

## Testosterone에 의한 승홍의 신독성 유발에 의한 연구

김희영 · 허 근\* · 김석환\*\* · 최종원

경성대학교 약학대학 약학과, \*영남대학교 약학대학 약학과,  
\*\*동아대학교 식품영양학과  
(1993년 1월 23일 접수)

### The role of testosterone on nephrotoxicity of mercuric chloride

Hoe-Young Kim, Keun Huh\*, Seok-Hwan Kim\*\* and Jong-Won Choi.

*College of Pharmacy, Kyungshung University, Pusan,*

*\*College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyungsan and*

*\*\*Department of Food and Nutrition, Dong-A University, Pusan, Korea.*

(Manuscript received 27 January 1993)

#### Abstract

Mercuric chloride, inorganic compound, is one of the most important drugs that has been used in the field of agriculture, antisyphilitica and anticeptics, but it is not used clinically at present. We have studied the effect of testosterone on the mercuric chloride-induced nephrotoxicity. Renal lipid peroxide concentration of male rat treated with mercuric chloride was significantly increased in comparison with that of the female rat, it showed similar effects on testosterone pretreatment. Changes in renal catalase and glutathione peroxidase activities were not significantly different in testosterone-treated groups. But, renal xanthine oxidase and aldehyde oxidase activities of testosterone-treated group given mercuric chloride significantly increased in comparison with that of the testosterone-treated alone. Animals treated with testosterone prior to mercuric chloride showed more severe damage on histological observations than those treated with testosterone only. Consequently, we suggest that the mercuric chloride-induced nephrotoxicity might be renal lipid peroxide generating enzyme system by testosterone.

Key words : mercuric chloride, testosterone, lipid peroxide, xanthine oxidase, aldehyde oxidase.

#### 1. 서 론

승홍은 매독제 및 소독용 의약품으로 널리 사용되어 왔으나, 현재는 거의 사용되고 있지 않지만 환경의 오염에 의한 여러 가지 원인으로 인체에 영향을 미칠 수 있으며 만성 수은 중독인 경우에 신장 장애를 초래한다고 알려져 있다(Balar et. al., 1976 ; Stacony and Kappus, 1982 ; Klaassen et.

al., 1991). 환경 오염 물질을 포함한 외인성 독성 물질과 생리 조건을 조절하는 항상성의 보존 과정에서 성별의 차에 따르는 노화 현상, 암 발생을 및 특수 질환의 차이 등의 원인 규명중 특히 실험 동물에서 간 약물 대사 효소계(Cohen and Mantering, 1974 ; Kitagawa et. al., 1985, Narimatsu et. al., 1991 ; Stauber, et. al., 1991) 및 신장 괴사(Okada et. al., 1983 ; Li et. al., 1988)를 비롯한

대사성 질환에 성별의 차에 따른 보문이 토출하고 있으나 아직까지 정확한 기전은 보고되고 있지 않다. 이러한 실정에서 성 호르몬에 의한 약물의 독성 기전을 규명함이란 질병의 예방 및 치료 등 건강 지킴의 새로운 방법 모색에 필요한 자료를 제시할 것으로 생각되므로, 본 연구에서의 승홍을 사용하여 성차에 따른 신장의 지질 과산화를 비교 검토하는 한편, 인위적으로 남성 호르몬인 testosterone을 투여하여 성 전환을 실시한 후 신장 지질 과산화의 생성 기전에 어떠한 영향을 주는가를 관찰하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 실험 동물 및 처리

본 대학 동물사에서 일정한 조건으로 사육한 외관상 건강한 100~150g 내외의 Sprague-Dawley 계 암, 수 쥐를 사용하였다. 승홍의 투여는 Knoyan et. al.(1982)의 방법에 준하여 30 $\mu$ mol/kg을 피하 주사하였으며, 인위적 성전환은 음성 쥐를 ketamine ; acepromazine ; xylazine(3 : 2 : 1)로 마취한 후 개복하여 고환을 결찰하고 생체 내부의 testosterone 효과가 충분히 제거되었다고 믿어지는 2주 후에(Kalia, 1982) testosterone propionate 50mg/kg을 일주일간 처리하여 정상 동물 수준의 testosterone 농도가 유지된 후 실험에 사용하였으며 동물은 실험 24시간동안 물만 주고 절식시킨 후 실험에 사용하였다.

