

## 질산비스마스의 겐타마이신 신독성 경감기전

김정신 · 정해영\* · 노영재 · 이상록

부산대학교 약학대학

(Received October 6, 1992)

### Protective Mechanism of Bismuth Nitrate Against Gentamicin Nephrotoxicity

Jung Sun Kim, Hae Young Chung\*, Young Jae Rho and Sang Rok Lee  
College of Pharmacy, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

**Abstract**—The treatment with gentamicin in the presence of pretreatment with bismuth nitrate significantly reduced blood urea nitrogen compared with given gentamicin alone. But the amelioration of gentamicin-induced nephrotoxicity by bismuth nitrate was abolished by pretreatment with indomethacin that is cyclooxygenase inhibitor, which significantly decreased renal glutathione S-transferase activity and thiobarbituric acid reactive substance compared with mice of given gentamicin and bismuth nitrate. On the other hand, treatment with bismuth nitrate significantly increased prostaglandin E<sub>2</sub> production in rat kidney slice. These results suggest that bismuth nitrate might ameliorate the nephrotoxicity of gentamicin *via* prostaglandin E<sub>2</sub> production.

**Keywords** □ Gentamicin, bismuth nitrate, nephrotoxicity, cyclooxygenase inhibitor, prostaglandin E<sub>2</sub>.

Aminoglycoside계 항생물질인 gentamicin은 Gram 음성균에 대해 우수한 항균작용을 나타내며, 장기투여시 청각장애 및 신독성을 초래하며 gentamicin 치료환자의 10~25%가 임상적으로 신기능에 변화를 가져온다고 보고되어 있다.<sup>1)</sup>

저자 등은 질산비스마스 전투여에 의해 gentamicin의 신독성이 경감되었으며, 신장의 비단백결합 SH 농도가 유의성있게 상승한다는 것을 보고한 바 있다.<sup>2)</sup> 본 연구에서는 질산비스마스가 gentamicin 신독성을 경감시키는 기전을 규명하기 위하여 cyclooxygenase 저해제인 indomethacin을 사용하여 prostaglandin계의 관련성에 대해 연구하였으며, 또한 신장절편을 이용하여 질산비스마스가 prostaglandin E<sub>2</sub> 생성에 미치는 영향을 검토하였다.

#### 실험방법

##### 실험재료

Bismuth nitrate, 4,6-thiobarbituric acid는 Wako 제품(Osaka, Japan)을 사용하였으며, gentamicin은 동신제약제품(Seoul, Korea)을 사용하였다. 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid, glutathione, 1-chloro-2,4-dinitrobenzene, indomethacin은 Sigma제품(St. Louis, USA)을 사용하였다. 또한 prostaglandin E<sub>2</sub>(<sup>125</sup>I) RIA kit는 Du Pont사(Boston, USA)로부터 구입하였다. 그의 시약들은 특급시약을 사용하였다.

##### 실험동물 및 약물투여

ICR 웅성생쥐와 Sprague-Dawley 웅성흰쥐를 구입하여 1주일간 예비사육 후 체중이 각각 25g, 200g 전후의 것을 실험에 사용하였다. 이 때 사육실의 온도는 24±1℃, 습도는 50%, 명암은 12시간 주기로 조정하였다.

\*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

실험 1은 생쥐를 3군으로 나누어 제 1군에는 gentamicin 120 mg/kg/day로 10일간 복강주사하였으며, 제 2군에는 gentamicin 투여 1일 전부터 bismuth nitrate 6 mg/kg/day를 투여하고 그후 gentamicin 120 mg/kg/day과 함께 10일간 복강주사하였다. 제 3군에는 gentamicin 투여 1일 전부터 indomethacin 3.5 mg/kg/day과 bismuth nitrate 6 mg/kg/day를 1일 투여 후, 그후 gentamicin 120 mg/kg/day과 함께 10일간 투여하였다. 각 시료를 투여하지 않은 군에는 생리식염수를 동량 투여하였다.

