

急性一酸化炭素中毒이 白鼠腎臟에 미치는 影響에 關한 病理組織學的 및 酵素組織化學的 研究

Histopathologic and Enzyme Histochemical Studies on the Effect of Acute Carbon Monoxide Poisoning in Rat Kidney

서울大學校 醫科大學 病理學校室

宋 啓 用 · 咸 毅 根

緒 論

우리나라에서 家庭 또는 作業場의 燃料로 많이 使用되고 있는 無煙炭(煉炭)과 各種 油類의 不完全燃燒로 發生되는 一酸化炭素는 無色, 無味, 無臭의 氣體로 恒常 生活環境內에서 急性 내지 慢性 露出로 인하여 中毒될 위험성이 있음은 周知되고 있는 問題點이라 하겠다

體內로 吸入된 一酸化炭素는 헤모글로빈 (Hb)과의 親和力이 酸素의 200倍 以上 強하여서 容易하게 CO-Hb 複合體를 이루어 헤모글로빈의 酸素運般機能을 저해할 뿐 아니라 酸素解離曲線을 左側으로 이동시켜 各組織의 低酸素性 酸素缺乏을 招來시키는 事實은 크게 注目되고 있는 바라 하겠으며 이에 對한 研究業績들도 많다. (Goldsmith, 1968; McBay, 1965; Roughton, 1945) 뿐만 아니라 一酸化炭素는 Cytochrome C Oxidase의 作用을 억제하여 (Pitts, 1970) ATP 生成을 저해하는 까닭에 단순한 低酸素症보다 二重의 影響을 줄 수 있으므로 組織酸素缺乏型 有毒性作用 gas라고 稱할 수 있으며 生體內 모든 臟器 및 組織의 機能 減退 또는 退行性 變化等 여러 病的 狀態를 惹起시키게 된다. 따라서 1% 濃度의 一酸化炭素만 大氣中에 存在하여도 10分內에 人體致死量에 도달하게 된다고 하며 急性一酸化炭素中毒時 크게 侵害 받는 臟器는 比較的 酸素要求量이 많다고 이해되는 腦, 心臟, 腎臟等이라 하겠다.

한편 尹等 (1977)의 調査에 의하면 우리나라 急性一酸化炭素中毒의 年間發生은 人口 10,000名當 306名이며 이들中 重症例가 45名이고 死亡率은 人口 10,000名當 1名으로 報告되고 있으며 美國의 中毒死의 경우에도 過半數 이상은 一酸化炭素中毒에 기인된 것이라고 알려져 있다. (Goldsmith, 1968)

그러므로 急性 및 慢性一酸化炭素中毒으로 인한 各

臟器의 病理學的 變化 및 이에 關한 報告들이 많다. 즉 不定脈을 수반한 心壞死(Beck, 1938; Klionsky, 1960), 肺浮腫, 妊娠母體中毒時 胎兒의 畸形出現과 死亡率의 增加(Ingalls, 1958; 송, 1977; 임, 1977), 實驗的 慢性中毒時의 胎盤의 高度의 鬱血 및 退行性 變化로 인한 胎仔의 損失率의 增加等이다. 또한 腎臟에서도 急性細尿管壞死에 의한 腎不全症이 臨床적으로 觀察되고 있으나(방, 1971) 아직도 一酸化炭素 中毒의 機轉 및 主要病變部位에 對해서도 確實한 結論이 없는 實情이라 하겠다. 腎臟의 主要機能은 腎細尿管에서의 再吸收와 분비인데 이 과정이 많은 ATP를 必要로 하므로 細尿管에는 많은 酸化酵素들이 分布되 있으며 이들中 Tricarboxylic acid (TCA) Cycle에 關여하는 Succinic dehydrogenase (SDH)와 Dihyronicotinamide adenine dinucleotide diaphorase (NADH diaphorase) 嫌氣性解糖過程에 關여하는 Lactic dehydrogenase (LDH), 와 磷酸加水分解酵素인 Alkaline phosphatase (Alk. P) 등의 酵素活性이 酸素濃度에 敏感하게 反應함으로써 一酸化炭素暴露時에도 그 活性의 變化를 초래케 될 수 있다.

실제로 血管遮斷에 의한 急性低酸素症時 腎酵素의 活性變化를 관찰한 實驗들에서(Gowing, 1956; Koletsky, 1964; Wachstein, 1957) 組織化學的 변화는 病理組織學的 관찰조건에 앞서. 初期의 病的 狀態를 제시할 수 있고 더욱이 전자현미경적 조건보다 앞서 酵素組織化學的 변화가 초래될 수 있다. 이는 전자현미경 관찰에서는 低酸素症 20分후에야 초기변화를 볼 수 있는데 비해 組織化學的으로는 5分內에 이미 glycogen의 減少를 발견할 수 있다고 보고하고 있다. (Klionsky, 1960)

대부분의 組織化學的 實驗은 tissue homogenate를 使用하여 全體의인 活性을 관찰 보고하고 있을 뿐(김,

1973; Vogt, 1968) 各部位에서의 減少 내지 增加에 대한 究明은 없는 實情이어서 部位에 따르는 효소활성 變動의 有意성을 파악함은 重要的 일이라 아니할 수 없으며 組織內 活性變化를 설명함에 意義가 있다고 생각된다. Wachstein等 (1957)은 dl-serine과 mercurhydrin으로 招來된 細尿管壞死에서 酵素活性的 急減少를 관찰했고 Alkaline 또는 Acid phosphatase보다 腎臟의 毒性損傷에 敏感한 指標가 될 수 있다고 보고하였다.

한편 白鼠腎臟構造는 人體의 그것과 달라 腎單位(nephron) 各分節의 SDH, NADH diaphorase, TPNH diaphorase와 Alk, P等 酵素的 活性도가 內, 外皮質과 內, 外髓質 4部分으로 나뉘고 包含된 細尿管의 構成成分도 相異하여 相互區別이 可能하다고 주장되고 있다. (Farber, 1956)

그러므로 著者는 急性一酸化炭素폭로가 白鼠腎臟에 미치는 影響에 따르는 病理組織學的 變化 및 細尿管에 풍부히 存在하는 SDH, NADH diaphorase, LDH와 Alk, P等 各 酵素的 一酸化炭素 폭로시 간과 濃度變化에 따른 활성도 및 白鼠腎의 部位에 따른 侵害程度를 관찰하여 急性一化炭素中毒에 의한 急性腎不全症의 病因機轉을 究明하고자 본 實驗을 실시하였다.

實驗材料 및 方法

1) 實驗動物

實驗動物은 同一環境內에서 飼育된 體重 210~280gm의 Sprague-Dawley系 雌性 白鼠 97마리이며 이들중 32마리는 예비 실험에, 65마리는 본실험에 각각 사용되었다.

2) 一酸化炭素(CO)의 製造 및 稀釋

三方 Cook管內에 濃黃酸을 넣고 水槽속에서 100°C로 加溫한 後 개미산(formic acid)을 點滴시켜 發生되는 一酸化炭素를 捕集하였으며 이것은 純도가 96~98%가 된다. 이를 Wet gas meter와 Douglas bag을 사용하여 稀釋하였으며 實驗에 사용된 一酸化炭素의 濃度는 Infrared CO analyzer(英, Grubb Parsons社製, Model 200)와 CO 檢知管(日本, Kitagawa 社製 Cat. No. 100)으로 測定하였다.

3) 豫備實驗

一酸化炭素 폭로後 致死時間이 20分, 60分, 120分되는 一酸化炭素의 濃度를 알기 위하여 一酸化炭素를 1%, 0.8%, 0.6%, 0.4%되게 稀釋하여 각각의 濃度에 대하여 8마리씩 폭로시켜 致死時間을 測定하였다. 實驗結果 耐성에 대한 個體差異가 있어 50%가 死亡하

는 時間을 측정하여 30分 致死濃度로 1%, 60分 致死濃度로 0.7% 그리고 120分 致死濃度로 0.4%를 정하였다.

4) 本 實驗

實驗動物들은 正常對照群 15마리, 1% CO폭로群 30마리, 0.7% CO폭로群 12마리와 0.4% CO폭로群 8마리 등 四群으로 나누어 實驗하였으며 病理組織學的 檢索은 모든 動物에서 組織化學的 檢索은 各群의 切半에서 시행하였다.