### 2.2 검체 채취 및 효소원의 조제

동물을 CO<sub>2</sub>로 가볍게 마취시킨 후 복부 정중선을 따라 절개하고 복부 대동맥에서 혈액을 채취하였으며, 또한 신장을 적출하여 조직내 혈액을 제거하고 여지로 혈액 및 기타 이물질 제거한 후 0.1M sodium phosphate 완충액 (pH 7.4) 10% 신장 균질액을 만들어 lipid peroxide를 측정하고, 이 균질액을 원심 분리하여 미토콘드리아 및 시토플 분획을 분리하여 효소 측정의 효소원으로 사용하였다.

### 2.3 Lipid peroxide의 측정

Ohkawa et. al. (1979)에 준하여 측정하였다. 10% 신장 균질액 0.4ml에 8.1% sodium dodecyl sulfate 0.2ml, 20% acetate buffer(pH 3.5) 1.5ml와 발색의 목적으로 0.8% thiobarbituric acid 1.5ml를 가한 후 95°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 실온에서 n-BuOH : Pyridine(15 : 1) 5.0ml를 첨가하여 잘 섞은 후 혼색의 n-BuOH : Pyridine 층을 취하여 파장 532nm에서 그 흡광도를 측정한다. 다음 표준 곡선에 준해 그 함량을 신조직 1g당 malondialdehyde n mole로 표시하였다.

### 2.4 효소 활성 측정

Xanthine oxidase 활성 측정은 Strip and Della Corte(1969)에 준해 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 기질인 xanthine sodium과 효소원 및 전자 수용체인 NAD를 가하여 37°C에서 반응시킨 다음 20% trichloroacetic acid를 가하여 제단백시키고 상정액을 취한 후 생성된 uric acid의 흡광도를 파장 292nm에서 측정하여 xanthine dehydrogenase와 xanthine oxidase 활성도의 합으로 산정하고, NAD를 뺀 반응액 중에서 생성된 uric acid의 양을 파장 292nm에서 읽은 값을 xanthine oxidase의 활성도로 계산하였다. 효소의 활성도는 1분당 1mg의 단백질이 생성시킨 uric acid의 양을 n mole로 나타내었다. Aldehyde oxidase 활성 측정은 Rajagopalan et. al.(1969)에 준하여 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 기질인 NMN (n-1-methylnicotin- amide chloride)와 효소액을 가해 반응시킨 후 생성물인 2-pyridone을 파장 300nm에서 흡광도의 변화를 읽고 검광선에 준해 활성도를 산정하였다. 효소의 활성도는 분당 mg protein이 생성하는 2-pyridone을 n mole로 표시하였다. Catalase의 활성 측정은 Aebi(1974)에 준해 50 mM potassium phosphate buffer(pH 6.8)에 기질인 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 효소액을 가하여 반응시킨 다음 파장 240nm에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 흡광도 변화를 읽고 분자 흡광계수(E<sub>240</sub>=0.041mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>)를 이용하여 효소의 활성도를 산정하였다. 효소의 활성도는 분당 1mg이 단백질이 분해시킨 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 양을  $\mu$ moles로 표시하

였다. Glutathione peroxidase 활성 측정은 Paglia and Valentine(1967)에 준해 hydrogen peroxidase 또는 glutathione이 함유된 0.1mM tris buffer(pH 7.2) 중에서 효소원과 반응시키고 이때 생성된 oxidized glutathione을 NADPH와 반응시켜 생성된 NADP<sup>+</sup>의 흡광도를 340nm에서 읽어 그 활성을 산정하였다.

## 2.5 신장 조직 검사

신장을 적출하여 10% buffered neutral formalin에 24시간 고정 후 수세하고 60%에서 100% alcohol로 순차적으로 탈수하여 parafin에 포매하고 block를 만든 다음 이 block를 rotary microtome을 사용하여 4 $\mu$ m의 두께로 조직 절편을 만들어 hematoxylin-eosin(Degertekin et. al., 1986)으로 염색한 후 관찰하였다.