실험 2는 흰쥐를 각군 5마리씩 2군으로 나누어 대조군에는 생리식염수를 투여하고 bismuth nitrate 투여군에는 bismuth nitrate 24 mg/kg을 복강투여한 후 24 hr 후에 각각 sodium pentobarbital 40 mg/kg을 복강주사 후 마취하여 신통맥을 통하여 생리식염수로 관류하여 혈액을 제거한 후 신장을 적출하였다. 신장을 Stadie-Riggs microtome으로 두께 0.5 mm 정도의 절편을 만들었다. 신장절편(100~300 mg)을 Krebs-Ringer-bicarbonate buffer(119 mM NaCl, 25 mM NaHCO<sub>3</sub>, 4.7 mM KCl, 1.2 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.5 mM MgSO<sub>4</sub>, 2.5 mM CaCl<sub>2</sub>, 1 mg/glucose 및 1 mg/bovine serum albumin)에 37°C에서 50분간 preincubation한 후, 1군에는 생리식염수를 투여한 군의 신장절편의 well에 Krebs' buffer를, 2군에는 bismuth nitrate 투여군 신장절편의 well에 Krebs' buffer를 가한 후 5, 20, 40 min에서 일정량의 시료를 채취하여 -80°C의 냉동고에 보관 후 prostaglandin E<sub>2</sub>를 측정하였다.

#### 측정방법

**Blood Urea Nitrogen(BUN) 측정**—시판 Kit를 사용하여 urease-indophenol법에 의해서 실험을 실시하였다. 원심분리한 혈액 상청액을 시료로 하여 효소사용액을 1.5 ml 가한 다음에 37°C에서 15분간 방치시켰다. 차아염소산시액을 1.5 ml 가하고 37°C에서 5분간 방치시킨 다음 540 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

**신장의 비단백결합 SH 농도의 측정**—Saville법<sup>3)</sup>에 의해서 측정했으며 10% 신장균질액에 동량의 10% trichloroacetic acid 용액을 가하여 원심분리를 실시했다. 상등액 0.2 ml을 시료로 하여 0.0 M NaNO<sub>2</sub> 1 vol.과 0.2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 9 vol.을 혼합용시 조제하여 0.5 ml를 가한 다음에 5분간 방치시켰다. 0.5% sulfamic acid ammonium 수용액 0.2 ml을 가하여 강하게

혼화한 후 1% HgCl<sub>2</sub> 1 vol.과 3.4% sulfanilamide/0.4 N HCl 9 vol.을 혼합하여 1 ml 가하였다. 그리고 0.1% N-1-naphthylendiamine 용액을 1 ml 가하였다. 5분간 방치 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 용액으로서 125 μM glutathione 용액을 사용하였다.

**신장의 단백질결합 SH 농도의 측정**—0.2 M Tris 완충액(pH 8.2) 1 ml 0.01 M 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid 0.1 ml, 메탄올 4 ml을 취한 다음에 10% 신장균질액 0.1 ml를 가하여서 24°C에서 15분간 방치하였다. 원심분리 후 412 nm에서 흡광도를 측정하여 전체단백결합 SH 농도를 계산하였다. 앞에서 측정한 비단백결합 SH 농도를 제하여 단백질결합 SH 농도를 구하였다.<sup>4)</sup>

**TBA 반응물질의 정량**—16.8% trichloroacetic acid/0.4 N HCl 100 ml에 416 mg의 thiobarbituric acid (TBA)를 가하여 용해시킨 후 6.8 mM butylated hydroxytoluene 용액을 가해서 정지액으로 사용하였다. 시료 1 ml에 정지액 3 ml를 가한 다음 20분간 가열하였다. 냉각 후 3000 rpm에서 20분간 원심분리시킨 후에 535 nm에서 흡광도를 측정하였다.<sup>5)</sup>

**세포분획 및 glutathione S-transferase 활성측정**—생쥐를 단두한 후 신속하게 복강을 개복하여 신장을 적출하였다. 생리식염수로 혈액을 제거한 후 신장 중량의 3배량의 0.25 M 슈크로스 용액을 가하여 냉각하에서 glass teflon homogenizer로 균질화하였다. 이것을 600×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄부분을 제거한 상등액을 얻고, 이것을 다시 12000×g에서 20분간 원심분리하여 mitochondria 분획을 얻었다. 한편 mitochondria 분획을 제거시킨 상등액을 105000×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosol 분획을 얻었다. 이것을 glutathione S-transferase 활성측정의 효소원으로 사용했다. Habig 등<sup>6)</sup>의 법에 준하여 측정했다. 반응조성은 2.5 mM 1-chloro-2,4-dinitrobenzene 1 ml, 5 mM glutathione 0.5 ml phosphate buffer(pH 6.5)를 각각 가했다. 반응액은 25°C에서 preincubation시킨 후 효소원을 가하여 340 nm에서 3분간 흡광도의 변화를 관찰하여 측정하였다.