5) 暴露方法

一酸化炭素 暴露方法은 白鼠를 gas Chamber (190cm × 45cm × 30cm)에 부착된 흡입장치로 1%, 0.7%, 0.4%의 CO-gas가 10~15l/min의 양이 흡입되도록 조절한 후 群別로 30分, 60分과 120分間 폭로하였으며 gas chamber內의 一酸化炭素 濃度는 20分, 40分, 60분에 各各 측정하여 一定하게 유지하였으며 同時에 酸素濃度가 18% 以上 되도록 Oxygen analyzer(美 Taylor社, OA 269)를 利用하여 一般大氣를 chamber內로 送入了。

6) 病理組織學的 및 組織化學的 方法

對照群 및 暴露群의 白鼠를 에텔마취하에 開腹하여 兩側 腎臟을 摘出하고 組織檢索用으로 10% 중성포르말린용액에 고정한 후 파라핀 包埋하여 4~5 μ 으로 薄切後 Hematoxylin-Eosin 染色을 시행하여 광학현미경으로 檢索하였다. 組織化學的 檢索을 위해 腎髓質을 橫斷하는 조직절편을 -20°C의 frozen medium으로 동결된 후 凍結切片機(Cryocut)로 10 μ 두께로 薄切하여 SDH, NADH diaphorase, LDH와 Alk. P.등의 染色을 다음과 같이 시행하였다.

SDH: NaClas등의 方法을 따라 0.2M Phosphate buffer (pH 7.6) 5ml에 Nitro BT (Nitroblue tetrazolium) 용액(1mg/ml) 10ml와 0.2M Sodium succinate 5ml를 混合한 용액을 基質로 사용하여 37°C 恒溫器內에서 同時에 30分間 反應시켰다.

NADH diaphorase: Farber등의 方法을 사용했으며 0.2M Phosphate buffer (pH 7.4) 4ml, Nitro BT (1mg/ml) 4ml, 증류수 4ml와 NADH 10mg을 混合하여 만든 基質溶液을 사용하여 37°C 恒溫器內에서 30分間 反應시켰다.

LDH: Hess의 方法을 개량한 Scapelli등의 方法을 사용했고 0.06M Phosphate buffer (pH 7.0) 2.5ml, 60% Sodium DL-lactate 0.2ml, NAD 6.6mg, 0.1M NaCN (pH 7.0) 1ml, 0.005M MgCl₂·H₂O 1ml, Nitro BT 2.5ml, 증류수 2.8ml, Polyvinyl pyrrolidone 750mg을

혼합하여 만든 基質溶液을 사용하여 37°C 恒溫器內에서 30分間 反應시켰다.

以上の 3가지 방법은 모두 Nitro BT를 使用함으로 酵素活性度는 Diformazan 生成량에 따라 暗靑色 또는 靑紫色으로 나타나게 되며 酵素의 活性은 暗靑色 또는 靑紫色 또는 靑紫色의 강도에 比例하게 된다.

Alk. P: Burstone의 방법을 사용하였으며 0.2M Tris buffer (pH 9.2) 25ml, Naphthol AS-biphosphoric acid 5mg, Dimethylformamide 0.2ml, 증류수 25ml, Red violet LB-salt 30mg을 혼합하여 만든 基質溶液을 사용하여 Whatman No.2로 여과한 후 37°C 恒溫器內에서 30分間 反應시켰으며 酵素의 活性度는 赤色の 강도에 比例한다.

以上の 組織化學的 反應은 各 酵素에 따라 對照群을 동일한 條件下에서 동시에 反應시키고 染色程度를 判정한 후 各 酵素의 活性度를 0:음성, ±:미약, +:輕度, ++:中等度와 ≡:強反應 등으로 표시하였다.

實驗 成績

白鼠腎의 解剖學的 構造는 內, 外皮質과 內, 外髓質의 4부분으로 區分되며 各 部位에 包含된 腎單位의 構成成分도 서로 다르다. 즉 外皮質에는 絲球體와 近位曲細尿管(proximal convoluted tubule)과 遠位曲細尿管(distal convoluted tubule)이 주요 構成成分이며 內皮質에는 絲球體는 없고 近位曲細尿管의 말단부와 厚上行細尿管(thick ascending limb)과 集合管(collecting duct)로 구성되어 있고 外髓質에는 薄下行細尿管(thin limb)과 厚上行細尿管과 集合管이 있으며 內髓質에는 薄下行細尿管과 集合管으로 구성되어 있다. 또 이들은 各種 효소염색反應에 차이를 나타내므로 용이하게 구성요소를 組織化學的으로 分析할 수 있다.

1) 病理組織學的 所見

정상대조군에서는 輕度の 鬱血을 皮質髓質境界部와 인접된 外髓質에서 觀察되었으나 腔胞變性이나 壞死나 再生은 나타나지 않았고 圓柱(casts)가 1例에서만 觀察되었다. 1%의 CO에 30分, 0.7% CO에 60分間 폭로된 白鼠腎에서는 심한 鬱血이 外髓質 特히 內皮質과 境界部의 直行血管(vasa recta)에서 (Fig. 1) 外皮質과 內髓質에서는 輕度 내지 中等度였다. 腔胞變性은 內皮質의 近位曲細尿管에서 中等度, 外髓質의 集合管에서 輕度였고 壞死는 內皮質의 近位曲細尿管에서 中等도로 (Fig. 2) 外髓質의 厚上行細尿管과 集合管에서 미약하거나 輕度 내지 中等度이었고(Fig. 3) 外髓質은 미약

하였다. 圓柱는 壞死와 再生程度와 병행했으며 內皮質의 近位曲細尿管과 集合管에서 또 外髓質의 薄下行細尿管에서 發見되었다.

그러나, 0.4% CO를 120分間 폭로한 실험동물에서는 정상대조군과 거의 類似하여 鬱血은 현저하지 않으나 壞死와 再生을 1例의 內皮質 近位曲細尿管에서 관찰되었다.

以上の 結果를 綜合하여 복 때 急性 一酸化炭素 폭로후의 白鼠腎臟의 病理組織學的 變化는 심한 鬱血과 壞死와 再生 그리고 腔胞變性 등으로 요약할 수 있겠으며 最脆弱部는 內皮質의 近位曲細尿管이고 그 다음은 外髓質의 集合管과 厚上行細尿管이었으나 外皮質의 近位曲細尿管의 의미있는 組織學的인 變化는 관찰되지 않았다(Table. 1).

2) 組織化學的 所見

a) Succinic dehydrogenase

정상대조군(Fig. 4)은 外皮質과 外髓質에서 強한 SDH의 活性을 나타내어 靑紫色 또는 暗靑색으로 細尿管이 染色되었으며 內皮質에서는 中等도로 나타났고 內髓質은 극히 미약했다. SDH 染色狀을 부위별로 관찰하면 絲球體는 극히 미약했고, 外皮質의 近位曲細尿管은 강한 活性, 遠位曲細尿管은 中等度, 內皮質의 近位曲細尿管과 集合管은 中等度, 厚上行細尿管은 강하였다. 外髓質의 薄下行細尿管은 극히 미약했고 厚上行細尿管은 강했으며, 集合管은 中等度였다. 內髓質은 集合管만 미약한 反應을 보였을 뿐이다. 따라서 內外髓質의 境界는 선명하게 나타났다.

한편 1% CO를 30分間 폭로한 실험동물에서는 모든 細尿管의 SDH活性이 個體의 차이를 두고 輕度 내지는 中等度の 감소를 (Fig. 5) 나타냈으며 ($P < 0.05$, $P < 0.01$) 부위별로 觀察하면 外皮質의 近位曲細尿管이 中等度, 遠位曲細尿管이 輕度, 內皮質의 近位曲細尿管이 中等度, 集合管과 厚上行細尿管이 輕度, 外髓質의 厚上行細尿管과 集合管이 中等도로 각각 감소됨과 동시에 선명했던 內外髓質의 境界가 不分明해졌다. 絲球體와 薄下行細尿管은 SDH 활성이 극히 미약하여 중감의 정도를 判정할 수 없었다. 특히 內皮質의 細尿管 壞死가 發生된 부위는 SDH 活性이 극히 미약하거나 관찰되지 아니하였다. (Fig. 6, Fig. 7) 0.7% CO를 60分間 그리고 0.4% CO를 120分間 폭로한 群에서도 유사한 SDH 活性의 輕한 감소를 나타내어 組織的으로 큰 變化가 없던 腎에서도 SDH 活性의 變化가 초래되었다. (Table 2) ($P < 0.05$, $P < 0.01$)

b) Dihyronicotinamide adenine dinucleotide diaph-

Table 1. Histopathologic Changes Resulting from Different Degree of Acute CO-Exposure in Rat Kidney

* Outer Cortex	Control**	Congestion				Hydro. Deg				Necrosis				Regeneration				Casts			
		—	±	+	‡	—	±	+	‡	—	±	+	‡	—	±	+	‡	—	±	+	‡
		10	5			15				15				15				15			
	30min		18	12		30				30				30				30			
	60min	4	6	2		12				11	1			12				10	2		
	120min	4	4			8				7	1			7	1			8			
	Inner Cortex	12	3			15				15				15				14	1		
	30min	16	14			10	11	9		24	4	2		23	4	2	1	15	8	6	1
	60min	4	8			4	6	2		8	2	2		8	2	1	1	7	2	2	1
	120min	8				6	2			6	1	1		6	2			6	2		
	Outer Medulla	4	8	3		13	2			15				15				14	1		
	30min			18	12	9	14	7		23	4	3		24		1		18	8	4	
	60min		4	4	4	4	8			10	2			11	1			8	2	2	
	120min	2	4	2		6	2			6	2			8				6	2		
	Inner Medulla	12	3			15				15				15				14	1		
	30min	4	20	6		29	1			30				30				20	8	2	
	60min	4	7	1		10	1	1		12				12				12			
	120min	8				8				8				8				8			