## 2.6 단백질 정량 및 통계 처리

Lowry et. al.(1951)에 의해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 정량하였으며 실험 결과의

통계 처리는 Duncan's new multiple range test를 이용하였다.

## 2.7 혈중 testosterone의 정량

조제된 RIA kit를 사용하여 방사면역 측정법 (radioimmunoassay)로 시행하였다.

## 3. 결 과

### 3.1 승홍 투여시 성장에 따른 신장 lipid peroxide 함량의 변동

승홍을 투여한 암·수 실험 동물의 신장 조직주에서 lipid peroxide 함량 변화를 관찰한 성적이 Table 1로서 생리 식염수를 투여한 암·수 쥐에서와 승홍을 동시에 투여한 군에서의 신장 중 지질 과산화의 함량이 암컷 쥐에서는 승홍의 투여로 다소 증가되었으나(18.5%) 통계적 유의성은 없으며, 수컷에 승홍을 투여한 군에서는 생리 식염수를 투여한 대조군에 비해 69.4%로 현저한 증가를 관찰할 수 있었다.

Table 1 Renal lipid peroxide formation in rats given mercuric chloride treatment

	Normal	MC	% of Normal
Female	14.51 $\pm$ 1.21 <sup>a</sup>	17.19 $\pm$ 2.37 <sup>a, b</sup>	18.5
Male	14.72 $\pm$ 1.13 <sup>a</sup>	24.60 $\pm$ 1.61 <sup>c</sup>	69.4

Rats received mercuric chloride(MC, 30 $\mu$ mole/kg, subcutaneous injection) once a day and decapitated 24hr after last dose. The assay procedure was described in the experimental method. Values are mean $\pm$  S. D.(n=8). Values followed by the same letter are not significantly different(p<0.05). \* : Content of malondialdehyde n moles/g of tissues.

### 3.2 Testosterone 전처리 후 승홍 투여에 의한 신장 lipid peroxide 함량 변동

승홍의 투여에 의하여 신장 조직에서 지질 과산화의 함량이 수컷에서 현저하게 나타나는 점을 고려하여 인위적으로 성전환을 유도할 목적으로 고환을 결찰한 수컷에 testosterone을 복강내로 일주일간 처리한 실험군과 testosterone 처리후 승홍을 투여하고 신조직중 lipid peroxide 함량을 비교 관

찰한 성적이 Fig. 1이다.

Propylene glycol 만을 투여한 대조군의 malondialdehyde 함량이 13.32 $\pm$  0.25 $\mu$ mole/g tissue인데 비해 testosterone 단독 투여군에서는 13.27 $\pm$  0.12  $\mu$ mole/g tissue로서 별다른 영향이 없었으나 testosterone과 승홍을 투여한 군에서는 20.14 $\pm$  0.57  $\mu$ mole/g tissue로서 대조군에 승홍을 투여한 13.30 $\pm$  0.27 $\mu$ mole/g tissue 보다 약 51.4%의 신장 조직중 malondialdehyde 함량이 현저하게 증가되었다

(Fig. 1).

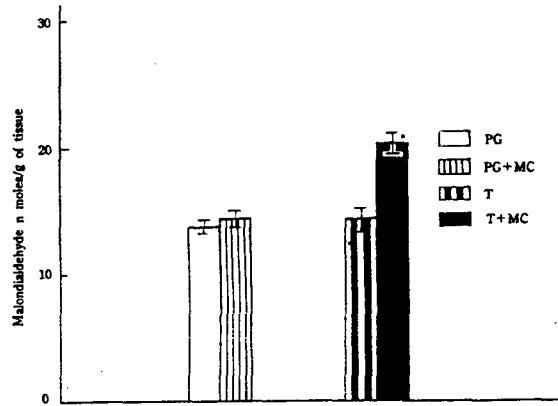


Fig. 1. Effect of testosterone on the kidney lipid peroxide formation in mercuric chloride-treated rats. Rats were intraperitoneally injected testosterone propionate(T, 50mg/kg) and propylene glycol(PG) daily for seven days, and killed 24hr after mercuric chloride(MC, 30 $\mu$ mole/kg, subcutaneous injection) treatment. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean $\pm$ S. D.(n=8). \* : p<0.05

### 3.3 신장 xanthine oxidase 및 aldehyde oxidase 활성에 미치는 영향

Propylene glycol과 testosterone을 7일간 투여한 실험군에 각각 승홍을 복강내로 주사하고서 신장 중 xanthine oxidase 및 aldehyde oxidase 활성 변동을 Table 2에 나타내었다.