**Prostaglandin E<sub>2</sub> 측정**—표준시료중 혹은 측정시료중의 비방사성항원과 일정량의 추적자(표지항원)를 일정량의 항체와 반응시키면, 비방사성항원량이 많아짐에 따라 항체에 결합하는 추적자량이 감소하는 원리를 이용하여 측정하였다.

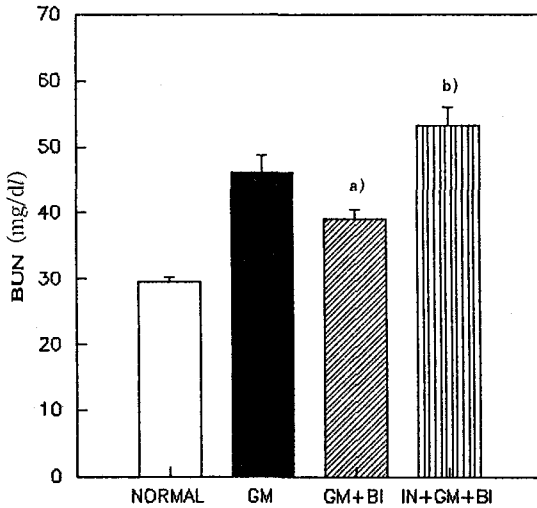


Fig. 1—Blood urea nitrogen of mice given gentamicin in the presence and absence of pretreatment with  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  and indomethacin. Values are means  $\pm$  S.E. of 6 mice. GM, gentamicin; Bi,  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ ; Indo, indomethacin. Statistical significance: a)  $p < 0.05$  vs. GM group, b)  $p < 0.01$  vs. GM+Bi group.

본 연구에 사용한 Du Pont/NEN의 prostaglandin  $\text{E}_2$  [ $^{125}\text{I}$ ] RIA kit에 항원항체결합물과 항체와 결합하지 않은 항원과를 분리하는 방법으로서, 폴리에틸렌 글리콜에 의한 침전법을 이용하였다. 원심분리 후 항체와 결합하지 않은 항원을 함유하는 상층을 기울려 따라 버리고, 항원항체결합물을 함유하는 침전 중의 방사능을  $\gamma$ -counter로 측정하였다. 표준시료에 의해서 얻어진 결과에 의해 표준곡선을 작성해서 미지시료 중의 prostaglandin  $\text{E}_2$ 량을 구하였다.

## 실험결과

### I. Bismuth nitrate 및 indomethacin이 gentamicin 단독성에 미치는 영향

1) 혈중 요소 질소(BUN)에 미치는 영향—정상군의 BUN은  $29.57 \pm 0.78 \text{ mg/dl}$ 이며, gentamicin 단독투여군은  $46.25 \pm 2.36 \text{ mg/dl}$ 으로서 정상군의 BUN보다 약 56% 증가하였으며, bismuth nitrate 및 gentamicin 투여군은  $39.21 \pm 1.41 \text{ mg/dl}$ 로서 gentamicin 단독투여군과 비교시 유의성있게 감소했다( $p < 0.05$ ). Cyclooxygenase를 제거하기 위하여 indomethacin 전투여

Table I—Renal protein-bound and nonprotein-bound sulfhydryl concentration in the kidney of mice given gentamicin in the presence and absence of pretreatment with  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  and indomethacin

Groups	Protein-bound SH (nmol/mg protein)	Nonprotein-bound SH (nmol/mg protein)
Normal	$919.08 \pm 56.65$	$166.04 \pm 4.85$
GM	$850.70 \pm 42.22$	$164.42 \pm 5.21$
GM+Bi	$937.83 \pm 42.87$	$202.74 \pm 4.54^a$
GM+Bi+Indo	$929.21 \pm 51.00$	$188.86 \pm 13.42$

Values are means  $\pm$  S.E. of 6 mice. GM, gentamicin; Bi,  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ ; Indo, indomethacin. Statistical significance: a)  $p < 0.001$  vs. GM group.

후 bismuth nitrate와 gentamicin을 투여하였을 경우 BUN이  $53.22 \pm 2.72 \text{ mg/dl}$ 로 bismuth nitrate 및 gentamicin 투여군보다 약 36% 유의성있게 증가하였으며( $p < 0.01$ ), gentamicin 단독투여군보다 오히려 상승하는 경향을 나타내었다(Fig. 1).