* — : Negative, ±: Doubtful, +: Mild, ‡: Moderate to marked

** 30 min: 1% CO, 60min:0.7% CO, 120min:0.4% CO

Table 2. Histochemical Changes Resulting from Different Degree of Acute CO-Exposure in Rat Kidney

		Succinic Dehydrogenase																				
* Outer Cortex	Control	30min Exp.					60min. Exp.					120min. Exp.										
		1% CO					0.7% CO					0.4% CO										
		○	±	+	‡	‡	○	±	+	‡	‡	○	±	+	‡	‡	○	±	+	‡	‡	
Glomeruli	2	4				9	6				3	2				4	1					
Prox. Con. T.				1	5			4	7	4			1	1	2	1				3	2	
Dis. Con. T.			1	5				4	7	4			2	2	1					3	2	
Inner Cortex			1	5				2	9	4			1	3	1					1	3	1
Prox. Con. T.			1	5				7	5	3			3	2						3	2	
Thick Asc. L.				1	5				4	9	2				1	3	1				3	2
Collect D.			1	5				5	8	2			2	2	1					2	2	1
Outer Medulla				1	5			5	6	4				1	2	2					4	1
Thin Limb	2	4				2	13				1	4				1	4					
Thick Asc. L.				1	5			5	6	4				1	2	2					4	1
Collect D.			4	2				10	5				3	2					3	2		
Inner Medulla	1	5				4	11				3	2				4	1					
Thin Limb	6					16					5					5						
Collect D.	1	5				3	12				2	3				4	1					
Arcuate Art		6				2	13				1	4				2	3					

* ○: Negative, ±: Doubtful, +: Mild, ‡: Moderate, ‡: Marked P<0.05, P<0.01

orase

정상대조군은 (Fig. 8) 外皮質과 外髓質에서 강한 NADH diaphorase 활성을 나타내어 靑紫色 또는 暗靑色으로 細尿管이 染色되었으며, 內皮質에서는 中等度, 內髓質에서는 약했다. NADH diaphorase 活性度를 부위별로 관찰하면 外皮質에서 사구체는 약하고 近位曲細尿管은 강한 活性, 遠位曲細尿管과 集合管은 中等度 厚上行細尿管은 강했다. 外髓質의 薄下行細尿管은 약했으나 厚上行細尿管은 強하였고 集合管은 中等度였다. 內髓質은 集合管만이 輕度の 活性이 관찰되었다. 그러므로 SDH와 NADH diaphorase는 內髓質 集合管의 輕度活性度를 제외하면 類似한 活性分佈를 나타내었다.

한편 1% CO를 30分間 폭로한 실험동물에서는 모든 細尿管의 NADH diaphorase 活性이 개체의 차이를 두고 輕度 내지는 中等도로 감소되었다. (Fig. 9) ($P < 0.05$, $P < 0.01$) 이들의 變化를 부위별로 관찰하면 外皮質의 近位曲細尿管이 中等度, 遠位曲細尿管이 輕度, 內皮質의 近位曲細尿管이 中等度, 集合管과 厚上行細尿管이 輕度, 外髓質의 厚上行細尿管과 集合管은 中等도로 각각 감소하였으나 絲球體와 薄下行細尿管은 그 活性이 미약하여 증감의 관정을 할 수 없었다. 弧狀動脈 中膜의 活性變化는 有意하지 않았다.

0.7% CO를 60分間, 0.4% CO를 120分間 폭로한 白鼠腎에서도 以上과 類似한 所見을 관찰할 수 있었다 (Table 3) ($P < 0.05$, $P < 0.01$)

c) Lactic dehydrogenase

정상대조군에서는 개체차를 두고 일반적으로 LDH의 活性은 強하지 않아 內皮質과 外皮質에 輕度の 活性을 나타내어 연한 靑紫色 또는 연한 靑色으로 細尿管이 染色되었으며, 外皮質과 內髓質의 反應은 약하였다. 부위별로 活性을 비교하면 絲球體는 미약한 反應이었으며 內皮質의 近位 및 遠位曲細尿管과 集合管과 厚上行細尿管은 輕度였다. 外髓質의 薄下行細尿管은 극히 약했으나 厚上行細尿管과 集合管은 輕度の 反應을 보였다. 內髓質에서는 集合管만이 輕度の 反應을 나타냈다. 弧狀動脈의 中膜은 中等度 活性을 나타냈다.

한편 1% CO를 30分間 폭로한 白鼠腎에서는 모든 細尿管의 LDH 活性의 다소간 차이는 있었으나 통계적으로 有意한 變化는 內皮質의 近位曲細尿管 특히 皮質髓質境界部에서만 輕度の 有意한 감소를 보였으나 다른 細尿管 및 弧狀動脈에서는 대조군과 有意한 차가 없었다. ($P < 0.05$)

그러나, 0.7% CO를 60分間, 0.4% CO를 120分間 폭로한 群에서 外皮質은 유의한 變化를 관찰할 수 없었다. 內皮質의 近位曲細尿管, 厚上行細尿管(0.4% CO,

Table 3. Histochemical Changes Resulting from Different Degree of Acute CO-Exposure in Rat Kidney

※	NADH diaphorase																			
	Control					30min. Exp					60min. Exp.					120min. Exp				
						1% CO					0.7% CO					0.4% CO				
	○	±	+	++	###	○	±	+	++	###	○	±	+	++	###	○	±	+	++	###
Outer Cortex				2	4			4	8	3			4	1				1	3	1
Glomeruli	4	2				14	1				4	1				5				
Prox. Con. T.				2	4			5	8	2			4	1				1	3	1
Dis. Con. T.			2	4		4	8	3					4	1		1	3	1		
Inner Cortex			2	3	1	2	9	4			1	2	2			1	3	1		
Prox. Con. T.			2	4		6	8	1			4	1				4	1			
Thick Asc. L.			1	4	1			8	7				3	2				4	1	
Collect D.			2	4		5	7	3			2	2	1			1	3	1		
Outer Medulla				2	4			3	11	1			4	1					4	1
Thin Limb	6					15					5					5				
Thick Asc. L.				2	4			3	11	1			4	1					4	1
Collect D.			2	4		6	8	1			3	2				3	2			
Inner Medulla			4	2		11	3	1			4	1				4	1			
Thin Limb			6			14	1				5					5				
Collect D.			2	4		11	3	1			4	1				5				
Arcuate Art.				6				2	13				5					1	4	

※ ○: Negative ±: Doubtful +: Mild, ++: Moderate, ###: Marked $P < 0.05$, $P < 0.01$

Table 4. Histochemical Changes Resulting from Different Degree of Acute CO-Exposure in Rat Kidney

	Lactic Acid Dehydrogenase																				
	Control					30min. Exp.					60min. Exp.					120min. Exp.					
						1% CO					0.7% CO					0.4% CO					
	※	○	±	+	‡	‡	○	±	+	‡	‡	○	±	+	‡	‡	○	±	+	‡	‡
Outer cortex		2	3	1		3	11	1		1	3	1		1	4						
Glomeruli	2	4				2	13			2	3			2	3						
Prox. Con. T.		2	3	1		3	11	1		1	3	1		1	4						
Dis. Con. T.		4	2			5	10			2	3			3	2						
Inner Cortex			3	3		4	9	2		4	1			4	1						
Prox. Con. T.			4	2		11	4			4	1			4	1						
Thick Asc. L.			3	3			10	5		4	1			3	1						
Collect D.			4	2		4	9	2		3	2			4	1						
Outer Medulla			4	2			9	6		2	2	1		2	3	1					
Thin Limb		4	2			11	4			4	1			4	1						
Thick Asc. L.		1	3	2		4	10	1		3	2			4	1						
Collect D.		4	2			1	9	5			2	3			2	3					
Inner Medulla		4	2			4	9	2			3	2		1	3	1					
Thin Limb	1	5				14	1			5				3	2						
Collect D.		3	3			4	9	2			2	3			2	3					
Arcute Art.			4	2			11	4			5				5						

※ ○: Negative, ±: Doubtful, +: Mild, ‡: Moderate, ‡: Marked P<0.05, P<0.01

Table 5. Histochemical Changes Resulting from Different Degree of Acute CO-Exposure in Rat Kidney

