 기전임을 확인할 약리학적 도구를 제공하였다.^{10, 15)} U74006F는 항산화제의 특성을 가지는데 lipid peroxyl과 superoxide free radical의 scavengers로서 작용한다.^{10, 24)} 최근에 electron paramagnetic resonance 연구를 사용하여 연구한 결과 생체 내외 모두에서 21-aminosteroids는 hydroxyl radicals을 직접적으로 제거함을 보였고,²⁵⁾ 항지질분해(antilipolysis) 작용이 있어서 산소 유리기 생성을 저해하고 산소 유리기를 매개로 한 arachidonic acid 분비를 저해하였다.²⁶⁾ 그 외에 U74006F는 항산화 및 항지질분해 기능과는 독립적으로 세포막 안정화 기능도 있음이 제시되었다.^{10, 27)} 이러한 약리적 자질은 성숙 및 미성숙 동물 모델에서 조직의 저산소성 허혈성 손상의 예방^{12-18, 27-31)} 및 치료 효과^{12, 19, 32, 33)} 를 나타냄이 보고되었다.

21-aminosteroid U74389G {21-[4-(2,6-di-1-pyr-

olidinyl-4-pyrimidinyl)-1-piperazinyl]-pregna-1, 4, 9 (11)-triene-3, 20-dione, (Z)-2-butenedioate (1:1)}는 화학구조가 U74006F가 비슷함에도 불구하고 연구에서는 뇌손상 후에 투여한 U74389G는 U74006F는 달리 저산소성 허혈성 뇌손상에서 신경보호의 효과가 없었고 또한 두 물질 모두 뇌부종을 감소시키는 효과도 없었다.¹²⁾ 그러나 본 연구에서 뇌손상 전에 U74389G를 투여시 양쪽 대뇌 반구의 피질 두께의 차이가 없었으며 이것은 U74389G가 대뇌 피질에서 신경 손상에 대한 의미 있는 보호 효과가 있음을 보여준다.

U74006F는 선조체(striatum)나 해마(hippocampus)보다는 대뇌 피질에서 더욱 효과적으로 허혈성 뇌손상을 감소시킨다고 알려져 있으며 또한 지질 과산화가 해마보다는 대뇌피질에서 좀더 의미있게 일어난다고 보고되었다.^{17, 31, 34)} 선조체나 해마보다 대뇌 피질에서 21-aminosteroid의 효과가 뛰어난 이유로 대뇌 피질에서 허혈성 뇌손상의 중요한 기전이 지질 과산화인 것으로 설명될 수 있으며 대조적으로 선조체나 해마에서는 excitotoxicity가 뇌손상을 유발하는 더 중요한 기전으로 작용할 가능성이 있다. 또 다른 이유로는 주산기 저산소성 허혈성 모델에서 대뇌 피질로 가는 혈류의 감소가 선조체나 해마로 가는 혈류 감소만큼 완전하지 않으며 이 상황에서 산소 유리기 생성의 증가로 지질 과산화가 더 증가하게 된다는 것이다.³⁵⁾ 또한 불완전한 허혈은 광범위한 무산소성 대사(anaerobic metabolism)를 초래하고 결과적으로 심한 조직의 대사성 산증을 동반하여 지질 과산화를 더 조장하게 된다.^{35, 36)}

본 연구에서 21-aminosteroids의 일종인 U74389G를 신생백서에서 저산소성 허혈성 뇌손상 유발 전이나 뇌손상 전 및 후에 투여했을 때 저산소성 허혈성 뇌손상을 감소시키는 효과가 있었으나 뇌부종 형성에는 영향을 미치지 못했다. U74389G 투여시 저산소성 허혈성 뇌손상이 감소되는 것은 이 뇌손상의 기전에 있어 산소 유리기를 매개로 한 지질 과산화가 관련되었음을 나타내는 것이며 미성숙한 신생아 뇌에서의 저산소성 허혈성 뇌손상의 기전에도 관련되었을 가능성을 암시하는 것이다.

요 약

목적 : 저산소성 허혈성 뇌손상을 가진 신생백서에서 뇌손상 및 뇌부종 형성에 대한 21-aminosteroid 일종인 U74389G의 효과를 알아보기 위해 본 연구를 시행하였다.