Propylene glycol을 투여한 대조군의 효소 활성과 고환을 결찰하고 testosterone만을 투여한 실험군은 xanthine oxidase의 활성이 대조군과 별다른 영향이 없었으나, testosterone을 전처리하고 승홍을 투여한 군에서는 testosterone 단독 투여군보다 약 153%의 현저한 효소 활성의 증가를 볼 수 있었다. 한편, propylene glycol을 투여 후 승홍을 투여한 군에서는 별다른 영향이 없었다.

Aldehyde oxidase의 활성 변동에서도 xanthine oxidase 활성 변동과 유사하였다.

### 3.4 신장 catalase 및 glutathione peroxidase 활성의 변동

인위적으로 성전환을 시킨 실험 동물에 testosterone propionate와 propylene glycol을 전처리하여 승홍을 투여한 후 신장 중 catalase 및 glutathione peroxidase 활성 변동을 관찰한 성적이 Table 3으로서 mitochondrial catalase 및 hydrogen peroxide를 기질로 이용하고 selenium dependent

Table 2 Effect of testosterone on the renal cytosolic xanthine oxidase(XO) and aldehyde oxidase(AO) activities in mercuric chloride-treated rats

Group	XO activity (uric acid n moles/ /mg protein/min)	% of control	AO activity (2-pyridone n moles/ /mg protein/min)	% of control
PG	0.86 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	100	13.26 $\pm$ 0.79 <sup>c</sup>	100
PG+MC	0.90 $\pm$ 0.31 <sup>a</sup>	105	13.88 $\pm$ 0.96 <sup>c</sup>	105
T	0.85 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	99	14.67 $\pm$ 1.06 <sup>c</sup>	111
T+MC	2.18 $\pm$ 0.24 <sup>b</sup>	253	26.19 $\pm$ 2.16 <sup>d</sup>	198

Rats were intraperitoneally injected testosterone propionate(T, 50mg/kg) and propylene glycol(PG) daily for seven day, and decapitated 24hr after mercuric chloride(MC, 30  $\mu$ mole/kg, subcutaneous injection) treatment. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean S.D.(n=8), means followed by the same letter are not significantly different.(p<0.05).

glutathione peroxidase의 활성을 비교, 관찰한 결과 propylene glycol 단독 투여군과 testosterone 투여군 및 승홍 동시 투여군에서 효소들의 활성 변동에는 별다른 영향을 관찰할 수 없었다.

Table 3 Influence of testosterone on the kidney mitochondrial catalase and cytosolic selenium dependent glutathione peroxidase activities in mercuric chloride-treated rats<sup>1,2)</sup>

Groups	Catalase (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> decreased $\mu$ moles/ mg protein/min)	Glutathione peroxidase (NADPH oxidized $\mu$ moles/ mg protein/min)
PG	3.06 $\pm$ 0.14 <sup>N.S.</sup>	285.4 $\pm$ 3.66 <sup>N.S.</sup>
PG+MC	3.13 $\pm$ 0.12	287.9 $\pm$ 5.96
T	3.10 $\pm$ 0.11	273.4 $\pm$ 6.32
T+MC	3.26 $\pm$ 0.12	294.8 $\pm$ 7.99

1) Mean  $\pm$  S.D.(n=8)

2) Rats were intraperitoneally injected testosterone propionate(T, 50mg/kg) and propylene glycol(PG) daily for seven day, and decapitated 24hr after mercuric chloride(MC, 30 $\mu$ mole/kg, subcutaneous injection) treatment.

3) N. S. ; not significant.