	Alkaline Phosphatase																				
	Control					30min. Exp.					60min. Exp.					120min. Exp.					
						1% CO					0.7% CO					0.4% CO					
	※	○	±	+	‡	‡	○	±	+	‡	‡	○	±	+	‡	‡	○	±	+	‡	‡
Outer Cortex			1	4	1	2	8	5		2	2	1		1	3	1					
Glomeruli	5	1				13	2			5				4	1						
Prox. Con. T.			1	4	1	2	8	5		2	2	1		1	3	1					
Dis. Con. T.		1	5			9	6			4	1			2	3						
Inner Cortex			5	1		10	5			3	2			2	3						
Prox. Con. T.			5	1		10	5			3	2			3	2						
Thick Asc. L.	6					15				5				5							
Collect D.		3	3			12	3			5				3	2						
Outer Medulla	4	2				8	5	2		2	2	1		4	1						
Thin Limb	4	2				4	6	5		2	2	1		1	4						
Thick Asc. L.	6					15				5				5							
Collect D.	6					15				5				5							
Inner Medulla	6					15				5				5							
Thin Limb	6					15				5				5							
Collect D.	6					15				5				5							
Arcuate Art.		2	4			11	4			4	1			3	2						

※ ○: Negative, ±: Doubtful, +: Mild, ‡: Moderate, ‡: Marked P<0.05, P<0.01

120分間 1例은 증가)과 集合管 그리고 外髓質의 厚上行細尿管에서는 유의한 輕度의 減소를 나타내었으나 反面에 外髓質의 集合管도 輕微한 증가를 나타냈다. (Fig. 10) 絲球體와 薄下行細尿管은 그 活性이 미약하여 中腔管鏡을 할 수 없었다. 弧狀動脈도 유의한 變化를 나타내지 않았다.

그러므로 急性 CO폭로시 LDH의 活性度는 皮質은 減소, 髓質은 增加하는 경향을 나타냈다고 사료되었다 (Table 4).

d) Alkaline phosphatase

정상대조군에서는 內外皮質에 강한 反應을 나타냈으나 髓質은 染色되지 않으므로 皮質髓質境界는 鮮명하였다(Fig. 11). 活性을 부위별로 관찰하면 사구체는 미약했고, 外皮質의 近位曲細尿管 특히 刷子緣 (brush border)에 아주 강한 活性이 나타났으며 遠位曲細尿管과 內皮質의 近位曲細尿管은 中等度, 集合管은 輕度의 反應이 관찰되었으나 厚上行細尿管과 髓質인 活性이 없었다. 弧狀動脈에서는 外膜에 輕度 내지 中等度の 活性을 나타냈다.

한편 1% CO를 30分間 폭로한 白鼠의 腎臟에서 전체 細尿管의 Alk. P. 活性이 개체차를 두고 輕度 내지는 中等度の 減소를 나타냈으며 ($P < 0.05$, $P < 0.01$) 부위별로 變化를 관찰하면 外皮質의 近位曲細尿管이 中等度였고 ($P < 0.01$) 遠位曲細尿管이 輕度였으며 內皮質의 近位曲細尿管과 集合管은 輕度의 減소를 나타내었다. ($P < 0.05$) 絲球體 反應은 미약하여 活性의 中腔管鏡을 할 수 없었다. Alk. P.의 活性變化가 폭로後 外髓質의 薄下行細尿管이 酵素圓柱에 의하여 Alk. P.에 강하게 染色되어 早期에 皮質髓質境界部가 不分明하게 되는 早期變化 관찰이 용이한 것이 특이하였다. (Fig. 12)

0.7% CO를 60분간, 그리고 0.4% CO를 120分間 폭로한 群도 그 反應이 類似하여 Alk. P.의 活性이 輕度 내지 中等도로 減소하였다. ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 弧狀動脈 外膜의 活性은 미약한 減소를 보였으나 대조군과 有意한 差는 아니었다. 그러므로 Alk. P.의 活性度는 外皮質에서는 中等度 減소하나 內髓質의 薄下行細尿管에서는 효소 圓柱에 의하여 輕度 내지는 中等度 증가 현상을 나타내었다고 사료되었다 (Table 5)

總括 및 考案

1% CO로 急性 폭로후 死亡한 白鼠腎에서 관찰된 急性一酸化炭素中毒에 因한 腎의 病理組織學的 變化는

中等度以上の 鬱血과 輕度의 出血 所見으로서 그 病變의 가장 현저한 부위는 皮質과 髓質境界部이었다고 보고한바 있으나(金, 1973; 朴, 1974), 본실험에서는 1% CO를 30分間 0.7% CO를 60分間 폭로한 群에서 白鼠腎外髓質의 直行血管의 심한 鬱血과 腔胞 變性, 內皮質의 壞死 및 再生이 관찰되어 急性一酸化炭素中毒時 人體에서의 所見과 같이(방, 1971) 腎細尿管壞死가 招來될 수 있으며 侵害部位는 內皮質이며 細尿管에서는 近位曲細尿管의 末端部라고 생각되었다.

이 관찰은 Vogt等(1968)과 Wachstein等(1954, 1957)의 腎動脈 遮斷後 急性低酸素症 또는 中毒性腎病變의 脆弱部가 內皮質의 近位曲細尿管 末端部였다는 보고와 일치되는 所見이라 하겠다. 이러한 사실은 急性一酸化炭素中毒이 腎에 미치는 基本的作用機轉은 組織內的 低酸素症에 의한다고 理解되나 0.4% CO를 120分間 폭로한 腎에서는 그 變化가 미약하여 鬱血 정도는 대조군과 類似했으나 1例에서 細尿管壞死가 內皮質에서 發生된 것은 一酸化炭素로 因한 심한 鬱血과 血流的 停滯가 반드시 선행조건이라고는 볼 수 없을 듯하며 細尿管에 대한 직접적인 작용으로 추측된다.

Lunseth (1960)도 腎動靜脈 遮斷後 15, 30, 45, 60分에 각각 檢索했던바 45分후부터 심한 壞死와 再生을 관찰했다고 보고하고 있고 30分以前에는 그 變化가 극히 미약했다고 보고했으나 본 실험에서는 1% CO로 30分 폭로후 有意한 壞死와 再生을 관찰할 수 있었으므로 단순한 低酸素症보다 더 組織的 變化를 빨리 招來할 수 있다는 가능성이 思料되었다. Kinula (1976)도 단순 低酸素症(10% O₂)과 急性一酸化炭素 폭로후 SDH의 活性度를 檢討했던 바 一酸化炭素 폭로후 30分이 경과되면 活性이 減少되었으나 저산소중時에는 3時間 경과후에도 큰 變化가 없다고 주장하여 一酸化炭素中毒의 機轉이 단순히 CO-Hb結合에 의한 低酸素症에 의한 것만이 아니고 복합적인 다른 要因이 있을 것이라고 주장하였다.

腎臟의 주요기능은 細尿管에서의 排泄수과 분비기능이며 이 機能의 유지를 위해 다량의 ATP가 소요되게 되므로 풍부한 Energy代謝에 관여하는 酸化酵素들이 많이 존재하고 있으며 특히 絲粒體內에 많이 分布되어 있다. 따라서 酵素들의 活性度變化는 細尿管기능 및 形態學的 構造에 지대한 영향을 미치리라 생각된다. 즉, SDH活性低下는 TCA cycle에 관여하여 ATP 生産에 직접적인 저하를 招來하게 되어 腎細尿管에서의 葡萄糖 再吸收機能이 低酸素症에서 低下되게 된다고 알려져 있으며(Pitts, 1970) 急性一酸化炭素中毒時에도

SDH와 NADH diaphorase 같은 酸化酵素活性이 減少되리라 예상된다. 本實驗에서도 1% CO로 30分間 0.7% CO로 60分間 그리고 0.4% CO로 120分間 一酸化炭素, 폭로후 S.D.H나 NADH diaphorase의 活性度는 각각 통계적으로 有意한 減少를 보였다. 그러나, 酵素를 풍부히 함유하여 강한 活性을 나타냈던 外皮質의 近位曲細尿管이나 厚上行細尿管보다 內皮質의 末端近位曲細尿管과 外髓質의 集合管에서 현저하게 관찰되었다. 0.4% CO를 120分間 폭로후 광학현미경적으로 큰 變化를 발견하지 못한 경우에도 SDH와 NADH diaphorase의 活性變化의 減少는 Wachstein等(1955, 1957) 같이 SDH나 NADH diaphorase 活性은 低酸素症時 腎損傷의 敏感한 指標가 됨을 알 수 있다.