2) 신조직 중의 단백결합 SH 및 비단백결합 SH 농도의 변화—단백결합 SH의 경우 정상군은  $919.08 \pm 56.65 \text{ nmol/mg protein}$ , gentamicin 단독투여군은  $850.70 \pm 42.22 \text{ nmol/mg protein}$ , bismuth nitrate 및 gentamicin 투여군은  $937.83 \pm 42.87 \text{ nmol/mg protein}$ , indomethacin, bismuth nitrate 및 gentamicin 투여군은  $929.21 \pm 51.00 \text{ nmol/mg protein}$ 을 나타내어 유의성있는 변화는 관찰되지 않았다.

비단백결합 SH의 경우 정상군은  $166.04 \pm 4.85 \text{ nmol/mg protein}$ , gentamicin 단독투여군은  $164.42 \pm 5.21 \text{ nmol/mg protein}$ 이며, bismuth nitrate 및 gentamicin 투여군은  $202.74 \pm 4.54 \text{ nmol/mg protein}$ 으로 gentamicin 단독투여군보다 약 23% 유의성있게 증가하였으며( $p < 0.001$ ), indomethacin, bismuth nitrate 및 gentamicin 투여군은  $188.86 \pm 13.42 \text{ nmol/mg protein}$ 으로 bismuth nitrate 및 gentamicin 투여군에 비해 약 7% 감소되었다(Table I).

3) 신조직 중의 thiobarbituric acid 반응물질의 변화—Thiobarbituric acid 반응물질의 경우 정상군은  $2.94 \pm 0.05 \text{ nmol/mg protein}$ , gentamicin 단독투여군이  $2.53 \pm 0.12 \text{ nmol/mg protein}$ , bismuth nitrate 및 gentamicin 투여군이  $2.80 \pm 0.17 \text{ nmol/mg protein}$ , indomethacin, bismuth nitrate 및 gentamicin 투여

**Table II**—TBA-reactive substance in the kidney of mice given gentamicin with or without  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  and indo-methacin

Groups	Malondialdehyde(nmol/mg protein)
Normal	2.92± 0.05
GM	2.53± 0.12
GM+ Bi	2.80± 0.17
GM+ Bi+ Indo	2.16± 0.19 <sup>d)</sup>

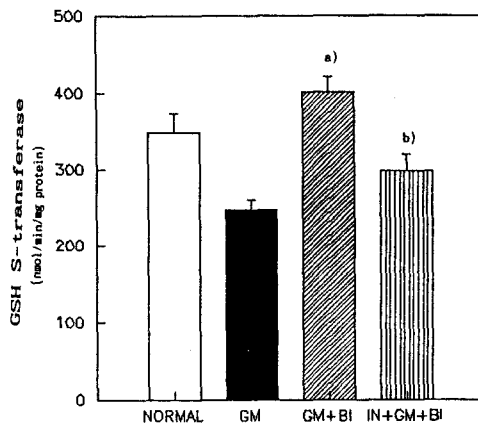
Values are means± S.E. of 6 mice. GM, gentamicin; Bi,  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ ; Indo, indomethacin. Statistical significance: a)  $p < 0.05$  vs. GM+Bi group.

군이  $2.16 \pm 0.19$  nmol/mg protein으로 gentamicin 단독투여군에 비해 bismuth nitrate 및 gentamicin 투여군에 약간 증가하는 경향을 나타내었으며, indomethacin, bismuth nitrate 및 gentamicin을 투여한 군은 bismuth nitrate 및 gentamicin 투여군에 비해 23% 유의성있는 감소를 나타내었다( $p < 0.05$ , Table II).

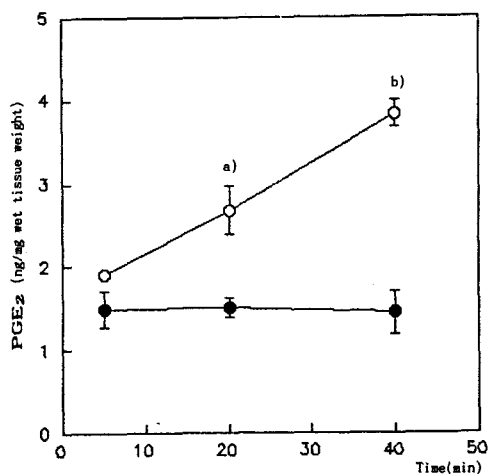
**4) Glutathione S-transferase 활성의 변화**—Glutathione S-transferase 활성의 경우 정상군이  $348.14 \pm 25.72$  nmol/min/mg protein, gentamicin 단독투여군이  $246.24 \pm 13.09$  nmol/min/mg protein으로 정상군보다 약 29% 감소했으며, bismuth nitrate 및 gentamicin 투여군이  $400.54 \pm 20.79$  nmol/min/mg protein으로 gentamicin 단독투여군에 비해 약 63% 유의성있게 증가하였다( $p < 0.001$ ). Indomethacin 전처리에 의해 cyclooxygenase의 활성을 저해하였을 경우는  $297.97 \pm 21.73$  nmol/min/mg protein으로 bismuth nitrate 및 gentamicin 투여군에 비해 약 26% 유의성있게 감소하였으며( $p < 0.01$ ), gentamicin 단독투여군에 비해 약간 증가하였으나 유의성있는 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 2).