방법 : 본 연구는 무작위, 위약-대조군, 실험 연구이며, 대상은 저산소성 허혈성 뇌손상을 받은 124마리의 생후 7일된 신생백서였다. 뇌경색 실험을 위해 저산소증에 노출되기 30분전 U74389G 3 mg/kg (group 1, n=12), 10 mg/kg (group 2, n=14), 20 mg/kg (group 3, n=13)을 투여받은 그룹, 저산소증에 노출 후 즉시 U74389G 10 mg/kg (group 4, n=13)을 투여받은 그룹, 저산소증 노출 30분전과 노출 직후에 10 mg/kg (group 5, n=14)을 투여받은 그룹, 그리고 저산소증 노출 30분 전에 동량의 vehicles을 투여한 대조군 (group C, n=15)으로 분류하였으며 각각의 양측 대뇌 반구의 직경과 피질 두께를 측정하여 뇌위축 정도를 계산하였다. 뇌부종 실험을 위해서는 저산소성 허혈성 뇌손상에 노출되지 않은 대조군(control, n=12)과 저산소증에 노출되기 30분전 U74389G을 투여받은 신생백서(group A, n=15) 그리고 동량의 vehicles을 투여받은 신생백서(group B, n=16) 세 그룹으로 분류하였으며 뇌절제후 대뇌반구의 무게를 측정하여 수분함량 정도를 계산하였다.

결과 : vehicle만 투여받은 대조군과 U74389G가 투여된 실험군 모두에서 경동맥 결찰을 시행받은 우측 대뇌반구는 경동맥 결찰을 시행받지 않은 좌측과 비교시 유의할 만한 대뇌 반구 직경의 감소를 보였다 ($P<0.05$). 또한 그룹 1, 4 및 대조군은 대뇌 피질 두께(cortical thickness)의 측정에서도 좌측과 비교시 우측반구에서 의미 있는 감소를 보였으나($P<0.001$), 그룹 2, 3, 5에서는 U74389G 투여가 저산소성 허혈성 뇌손상을 감소시킨다는 것을 암시할 만한 우측 반구의 대뇌 피질 두께의 감소는 보이지 않았다. 그룹 2, 3, 5 와 대조군의 비교에서는 % atrophy에서는 유의할 만한 차이를 보였으나($P<0.01$), 평균 % atrophy는 그룹 1, 4와 대조군에서 비슷하였다.

수분 함량은 대조군에서는 양측 반구에서 의미있는

차이를 보이지 않았으나 U74389G와 vehicle이 투여된 그룹 모두에서는 좌측에 비해 우측 반구에서 유의할 만한 증가를 보였다($P<0.05$).

결론 : 21-aminosteroid 일종인 U74389G 10 mg/kg 이상을 저산소성 허혈성 뇌손상 유발 전이나 유발 전후에 투여시 저산소성 허혈성 뇌손상을 감소시키는 효과가 있었으나 뇌부종 형성에는 영향을 미치지 못했다.

참 고 문 헌

- 1) Siesjö BK, Agardh C-D, Bengtsson F. Free-radicals and brain damage. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1989;1:165-211.
- 2) Kjellmer I. Prenatal and intrapartum asphyxia. In: Levene MJ, Bennett MJ, Punt, editors. *Fetal and Neonatal Neurology and Neurosurgery*. Edinburgh, UK: Churchill-Livingstone Co; 1988. p. 357-69.
- 3) Vannucci RC. Experimental biology of cerebral hypoxia-ischemia: relation to perinatal brain damage. *Pediatr Res* 1990;27:317-26.
- 4) Mishra OP, Delivoria-Papadopoulos. Lipid peroxidation in developing fetal guinea pig brain during normoxia and hypoxia. *Dev Brain Res* 1989;45:129-35.
- 5) Iwasa H, Aono T, Fukozawa K. Protective effect of vitamin E on fetal distress induced by ischemia of the uteroplacental system in pregnant rats. *Free radic Biol Med* 1990;8:393-400.
- 6) Palmer C, Vannucci RC, Towfighi J. Reduction of perinatal-hypoxic-ischemic brain damage by allopurinol. *Pediatr Res* 1990;27:332-6.
- 7) Palmer C, Vannucci RC. Potential new therapies for perinatal cerebral hypoxia-ischemia. In: Shankaran S, editors. *Clinics in Perinatology, per inatal Asphyxia*. Philadelphia: WB Saunders Co; 1993. p. 411-32.
- 8) Fish WH, Cohen M, Franzek D, Williams JM, Lemons JA. Effect of intramuscular vitamin E on mortality and intracranial hemorrhage in neonates of 1000 grams or less. *Pediatrics* 1990;85: 578-84.
- 9) Pitkänen OM, Hallman M, Andersson SM. Correlation of free oxygen radical-induced lipid peroxidation with outcome in very low birth weight infants. *J Pediatr* 1990;116:760-4.