또 SDH와 NADH diaphorase는 絲粒體內에 질서정연하게 存在하고 있으므로 活性度變化와 形態學的變化間에 깊은 관련성이 있으리라 추측된다. 李(1976)는 0.5% CO를 10分間 폭로후 絲粒體와 Golgi 복합체의 腫脹과 30分후에는 絲粒體能의 分切 및 消失등을 보고하고 있어 酵素活性이 低下되리라 생각된다. 또 Vogt(1968)나 Klionsky(1960)等은 20~25分間の 低酸素症을 일으키면 絲粒體變化가 가장 먼저 發見된다고 보고함과 동시에 젖산의 축적, 絲粒體의 酸化附磷酸反應(oxidative phosphorylation)의 減少 그리고 SDH의 活性減少를 보고했다. 뿐만아니라 一酸化炭素는 cytochrome oxidase의 活性을 억제함으로써 (Slater, 1949) ATP를 생산하는 과정에 직접 영향을 미쳐 ATP생성이 단순한 저산소증에 의한 絲粒體變化 및 組織學的變化가 더 급속히 초래되어 酵素活性이 현저히 低下되리라 思料되며 이러한 中毒狀態가 지속될 때 組織의 變性 내지 壞死가 초래될 수 있다고 생각된다.

急性一酸化炭素中毒時 전체적인 LDH의 活性度變化는 初期에는 큰 變化가 없거나 減少하는 경향을 나타내다가 시간이 경과됨에 따라 서서히 增加되고 部位別로 그 活性의 차이를 나타내고 있어 脆弱部인 內皮質에서는 減少, 外髓質의 集合管에서는 增加하는 경향을 나타내었다($P < 0.01$). 즉 急性一酸化炭素中毒에 대한 耐性내지 減受性은 해당 組織內에 含有된 LDH를 사용하여 嫌氣性解糖作用을 통한 熱量供給을 할 수 있으나에 起因된다고 思料되었으며 특히 壞死와 再生이 현저했던 內皮質의 脆弱性과 LDH變化와의 관련성을 암시하였으며 正常的 狀態에서의 各細尿管과 部位의 酵素供給狀態와의 관련성도 추측할 수 있었다.

李(1976)는 組織化學적으로 線條體(Corpus striatum)에서 0.5% CO와 0.25% CO폭로 1시간 경과후 강한

LDH의 양성반응을 관찰했다고 주장했으며 心筋에서는 미약한 增加(李, 1978)를 보였다. Kim等(1969)은 急性低酸素症을 6分동안 일으켜 腎, 心 등에서 SDH와 LDH의 감소를 관찰함과 동시에 臟器마다 相異함을 주장 하였다. 또 林等(1970)은 0.7% CO를 8시간 폭로후 肝, 心腎, 腦에서 LDH가 減少했다고 주장하여 아직 LDH活性에 관한 理論이 많은 것으로 알려져 있으며 또 低酸素症을 일으키면 肝에서는 3시간內에 ATP는 정상외 6%로 감소되고 젖산(lactic acid)濃度는 20배 이상 증가된다고 했으며, 腎臟에서도 젖산의 量이 10分에서 2시간의 低酸素症 상태에서 점차 증가해 10分후에는 정상외 2배 2시간후에는 12배나 증가했으며 ATP는 20%정도 유지되고 있었다고 보고하였다(Wachstein, 1957)

Alk. P.는 腎臟에서는 皮質의 近位曲細尿管에 存在하여 有機磷酸化合物(organic phosphate ester)를 加水分解하여 葡萄糖의 재흡수에 관여하고 있어(Pitts, 1970; 李, 1973)특히 細尿管內面 刷子緣(brush border)에 많이 분포되어 있다.

急性一酸化炭素 폭로후 Alk. P.의 變化를 관찰하던 皮質의 近位曲細尿管의 活性이 모두 急減少하여 敏感한 反應을 보여주었고 정상적으로 活性이 없던 薄下行細尿管의 內腔에 Alk. P.의 활성이 나타났는데 이것은 刷子緣에 存在하던 Alk. P가 尿로 배설되어 酵素圓柱를 형성한 것이라고 할 수 있겠다. 이러한 현상은 Lunseth(1960)의 신장혈관 結紮後 腎貧血狀態에서 시간경과에 따라 腎臟의 Alk. P.의 活性減少와 尿와 血中活性이 증가된 결과와 Gowing 등 (1956)과 Koletsky (1954)도 急性低酸素症 유발시 內皮質의 近位曲細尿管이 가장 심한 영향을 받으며 Alk. P.의 圓柱가 細尿管에서 관찰되었다는 결과와 일치하는 소견이라 보겠다.

以上の 急性一酸化炭素 폭로후 야기된 여러 酵素의 活性度變化와 조직학적 變化를 통해 본 실험결과로 보아 一酸化炭素 폭로에 의한 病理組織學的 變化는 CO-Hb에 의한 低酸素症과 生物學的 酸化反應系酵素의 活性低下等 여러要因의 복합된 결과라고 생각되었다.

또 急性一酸化炭素 폭로에 의하여 內皮質이 가장 脆弱部位이며 그 중에서도 近位曲細尿管의 末端部가 가장 현저하였고 急性低酸素症때와 거의 類似한 所見을 보여주어 基本的인 機轉의 同一性을 암시해 주고 있으며 또 內皮質의 SDH, NADH diaphorase, LDH, Alk. P. 등의 有意한 減少가 그 현상을 잘 반영해 주고 있다고 생각되어 組織學的 變化와 酵素活性間에 相互關聯性이 思料되었다.

結 論

受胎된 白鼠의 腎에 急性一酸化炭素폭로가 미치는 影響에 關하여 病理組織學的 및 酵素組織化學的으로 究明하고자 65마리의 受胎白鼠를 使用하여 4實驗群 (15마리의 對照群, 30마리의 1% CO濃度 30分 폭로群 12마리의 0.7% CO濃度 60分 폭로群 및 8마리의 0.4% CO濃度 120分 폭로群)으로 나누어 受胎 初半期에 實驗 처치후 그 腎을 摘出하여 paraffin包埋法으로 組織標本을 作成하여 病理組織學的으로 觀察하고, 아올러 Succinic dehydrogenase, NADH diaphorase, Lactic dehydrogenase 및 Alkaline phosphatase等 酵素의 腎組織內 活性度를 組織化學的으로 檢索하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1) 1% CO濃度 30分폭로群 및 0.7% CO濃度 60分 暴露群에서 현저하였으며 그 主要腎所見은 高度의 鬱血 및 細尿管 腔胞性變性과 壞死이였으며 部位에 따라 細尿管 上皮再生像을 볼 수 있었다.

鬱血은 外髓質의 直行血管에서 현저하였으며 細尿管의 壞死 및 焦點性인 上皮再生을 招來하고 脆弱部는 內皮質의 近位曲細尿管의 末端部와 外髓質의 集合管이 었다. 對照群 및 0.4% CO 120分 폭로群의 腎所見은 Hematoxylin-Eosin 重復染色標本上에서 特異所見은 관찰되지 않았다.

2) SDH 및 NADH diaphorase의 活性度는 輕度내지 中等度の 活性減少를 보였으며 ($P < 0.05$, $P < 0.01$) 두 酵素 共히 類似한 活性의 程度를 細尿管에서 보여주었다. 部位에 따르는 分布는 內皮質의 近位曲細尿管과 外髓質의 集合管이 中等度 그밖의 細尿管에서 輕度の 活性 減少를 보였으나 弧狀動脈 中膜의 活性度는 有意한 差를 認定키 어려웠다. 특히 細尿管의 壞死部位에서 是 酵素活性이 極히 微弱하거나 거의 觀察되지 않았다.

3) LDH活性度는 內皮質의 近位曲細尿管에서 큰 減少를, 그밖의 內外皮質內 細尿管과 外髓質의 厚上行細尿管에서는 輕微한 減少를 나타냈으나 ($P < 0.05$) 外髓質의 集合管은 輕度내지 中等度の 活性度增加가 관찰되었다. ($P < 0.01$) 弧狀動脈의 中膜에서는 意義있는 差를 認定키 어려우나 減少의 傾向을 나타낸다고 理解되었다.

4) Alk. P.의 活性度는 輕度내지 中等度の 減少를 보이고 그 分布는 內外皮質의 近位曲細尿管에서 中等度の 活性減少를 ($P < 0.01$) 보이나 外髓質의 薄下行細

尿管部에서는 강한 活性을 가지고 皮髓質 境界部는 部分的으로 그 活性差異가 分明치 않았다. ($P < 0.01$) 弧狀動脈 外膜의 LDH活性度는 그 差異가 有意치 않았다.

5) 以上の 所見은 急性一酸化炭素 폭로群에서 폭로後 심한 鬱血, 細尿管의 腔胞性變性 및 壞死에 依해 急性腎不全症을 招來할 수 있음을 제시하고 그 脆弱部는 內皮質이며 특히 近位曲細尿管의 末端部에서 가장 현저한 病理組織學的 變化와 酵素活性의 減少를 나타낸다 急性一酸化炭素 폭로時 一酸化炭素中毒白鼠腎에서 急性腎細尿管壞死 機轉의 一面을 提示하는 것이라 理解되었으며 各種酵素의 有意한 減少로 腎의 解剖學的 部位에 따르는 分布의 差異를 나타냄으로서 部位와 의 相關性을 생각해 하였다.