**II. Bismuth nitrate에 의한 prostaglandin E<sub>2</sub> 생성량의 변화**

대조군의 prostaglandin E<sub>2</sub>의 생성량을 측정된 결과 배양시간 5분에서 각각  $1.49 \pm 0.22$  ng/mg slice tissue,  $1.91 \pm 0.03$  ng/mg slice tissue였으며, 배양시간 20분에서는 각각  $1.51 \pm 0.12$  ng/mg slice tissue,  $2.68 \pm 0.29$  ng/mg slice tissue로서 bismuth nitrate 투여군은 대조군보다 prostaglandin E<sub>2</sub> 생성량이 약 77% 유의성있게 증가하였으며( $p < 0.05$ ), 배양시간 40분에서는 각각  $1.43 \pm 0.26$  ng/mg slice tissue,  $3.83 \pm 0.16$  ng/mg slice tissue로서 약 2.7배 유의성있는 증가를 나타내



**Fig. 2**—The activity of glutathione S-transferase in the kidney of mice given gentamicin with or without  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  and indomethacin. Values are means± S.E. of 6 mice. GM, gentamicin; BI,  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ ; IN, indomethacin. Statistical significance: a)  $p < 0.001$  vs. GM group, b)  $p < 0.01$  vs. GM+BI group.



**Fig. 3**—Effect of  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  on the PGE<sub>2</sub> synthesis. The renal inner medulla in the presence or absence of pretreatment with 50  $\mu\text{M}/\text{kg}$   $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  was sliced with a Stadie-Riggs microtome. After slices were preincubated for 50 min with Kres buffer, they were transferred to fresh medium. The incubation media were analyzed for PGE<sub>2</sub> content. Statistical significance: a)  $p < 0.05$  vs. normal group, b)  $p < 0.01$  vs. normal group.

●—●; Bismuth nitrate untreated group  
○—○; Bismuth nitrate treated group

었다( $p < 0.01$ , Fig. 3).

## 고 찰

Aminoglycoside계 항생물질 중의 하나인 gentamicin은 장기간 투여시 특이하게 신독성과 이독성을 나타낸다고 보고되어 있다.<sup>1)</sup> 신독성을 일으키는 정확한 기전은 아직 확실하지 않으나 대체적으로 gentamicin 신독성은 생화학적, 기능적, 구조적인 장애에 의해 특징지어진다. Aminoglycoside 항생제 투여에 의한 신장손상의 일차적 부위는 근위세뇨관 세포이며, 이것은 이 부위에 aminoglycoside가 축적되어 세포의 기능에 관여할 것으로 추정되며, 세포막의 인지질 대사와 관련이 있는 신독성 기전이 될 수 있는 요인들은 다음과 같다. 양이온 성질을 가진 aminoglycoside계 항생제는 brush border membrane에 위치하는 음이온 인지질(phosphatidylinositol, phosphatidic acid, polyphosphoinositides 등)에 결합하여<sup>7)</sup> 에너지 의존적 세포흡수작용에 의해 세포내부로 흡수되어 lysosome에 축적되어 myeloid bodies를 형성하고, brush border membrane의 손상 등 형태학적 변화를 나타낸다고 했으며,<sup>1)</sup> 또한 aminoglycoside의 양이온 능력에 의해 음이온 인지질과 결합하여 세포막에서 기원된 autacoids의 생성과 prostaglandin, inositol phosphate, diacylglycerol과 같은 세포내의 second messenger에 손상을 가져올 수도 있다고 한다.<sup>8)</sup> Aminoglycoside 항생물질은 흰쥐 신장의 lysosomal phospholipase A, phospholipase C 활성을 저해하며,<sup>9)</sup> gentamicin에 의해 phospholipase A<sub>2</sub>, sphingomyelinase의 활성도 저해한다고 보고되어 있으며 이러한 lysosomal phospholipase와 sphingomyelinase의 기능장애<sup>10,11)</sup>로 인해 인지질 대사가 감소하여 lysosomal phospholipidosis를 유도할 것이며, 이러한 현상은 aminoglycoside 신독성에 중요한 역할을 할 것이라고 보고하였다. Aminoglycoside 신독성기전 중에서 지질과산화 현상을 들 수 있는데 지질과산화의 결과로서 catalase 활성이 감소되고 지질과산화의 최종산물인 malondialdehyde량이 증가하며 불포화지방산중 arachidonic acid가 감소했으며, 산화 glutathione량이 증가한다. Gentamicin 투여에 의해 catalase 활성감소에 기인하여 히드록시기를 증가시키며 결과로서 지질과산화가 증가된다는 보고가 있다.<sup>12)</sup>