### 3.5 혈중 testosterone 함량 변화

혈중의 testosterone 농도를 방사 면역 측정법으로 측정한 결과가 Table 4 이다. 성 차(sex difference)에 따른 승홍의 신 독성 생성이 정상쥐 및 인위적 성전환 쥐와 혈중 testosterone 함량에 어떤

영향이 있는가를 관찰한 결과, 표에서 나타난 바와 같이 정상 숫쥐의 testosterone량은 2.06  $\pm$  0.15ng/ml, 고환을 절찰한 군에 propylene glycol만을 투여한 군은 혈중 testosterone 량은 0.12  $\pm$  0.02ng/ml, 고환절찰 후 testosterone을 7일간 주사한 군은 1.83  $\pm$  0.38ng/ml으로 정상 숫쥐와 혈중 testosterone 함량이 유사하였다.

Table 4 Changes of blood testosterone concentration in normal, ligation and testosterone-treated rats

Groups	Testosterone concentration (ng/ml)	% of Intact
Intact	2.06 $\pm$ 0.15	100
Ligation	0.12 $\pm$ 0.02	6
Ligation+T	1.83 $\pm$ 0.38	89

Rats were intraperitoneally injected testosterone propionate(T, 50mg/kg) daily for seven days, and decapitated 24hr after the last dose. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean S.D.(n=6), means followed by the same letter are not significantly different(p<0.05).

### 3.6. 신 조직의 변화

Testosterone과 propylene glycol을 실험 동물에 투여한 후 각각에 승홍을 주사하고서 신장의 조직 변화에 어떠한 영향을 미치는가를 광학 현미경하에서 비교 검토한 성적이 Fig. 2이다.

그림에서 나타나는 바와 같이 고환을 결찰하고 propylene glycol과 testosterone을 단독 투여한 군 (Fig. 2-A,B)은 tubular cell 및 기타 주변 조직이

잘 보존되고 있으며, propylene glycol에 승홍을 동시 투여군(Fig. 2 -C)도 propylene glycol 투여군과 유사하게 신조직이 보존됨을 관찰할 수 있었다. 그러나 testosterone을 전처리하여 인위적으로 성 전환을 한 후 승홍을 투여한 군(Fig. 2-D)은 tubular cell이 괴사되어 주변 조직과 비교할 수 없으며 조직내 bleeding도 관찰할 수 있었으며 testosterone 단독 투여군에서 볼 수 있는 뚜렷한 신조직의 보존 상태는 관찰할 수 없었다(Fig. 2)