—ABSTRACT—

Histopathologic and Enzyme Histochemical Studies on the Effect of Acute Carbon Monoxide Poisoning in Rat Kidney

Kye Yong Song, M.D. and
Eui Keun Ham, M.D.

Department of Pathology, College of Medicine,
Seoul National University

Carbon monoxide poisoning has been one of the most serious medical problems in Korea. The frequent accidents are mainly due to the nationwide public uses of anthracite coal briquette as main domestic and industrial fuel. Recently, some of clinical observation of acute renal failure in patients of carbon monoxide poisoning were reported. An experimental study was performed to observe the effects of acute carbon monoxide poisoning on the kidney of rats, by means of histopathologic and enzyme histochemical methods, attempting to explore the mechanism behind the process of acute renal failure.

Experimental animals (Sprague-Dawley rats, 67 female, 210-280gm.) were divided into four groups by the duration of exposure and the concentration of carbon monoxide; control (15 rats, unexposure), 1% CO exp. (30min.), 0.7% CO exp. (12 rats, 60min.) and 0.4% CO exp. (8 rats, 120 min.). Histopathological investigation and the enzyme activities of succinic dehydrogenase (SDH), NADH diaphorase, lactic

dehydrogenase (LDH) and alkaline phosphatase (Alk. P.) in kidney were observed by hematoxylin eosin staining and appropriate enzyme histochemical stainings.

The results obtained were as follows:

1) Histologic section of rat kidney in groups of 30 min and 60 min. acute poisoning with 1% and 0.7% carbon monoxide revealed moderate to marked congestion of vasa recta especially in the corticomedullary junction associated with moderate degree hydropic degeneration of collecting tubules. Mild to moderate tubular necrosis and focal regeneration were observed mainly in the distal part of proximal convoluted tubules in the inner cortex. The group of 120 min. 0.4% acute poisoning showed a case of mild tubular necrosis out of 8 animals.

2) SDH and NADH diaphorase activities in all experimental groups were significantly decreased ($p < 0.05$, $p < 0.01$). Decrement of activity was marked in the distal part of proximal convoluted tubules of inner cortex, especially in the necrotic lesion of tubules, which were appeared as unstainable degree. The media of arcuate artery was not significantly stained.

3) LDH activities in all experimental groups generally decreased mild to moderate in degree with delicate segmental selectivity. Decrement of activity were prominent in the distal part of proximal convoluted tubules of inner cortex, but in groups of 60-120 min. CO exposure were kept to rich LDH stainability in the collecting ducts of outer medulla. Activity in the media of arcuate artery was tendencious decrease.

4) Activities of Alk. P. were decreased moderately but rapidly in the brush border of proximal convoluted tubules of cortex ($p < 0.01$), with presence of enzyme casts in the Henle's loop, resulting to slight blurring of corticomedully junction. The adventitia and media of arcuate artery was not stained significantly.

5) Above histopathologic and enzyme histochemical findings seemed to support that acute tubular necrosis, which might be resulted in acute renal failure could be induced by acute carbon monoxide poisoning, and the most vulnerable portion of renal parenchyma was to be inner cortex, especially distal part of proximal convoluted tubules.

REFERENCES

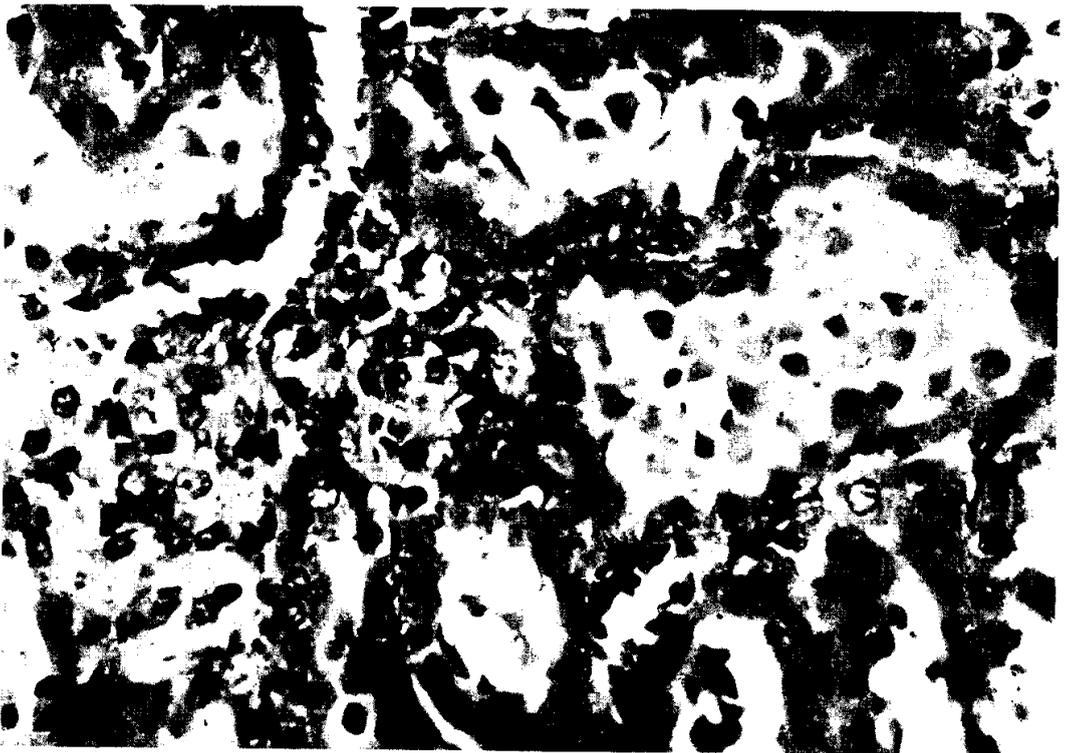
- 김영균 : 급성 및 만성일산화탄소 중독이 백서 신 및 타 장기에 미치는 영향에 관한 병리조직학적연구. 대한비뇨기과 학회지, 14:129, 1973.
- 김인달, 윤덕로 : 일산화탄소 중독, 서울, 광문인쇄소, 1969.
- 박종철 : 만성일산화탄소 폭로가 백서 신에 미치는 영향에 관한 실험적 연구, 대한비뇨기과학회지, 15:231, 1974.
- 방병기, 원대식, 민병석 : 급성 신 부전증을 동반한 일산화탄소 중독증 대한의학협회지, 14:972, 1971.
- 송계용, 함의근, 조수현, 윤덕로 : 만성일산화탄소 중독이 백서의 태반에 미치는 영향에 관한 병리조직학적 연구, 대한병리학회지 11:199, 1977.
- 윤덕로, 조수현 : 연탄가스 중독의 발생 및 진료실태에 관한 조사연구, 대한의학협회지, 20:705, 1977.
- 이 영, 이영관, 윤덕로 : 급성 일산화탄소 중독시 흰 쥐심근에 있어서 조직화학적 변화연구, 서울의대 학술지, 18:205, 1977.
- 이홍식 : 일산화탄소가 흰쥐 신조직에 미치는 영향에 관한 조직화학적 및 전자현미경적 연구, 서울대수의대 논문집, 1:1, 1976.
- 이홍식, 배기원 : 일산화탄소 중독이 생쥐신장의 *alkaline phosphatase* 활성에 미치는 영향. 대한해부학회지 6:73, 1973.
- 임종명, 윤덕로, 김인달 : 만성 일산화탄소 중독이 백서의 임신손모에 미치는 영향에 관한 실험적 연구, 서울의대 학술지, 18:1, 1977.
- 임취범 : 일산화탄소 중독시 가토 조직내 *Lactic dehydrogenase* 활성 변화에 관한 연구, 연세의대 논문집, 3:160, 1970.
- Beck, H.G. and G.M. Suter: *Role of carbon monoxide in the causation of myocardial disease. J.A.M.A.*, 110:1982, 1938.
- Bloom, W.L.: *Glucogenolysis in the anoxic heart, Am. J. Physiol.*, 186:518, 1956.
- Breedis, C., C.M. Flory and J. Furth: *Alkaline phosphatase level in urine in relation to renal injury, Arch. Path.*, 36:402-412, 1943.
- Burstone, M.S.: *Histochemical comparison of naphthol AS-phosphate for the demonstration of phosphatases. J. Nat. Ca. Inst.*, 20:601, 1958.
- Burstone, M.S.: *Histochemical demonstration of phosph-*