Glutathione을 포함하는 비단백결합 -SH와 단백질결합 -SH는 세포의 유지 및 생존에 필수적인 요소로서 특히 glutathione은 방어기구 즉 방사선 장애의 방어, 세포막의 유지, 효소의 -SH기의 유지, 이물질 해독 등의 생명유지에 중요한 역할을 하고 있다.<sup>13)</sup> 본 연구에서 신조직 중의 단백질결합 -SH와 비단백결합 -SH의 농도를 비교 검토해 보면 단백질결합 -SH의 경우 gentamicin을 단독투여했을 때 정상군에 대해 뚜렷한 변화는 관찰되지 않았으며, bismuth nitrate와 gentamicin을 투여했을 경우 항상 gentamicin 단독투여군과 정상군보다 높게 나타났다. 또한 cyclooxygenase 저해제인 indomethacin, bismuth nitrate 및 gentamicin을 투여했을 때 gentamicin 단독투여군에 비해 유의성있게 증가했으나, bismuth nitrate와 gentamicin 투여군보다는 낮은 농도였다. 이상에서와 같이 비단백결합 -SH와 신독성 경감작용과 직접적인 관련성은 적은 것 같으며, 다른 어떤 매개체를 통하여 작용할 가능성이 시사되었다.

본 연구에서는 indomethacin을 전투여함으로써 bismuth nitrate의 신독성 경감작용이 상쇄되어, bismuth nitrate 신독성 경감작용에 prostaglandin계의 관련성이 시사되었다. Ujihara 등<sup>14)</sup>에 의하면 glutathione S-transferase isoenzyme은 prostaglandin H<sub>2</sub> 전환활성을 가지며 prostaglandin H<sub>2</sub> 전환반응에는 glutathione이 반드시 필요하고, 특히 신장에서 isoenzyme의 활성은 glutathione S-transferase 1-1, 1-2 (40%), 2-2, 3-4와 7-7(10~20%)에 의해서 촉매된다고 보고하였다. 그리고 Burgess 등<sup>15)</sup>은 glutathione S-transferase 1-1은 prostaglandin H<sub>2</sub>에서 prostaglandin F<sub>2a</sub>, prostaglandin E<sub>2</sub>로의 전환을 촉진시키며 glutathione S-transferase 2-2는 주로 prostaglandin D<sub>2</sub>와 prostaglandin F<sub>2a</sub>의 생성을 촉진시킨다고 보고하였다. 이것은 결국 glutathione S-transferase isoenzyme은 prostaglandin H<sub>2</sub>의 환원과 이성질체화반응을 촉매함으로써 prostaglandin 생합성에 중요한 인자라는 것을 제시하였다. 본 연구에서는 bismuth nitrate 전투여에 의해 glutathione S-transferase가 활성화되었으며 glutathione을 포함하는 비단백결합 SH의 증가도 볼 수 있었으므로, prostaglandin계의 관련성을 더욱 뒷받침해 주었다.