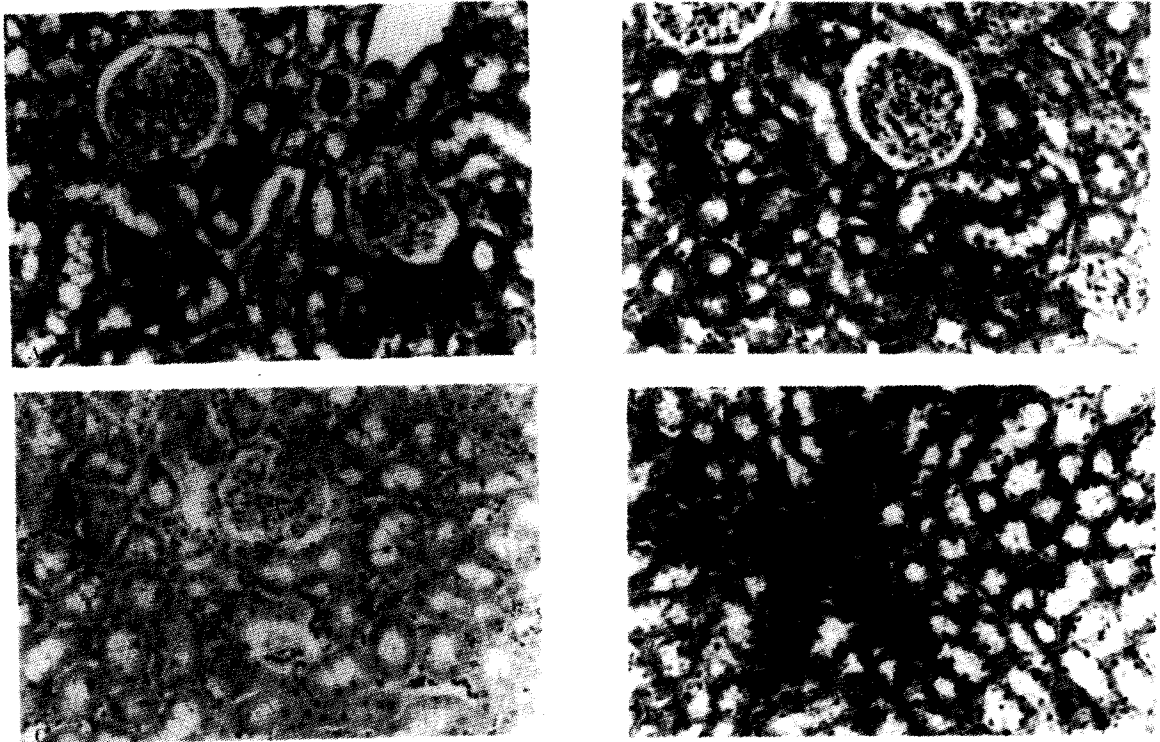


Fig. 2. Histological appearance of the kidney tissue in rat(Hematoxylin and eosin, magnification,  $\times 200$ ).

A : Kidney section from ligation rat. The renal structure is essentially normal. T : Tubular cell, B : kidney section from testosterone-pretreated on ligation rat. The renal structure is similar to ligation rat. C : Kidney section from mercuric chloride-treated on ligation rat. The renal structure is similar to ligation rat. D : Kidney section from testosterone and mercuric chloride-treated on ligation rat. The renal structure showed almost complete necrosis of the proximal convoluted tubular cells.

Rats were intraperitoneally injected testosterone propionate(50mg/kg) and propylene glycol daily for seven days, and decapitated 24hr after mercuric chloride(30 $\mu$ mole/kg) treatment. The assay procedure was described in the experimental ; methods.

#### 4. 고 찰

승홍은 급성 신장염을 유발(Verity and Brown, 1970)시키는 대표적인 무기화합물로서 포유 동물의 신장 피질에 축적되어 근위 세뇨관의 형태와 기능에 이상을 초래한다고 알려져 있다(Maber, 1976; Kirshbaum, et. al., 1980). 수은에 의해 유발된 급성 신장염은 사구체 여과속도가 감소되며, 무기염류 혹은 유기 용질의 세뇨관 수송에 이상이 생기며 상피 세포의 미세 구조적인 변화가 보고되고 있다(Wolfert, et. al., 1987; Ruegg, et. al., 1988).

본 실험에서는 신장 기능에 미치는 약물들이 성차가 나타난다고 보고되고 있는 점을 감안하여 승홍을 투여하고서 성별의 차에 의한 신장 과산화 지질의 함량을 검사하는 한편 이러한 작용이 남성 호르몬인 testosterone의 관여 여부를 검사할 목적으로 인위적으로 실험 동물의 고환을 결찰한 후 testosterone을 투여하고서 승홍 투여시의 영향을 비교 관찰하였다.

환경 오염 물질을 포함한 많은 종류의 xenobiotics들은 세포막의 불포화 지방산을 과산화시켜 막에 손상을 주어 투과성을 변화시키므로 독성을 일으키게 된다(Groot and Noll, 198). 그러므로 과산화 지질의 생성 정도는 독성 발현 현상을 설명하는 지표로 널리 이용되고 있다(Galeotti, et. al., 1984; Cavaliers and Regan, 1985). Xenobiotics 뿐만 아니라 생체의 항상성(homeostasis) 유지 과정에서 유래되는 내인성 독성 물질에 의하여 나타날 것이라 생각되어지는 노화의 제반 현상 및 암조직의 발생 과정에 지질의 과산화 반응이 관여한다고 보고(Rowry and Halliwell, 1983; Halliwell and Gutteridge, 1984; Harmam, 1984)되어지고 있다. 이러한 지질 과산화 과정에 승홍의 성차를 추구할 목적으로 암, 숫쥐에 승홍을 투여하고서 신장 지질 과산화 함량을 관찰한 결과 암쥐보다는 숫쥐에서 증가되었다.