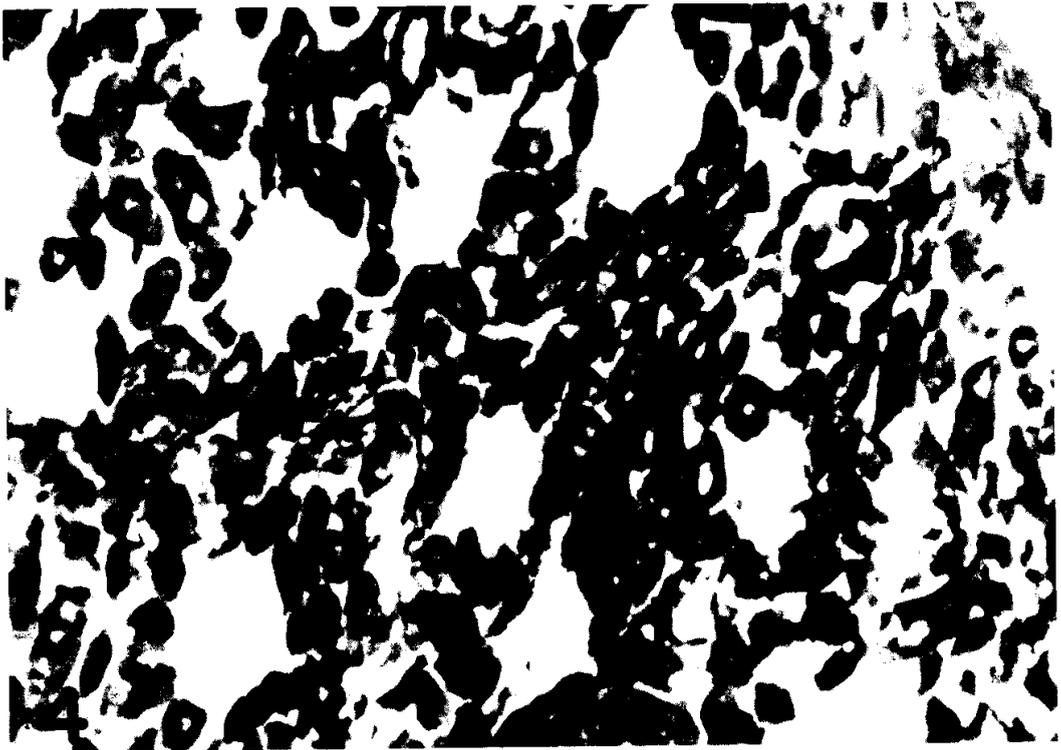
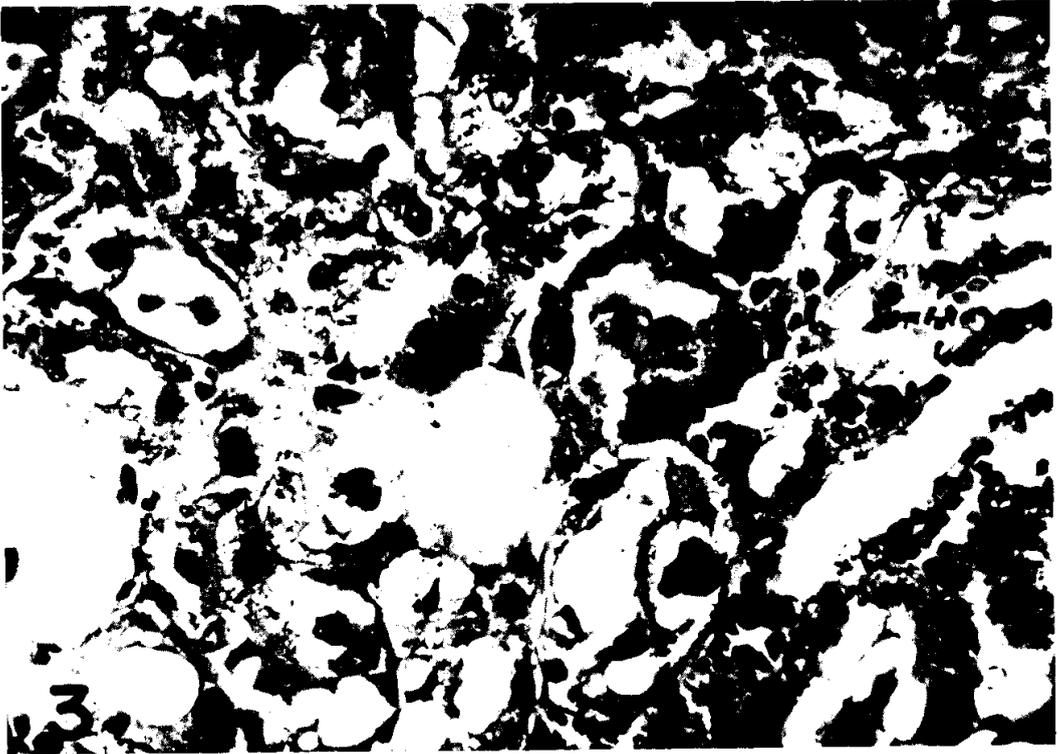
- hatase in frozen sections with naphthol AS-phosphates. *J. Histochem Cytochem.*, 146, 1960.
- Dagenhardt, K.H.: Craniofacial dysplasia induced by oxygen deficiency in rabbits. *Biologia Neonat.*, 2:93, 1960.
- Farber, E., W.H. Sternberg and C.E. Dunlap: Histochemical localization of specific oxidative enzymes. III. Evaluation studies of tetrazolium staining methods for diphosphopyridine nucleotide diaphorase, triphosphopyridine nucleotide diaphorase and the succinate dehydrogenase system. *J. Histochem. Cytochem.*, 4:284, 1956.
- Gold, A.J., T.F. Johnson and L.C. Costello: Effects of altitude stress on mitochondrial function. *Am. J. Physiol.* 224:946, 1973.
- Goldsmith, J.R. and S.H. Landaw.: Carbon monoxide and human health, *Science*, 162:1352, 1968.
- Gowing, N.F.C. and D. Dexter: The effects of temporary renal ischemia in normal and hypothermic rats. *J. Path. Bact.*, 72:519, 1956.
- Hamburger, J., G., Richet, J.P. Grünfeld, and A. Walsh: *Structure and function of the kidney*. W.B. Saunders Co. Philadelphia, 1971.
- Hellung-Larsen, P., T., Laursen, K. Kielsen, and P. Astrup: Lactate dehydrogenase isoenzymes of aortic tissue in rabbits exposed to carbon monoxide. *J. Athero. Res.*, 8:343, 1963.
- Hoppe, B.: The structural and histochemical picture of carbon monoxide gliopathy in vitro. *Neuropath. Pol.*, 12:371, 1974.
- Ingalls, T.H. and F.J. Curley: Principles governing the genesis of congenital malformation induced in mice by hypoxia. *New. Eng. J. Med.*, 257:1121, 1957.
- Ingalls, T.H. and G. Philbrook: Monstrosities induced by hypoxia. *New. Eng. J. Med.*, 259:558, 1958.
- Kim, M.S. and S.S. Han: Studies on hypoxia IV. Differential response of respiratory enzymes in various organs of adult rats. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 130:1042, 1969.
- Kinnula, V.L. and K. Juujarvi: Liver and heart mitochondrial succinate dehydrogenase activity of new born rats in anoxic hypoxia and starvation. *Acta. Physiol. Scand.*, 97:357, 1976.
- Klionsky, B.: Myocardial ischemia and early infarction histochemical study. *Am. J. Path.*, 36:575, 1960.
- Koletsky, S.: Effects of temporary interruption of renal circulation in rats. *Arch. Path.*, 58:592, 1954.
- Longley, J.B. and E.R. Fisher: Alkaline phosphatase and periodic acid Schiff reaction in the proximal tubule of the vertebrate kidney: A Study in segmental differentiation. *Anat. Rec.*, 120:1, 1954.
- Lunseth, J.H.: Urinary excretion of alkaline phosphatase following renal ischemia in rats. *Arch. Path.*, 70:581, 1960.
- McBay, A.T.: Carbon monoxide poisoning. *New. Eng. J. Med.*, 272; 252, 1965.
- Nachlas, M.M., K.C., Tsou, E.D., Souza, C.S. Cheng, and A.M. Seligman: Cytochemical demonstration of succinate dehydrogenase by the use of a new p-nitrophenyl substituted ditetrazole. *J. Histochem.*, 5:420, 1957.
- Oliver, J., M. Mac Dowell, and A. Tracy: The pathogenesis of acute renal failure associated with traumatic and toxic injury; Renal ischemia, nephrotoxic damage and the ischemic episode. *J. Clin. Invest.*, 30:1307, 1951.
- Padykula, H.A.: The localization of succinate dehydrogenase in tissue sections of the rat. *Am. J. Anat.*, 91:107, 1952.
- Pitts, R.F.: *Physiology of kidney and body fluid*. 2nd ed. pp71, Yearbook Medical Pub. Inc. Chicago, 1970.
- Pollak, V.E. and H. Mattenheimer: Enzyme activity in the nephron. *Arch. Int. Med.*, 109:473, 1962.
- Roughton, F.J.W., and R.C. Darling: The effect of carbon monoxide on the oxyhemoglobin dissociation curve. *Am. J. Physiol.*, 141:17, 1945.
- Schwedenberg, T.H.: Leukoencephalopathy following carbon monoxide asphyxia. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 18:597, 1959.
- Seligman, A. M. and A.M. Rutenberg: The histochemical demonstration of succinate dehydrogenase. *Science*, 113:317, 1951.
- Shafer, N., M.G., Smilary and F.P. MacMillan: Primary myocardial disease in man resulting from acute carbon monoxide poisoning. *Am. J. Med.*, 38:316, 1965.
- Slater E.C.: A comparative study of the succinate dehydrogenase