막지질에서 arachidonic acid를 유리하나, arachidonic acid는 cyclooxygenase 또는 lipoyxygenase에

의해 대사되어 다양한 생리작용을 가지는 과산화지질을 생성한다는 것이 알려져 있다.<sup>16)</sup> Cyclooxygenase 경로에서 arachidonic acid는 prostaglandin endoperoxidase에 의해 TXA<sub>2</sub>, 12L-hydroxyheptadecatrienoic acid와 malondialdehyde로 변환되며, 이들 산물뿐만 아니라 prostaglandin 대사산물도 thiobarbituric acid 반응 양성물질로서 이들은 aspirin이나 indomethacin으로 형성이 저해된다. 그래서 cyclooxygenase 저해제를 전처리한 후 생성되는 thiobarbituric acid 반응물질을 측정함으로써 cyclooxygenase 경로의 prostaglandin을 포함하는 물질들의 생성능을 파악할 수 있다.<sup>17)</sup> 본 연구에서는 bismuth nitrate 투여에 의해 thiobarbituric acid 반응물질이 증가되었으나, indomethacin 전투여에 의해 현저히 감소하여 bismuth nitrate에 의한 prostaglandin계의 활성화가 시사되었다. McNeil 등<sup>18)</sup>은 gentamicin을 만성적으로 투여할 경우 초기단계에서는 노중 prostaglandin E<sub>2</sub>의 양이 증가하였으나, 후기단계에서는 노중 prostaglandin E<sub>2</sub>의 양이 감소하였는데 초기단계의 증가는 신장기능을 유지하려는 적응메카니즘이라고 설명했다. Laurent 등<sup>19)</sup>은 *in vitro*에서 gentamicin은 phospholipase A<sub>2</sub>를 억제한다고 보고하였다. Gentamicin에 의한 인지질 축적과 lysosomal sphingomyelinase와 phospholipase A<sub>2</sub>의 활성감소 등은 prostaglandin계의 이상을 시사한다고 하였다. 한편 colloidal bismuth subcitrate는 흰쥐의 gastric mucosa에서 prostaglandin E<sub>2</sub>의 생성을 자극하여 prostaglandin E<sub>2</sub>의 양은 약물의 양에 비례하여 증가하며,<sup>20)</sup> 또한 본 연구에서는 bismuth nitrate를 투여할 경우 신장조직 중의 prostaglandin E<sub>2</sub> 생성량이 현저히 증가되어 이들 생성 증가된 prostaglandin E<sub>2</sub>가 신장손상을 경감시킬 가능성이 시사되었다. 이러한 prostaglandin E<sub>2</sub>의 신장 보호작용은 16,16-dimethyl prostaglandin E<sub>2</sub>를 투여했을 때 알코올에 의한 흰쥐 간의 지방간을 감소시켜 간의 손상을 완화시키며, 이외에도 acetaminophen, aflatoxin, CCl<sub>4</sub>에 의한 간의 피사로부터 손상을 감소시킨다<sup>21)</sup>는 보고가 뒷받침해 준다.

이상의 결과와 고찰로 미루어 볼때 bismuth nitrate는 gentamicin에 의한 prostaglandin계의 활성화 저하로 인한 신독성을 bismuth nitrate 투여에 의해 prostaglandin계를 활성화시켜 이들 prostaglandin들이 신장손상을 방어하는 한 기전으로 사료되었

다. 이들의 구체적인 기전에 대해서는 앞으로 연구가 더 필요하다고 생각된다.

## 결 론

Bismuth nitrate 전투여에 의해 감소된 BUN은 cyclooxygenase 저해제인 indomethacin을 투여했을 경우 증가되어 gentamicin 신독성 경감작용이 상쇄되어 나타났다. Bismuth nitrate 전투여시 gentamicin 단독투여군보다 신조직 중의 glutathione S-transferase 활성과 비단백결합 SH의 농도가 유의성있게 증가하였으며, thiobarbituric acid 반응물질도 증가하는 경향을 나타내었다. 그러나 indomethacin 전처리에 의해 cyclooxygenase의 활성을 저해했을 경우 bismuth nitrate와 gentamicin 투여군에 비해 신조직 중의 glutathione S-transferase 활성과 thiobarbituric acid 반응물질의 유의성있는 감소현상을 관찰할 수 있었다. 또한 bismuth nitrate는 신장의 prostaglandin E<sub>2</sub>의 생성량을 현저히 증가시켰다. 이상에서 bismuth nitrate가 prostaglandin E<sub>2</sub> 생성량을 증가시켜 이들 증가된 prostaglandin E<sub>2</sub>가 gentamicin의 신장손상을 방어할 가능성이 시사되었다.