- 10) Braughler JM, Pregenzer JF, Chase RL, Duncan LA, Jacobsen EJ, McCall JM. Novel 21-aminosteroids as potent inhibitors of iron-dependent lipid peroxidation. *J Biol Chem* 1987;262:10438-40.
- 11) Haynes Jr J, Seibert A, Bass JB, Taylor AE. U74500A inhibition of oxidant-mediated lung injury. *Am J Physiol* 1990;259:144-8.
- 12) Bågenholm R, Andine P, Hagberg H. Effects of 21-aminosteroid U74006F on brain damage and edema following perinatal hypoxia ischemia in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 1991;11(1 suppl 2):134.
- 13) Beck T, Bielenberg GW. The effects of two 21-aminosteroids on overt infarct size 48 hours after middle cerebral artery occlusion in the rat. *Brain Res* 1991;560:159-62.
- 14) Hall ED, Braughler JM, Yonkers PA. U78517F: A potent inhibitor of lipid peroxidation with activity in experimental brain injury and ischemia. *J Pharmacol Exp Ther* 1991;258:688-94.
- 15) Hall ED, Pazara KE, Braughler JM. 21-aminosteroid lipid peroxidation inhibitor U74006F protects against cerebral ischemia in gerbils. *Stroke* 1988;19:997-1002.
- 16) Hall ED, Pazara KE, Braughler JM. Effects of tirilazad mesylate on postischemic brain lipid peroxidation and recovery of extracellular calcium in gerbils. *Stroke* 1991;22:361-6.
- 17) Lesiuk H, Sutherland G, Peeling J. Effect of U7006F on forebrain ischemia in rats. *Stroke* 1991;22:896-901.
- 18) Perkins WJ, Milde LN, Milde JH. Pretreatment with U74006F improves neurologic outcome following complete cerebral ischemia in dogs. *Stroke* 1991;22:902-9.
- 19) Boisvert DP. Effectiveness of postischemic 21-aminosteroid U74006F in preventing reperfusion brain edema. *J Cereb Blood Flow Metab* 1991;11(1 suppl 2):135.
- 20) Silverstein F, Torke L, Barks J, Johnston MV. Hypoxia-ischemia produces focal disruption of glutamate receptors in developing brain. *Dev Brain Res* 1987;34:33-9.
- 21) Rice JE, Vannucci RC, Brierly JB. The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain injury in the rat. *Ann Neurol* 1983;9:131-41.
- 22) Dwyer BE, Nishimura RN, Fujikawa DG. Cerebral hypoxia-ischemia in immature rats: methodological considerations. *Exp Neurol* 1988;99:772-7.
- 23) Watson BD, Ginsberg MD. Ischemic injury in the brain: Role of oxygen radical-mediated processes. *Ann N Y Acad Sci* 1989;559:269-281.
- 24) Braughler JM, Pregenzer JF. The 21-aminosteroid inhibitors of lipid peroxidation: Reactions with lipid peroxy and phenoxy radicals. *Free Radic Biol Med* 1989;7:125-30.
- 25) Hall ED, Yonkers PA, Andrus PK, Cox JW, Anderson DK. Biochemistry and pharmacology of lipid antioxidants in acute brain and spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1992;9(1 suppl 2):425-42.
- 26) Braughler JM, Chase RL, Neff GL. A new 21-aminosteroid antioxidant lacking glucocorticoid activity stimulates ACTH secretion and blocks arachidonic acid release from mouse pituitary tumors (AtT-20) cells. *Pharmacol Exp Ther* 1988;244:423-7.
- 27) Hall ED, Travis M. Inhibition of arachidonic acid-induced vasogenic brain edema by the non-glucocorticoid 21-aminosteroid U74006F. *Brain Res* 1988;45:350-2.
- 28) Hall ED, Yonkers PA. Attenuation of postischemic cerebral hypoperfusion by the 21-aminosteroid U74006F. *Stroke* 1988;19:340-4.
- 29) Natale JE, Schott RT, Hall ED, Braughler JM, D'Alecy LG. Effect of the aminosteroid U74006F after cardiopulmonary arrest in dogs. *Stroke* 1988;19:1371-8.
- 30) Young W, Wojak JC, De Crescito V. 21-aminosteroid reduces ion shifts and edema in the rat middle cerebral artery occlusion model of regional ischemia. *Stroke* 1988;19:1013-9.
- 31) Xue D, Bruederlin B, Heinicke E, Li H, Slivka A, Buchan AM. U74006F reduces neocortical infarction but does not attenuate selective hippocampal CA1 necrosis. *Stroke* 1990;21:178.
- 32) McIntosh TK, Thomas M, Smith D, Banbury M. The novel 21-aminosteroid U74006F attenuates cerebral edema and improves survival after brain injury in the rat. *J Neurotrauma* 1992;9:33-46.
- 33) Sanada T, Nakamura T, Nishimura MC, Isayama K, Pitts LH. Effect of U74006F on neurologic function and brain edema after fluid percussion injury in rats. *J Neurotrauma* 1993;10:65-71.
- 34) Sutherland GR, Bose R, Peeling J, Pinsky C. Regional lipid peroxidation and superoxide dismutase activity following transient forebrain ischemia. *Can J Neurol Sci* 1988;15:193.
- 35) Raichle M. The pathophysiology of brain ischemia. *Ann Neurol* 1983;13:2-10.
- 36) McCord JM. Oxygen-derived free radicals in post-ischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985;312:159-63.