- ydrogenase cytochrome system in heart muscle and in kidney. Biochem. J.*, 45;1, 1949.
- Sternberg, W.H., E. Farber, and C.B. Dunlap: *Histochemical localization of specific oxidative enzymes; II. Localization of diphosphopyridine nucleotide and triphosphopyridine nucleotide diaphorases and the succinidehydrogenase system in the kidney. J. Histochem. Cytochem.*, 4:266, 1956.
- Vogt, M.T. and E. Farber: *On the molecular pathology of ischemic renal cell death. Am. J. Path.*, 53: 1, 1968.
- Wachstein, M.; *Histochemical staining reactions of the normally functioning and abnormal kidney. J. Histochem. Cytochem.*, 3:246, 1955.
- Wachstein, M. and E. Meisel: *A comparative study of enzymatic staining reaction in the rat kidney with necrobiosis induced by ischemia and nephrotoxic agents. J. Histochem. Cytochem.*, 5:204, 1957.
- Wachstein, M. and E. Meisel: *Influence of experimental renal damage on histochemically demonstrable succinic dehydrogenase activity in the rat. Am. J. Path.*, 30: 147, 1954.
- Ziegler, F.D.: *Respiratory and phosphorylation responses to hypoxia and food restriction. Am. J. Physiol.*, 212:197, 1967.

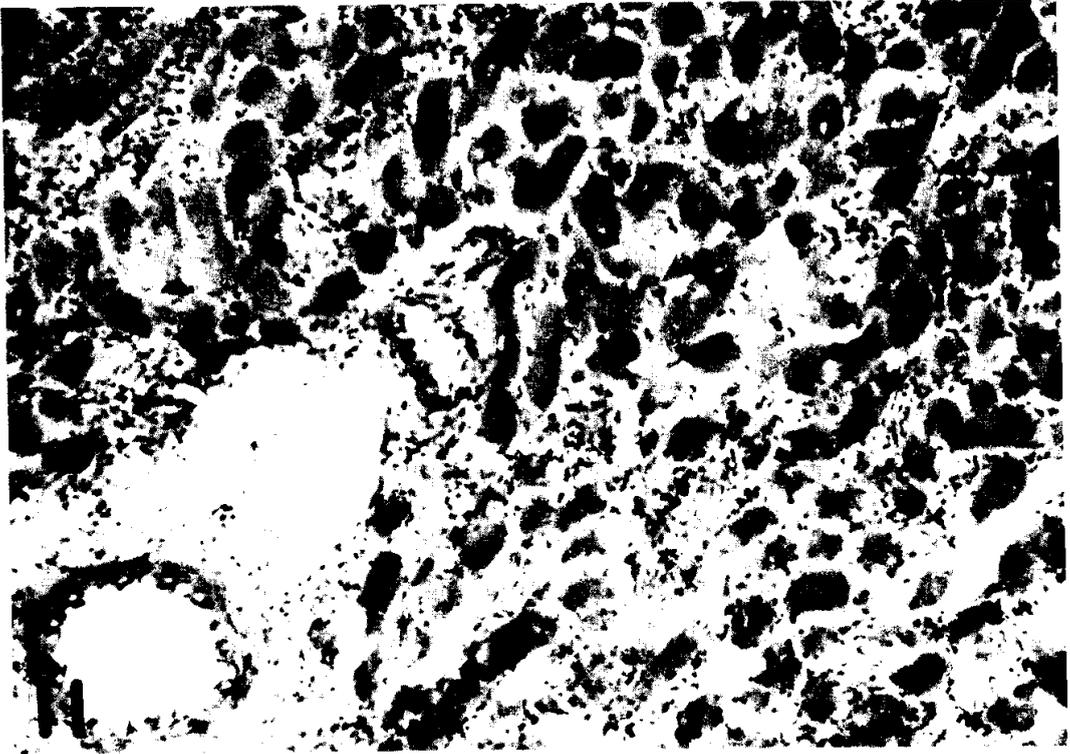
LEGENDS FOR FIGURES

- Fig. 1.** Marked congestion of vasa recta in the corticomedullary junction of rat kidney after CO exposure (1%, 30 Min.), H & E \times 100.
- Fig. 2.** Acute tubular necrosis of proximal convoluted tubules of rat kidney after CO exposure (0.4%, 2 hours), H&E \times 400.
- Fig. 3.** Epithelial regeneration of proximal convoluted tubules of rat kidney after CO exposure (0.7%, 1 hour), H&E \times 400.
- Fig. 4.** Rich SDH activity in the tubules of outer cortex of rat kidney in control group. Note negative for staining in glomeruli (unexposure), SDH \times 100.
- Fig. 5.** Moderately decreased SDH activity in the tubules of outer cortex of rat kidney after CO exposure (1%, 30 Min.), SDH \times 100.
- Fig. 6.** Markedly decreased SDH activity in the inner cortex, undergoing acute tubular necrosis of rat kidney after CO exposure (1%, 30 Min.), SDH \times 100.
- Fig. 7.** Loss of SDH activity in the necrotic inner cortex of rat kidney after CO exposure (0.4%, 2 hours), SDH \times 400.
- Fig. 8.** Rich NADH diaphorase activity in the inner of rat kidney in control group. Cortico-medullary junction (unexposure), NADH diaphorase \times 100.
- Fig. 9.** Moderately decreased NADH diaphorase activity in the cortico-medullary junction of rat kidney after CO exposure (1%, 2 hours), NADH diaphorase \times 100.
- Fig. 10.** Decreased LDH activity in ascending thick limbs in outer medulla of rat kidney after CO exposure. Note rich activity in the adjacent collecting ducts (0.4%, 2 hours), LDH \times 400.
- Fig. 11.** Rich Alk.P. activity in the proximal convoluted tubules of outer cortex in control group (Unexposure), Alk.P. \times 100.
- Fig. 12.** Markedly decreased Alk.P. activity in the proximal convoluted tubules and Alk.P. casts in Henles, loops. After Co exposure (1%, 30 min.), Alk.p. \times 100.

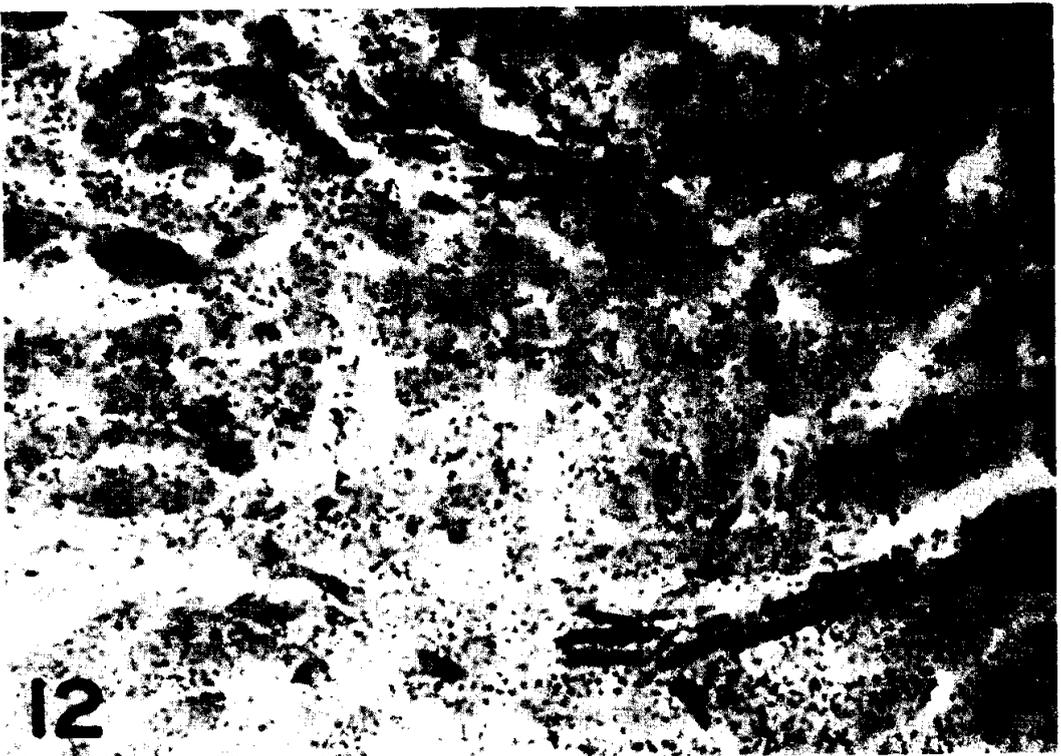








11



12