## 문 헌

- 1) Cojocel, C. and Hook, J. B.: Aminoglycoside nephrotoxicity. *Trends Pharmacol. Sci.*, **4**, 174 (1983).
- 2) Chung, H. Y., Kim, J. D., Kim, J. S., Kim, P. S., Young, H. S., Rho, Y. J. and Suh, S. S.: Protective effects of bismuth nitrate against the nephrotoxicity of mercuric chloride and gentamicin. *Kor. J. Nephrol.*, **10**, 49 (1991).
- 3) Higashi, T.: Critical review on the determination of glutathione in biological preparations. *Protein, Nucleic Acid and Enzyme*, **33**, 1370 (1988).
- 4) Sedlak, J. and Lindsay, R. H.: Estimation of total proteinbound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with ellmans reagent. *Anal. Biochem.*, **25**, 192 (1968).
- 5) Shah, S. V., Price, L. and Baricos, W. H.: Adriamycin induced stimulation of superoxide anion production in renal cortical microsomes. *Clin. Res.*, **30**, 836A (1982).

- 6) Habig, W. H., Pabst, M. J. and Jakoby, W. B.: Glutathione S-transferase. *J. Biol. Chem.*, **249**, 730 (1974).
- 7) Sastrasih, M., Knauss, T. C., Weinberg, J. M. and Humes, H. O.: Identification of the aminoglycoside binding site in rat renal brush border membranes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **222**, 350 (1982).
- 8) Sande, M. A. and Mandell, G. L.: Antimicrobial: The aminoglycoside. In *Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*. 8th ed., 1098 (1980).
- 9) Hostetler, K. Y. and Hall, L. B.: Inhibition of kidney lysosomal phospholipase A and C by aminoglycoside antibiotics: Possible mechanism of aminoglycoside toxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **79**, 1663 (1982).
- 10) Aubert-Tulkens, G., Van Hoof, F. and Tulkens, P.: Gentamicin-induced lysosomal phospholipidosis in cultured rat fibroblasts. *Lab. Invest.*, **40**, 481 (1979).
- 11) Van Hoof, F., Morin, J. P. and Tulkens, P.: Comparative toxicity of three aminoglycoside antibiotics: Gentamicin, amikacin, streptomycin towards lysosomes of cultures cells. *Arch. Int. Physiol. Biochem.*, **88**, B112 (1980).
- 12) Ramsammy, L. S., Ling, K.-Y., Levine, R. and Kaloyaides, G. J.: Effect of gentamicin of lipid peroxidation in rat renal cortex. *Biochem. Pharmacol.*, **34**, 3895 (1985).
- 13) Sakamoto, Y. and Kinoshita, S.: *Glutathione*, 3rd Ed., 講談社 Scientific, 5 (1989).
- 14) Ujihara, M., Tsuchida, S., Satoh, K., Sato, K. and Urade, Y.: Biochemical and immunological demonstration of prostaglandin D<sub>2</sub>, E<sub>2</sub>, and F<sub>2</sub>α, formation from prostaglandin H<sub>2</sub> by various rat glutathione S-transferase isoenzymes. *Arch. Biochem. Biophys.*, **264**, 428 (1988).
- 15) Burgess, J. R., Chow, N. W. I., Reddy, C. C. and Tu, C. P. D.: Amino acid substitution in the human glutathione S-transferases confer different specificities in the prostaglandin endoperoxide conversion pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **158**, 497 (1989).
- 16) Stryer, L.: Hormone Action, In *Biochemistry*, 3rd Ed., W. H. Freeman and Company (1988).
- 17) Smith, J. B., Ingerman, C. M. and Silver, M. J.: Malondialdehyde formation as an indicator of prostaglandin production by human platelets. *J. Lab. Clin. Med.*, **88**, 167 (1976).
- 18) McNeil, J. S., Jackson, B., Nelson, L. and Butkus, D. E.: The role of prostaglandins in gentamicin-induced nephrotoxicity in the dog. *Nephron.*, **33**, 202 (1983).
- 19) Laurent, G., Carilier, M. B., Rollman, B., Van Hoof, F. and Tulkens, P.: Mechanism of aminoglycoside-induced lysosomal phospholipidosis. *In vitro* and *in vivo* studies with gentamicin and amikacin. *Biochem. Pharmacol.*, **31**, 3861 (1982).
- 20) Hall, D. W. R. and van den Hoven, W. E.: Protective properties of colloidal bismuth subcitrate on gastric mucosa. *Scand. J. Gastroenterol.*, **21** (Suppl. 122), 11 (1986).
- 21) Ruwart, M. J.: Protection of the liver against various damaging agents; In *Biological Protection with Prostaglandin (II)*, CRC Press, Inc (1986).