이와 같은 신장 지질 과산화 함량 변화가 암컷보다는 숫컷쥐에서 더욱 심하게 나타나는 것이 남성 호르몬인 testosterone에 의한 것인가를 추구할 목적으로 실험 동물의 고환을 결찰하고 testoste-

rone propionate를 일주일간 복강내 주사하여 인위적으로 숫쥐를 만들고서 신장 지질 과산화의 함량을 관찰한 결과 고환을 결찰한 쥐보다는 약 51.4%의 증가를 보였다. 과산화 지질의 생성은 활성형 산소인 superoxide radicals의 생합성을 출발점으로 하여 전개되는 일련의 연쇄 반응에 의존하고 있다(Bus and Gibson, 1979). 체내에서 지질 과산화를 유발하여 독성을 일으키는 과정에서 일반적으로 free radical이 관여한다고 알려져 있고, free radical의 generating 효소계로는 cytochrome P-450 monooxygenase, xanthine oxidase 및 aldehyde oxidase 등이 알려져 있다. 특히 xanthine oxidase는 체내에서 대부분 D-type으로 존재하다 어떤 병태 생리학적 조건이 가해지면 O-type으로 형 전환을 일으켜 O-type의 xanthine oxidase가 산소 radical을 생성시키기 때문에 D-type에서 O-type으로 형 전환이 free radical 생성에 중요한 요인으로 작용한다고 알려져 있다(Waud and Rajagopalan, 1976-Battelli, 1980-Ress, et. al., 1985). 본 연구에서는 승홍이 신조직에서 지질 과산화를 일으켜 독성을 발현하는 과정에 관여할 것이라 보여지는 xanthine oxidase 및 aldehyde oxidase의 활성 변동에 남성 호르몬인 testosterone의 작용을 비교 검토하였다. 고환을 결찰한 쥐에서보다 testosterone을 투여하고 승홍을 투여한 경우 신장에서의 xanthine oxidase 활성이 정상 숫쥐와 유사하게 증가되고 있었으며 aldehyde oxidase의 경우에도 testosterone 투여로 xanthine oxidase와 유사하게 증가되는 것으로 미루어보아 성차에 의한 승홍의 투여로서 신조직 중 과산화 지질 함량이 숫쥐에서 현저하게 증가되는 것은 testosterone이 신장 조직 내에서 여러 free radical 생성 효소계중 적어도 xanthine oxidase와 aldehyde oxidase 활성을 유도함으로써 독성을 발현시키는 것으로 보여진다. 포유류에서 생성된 free radical은 해독에 관여하는 효소로는 catalase 및 glutathione peroxidase 등의 존재가 생체를 보호하게 된다는 것은 잘 알려져 있다(Reddy, et. al., 1981; Kossydh and Usui, 1982; Reinke, et. al., 1986). 이에 scavenger enzyme인 catalase와 glutathione peroxidase를 대상으로 하여 testosterone의 영향을 관찰하여 본 결과

catalase의 활성은 아무런 영향을 주지 않았으나 glutathione peroxidase의 활성은 testosterone 투여 후 승홍을 투여한 군에서 다소 감소되고 있는 결과 (Kim et. al., 1993)를 일부 뒷받침하고 있으나 뚜렷한 활성 감소가 나타나지 않는 점으로 보아 다른 계의 존재 여부로 생각할 수 있으나 이 문제에 대하여서는 앞으로 더욱 많은 연구가 이루어져야 될 것으로 생각된다. 혈중 testosterone의 농도를 추정하여 본 결과 testosterone의 농도에 비례하여 신장 독성이 증가되고 있는 것을 신장 조직학적 변화에서도 유사한 결과를 나타내었다. 이상의 실험 결과를 종합하여 볼 때 승홍에 의해 유도되는 신독성은 암쥐보다는 숫쥐에서 뚜렷히 나타내며 특히 남성 호르몬인 testosterone에 의해 유도되며 이러한 신독성 유도는 지질 과산화 생성 단계인 효소인 xanthine oxidase 및 aldehyde oxidase가 주로 관여할 것으로 사료된다.

## 5. 결 론

성차에 의한 승홍의 신독성 증가가 어떠한 기전에 의하여 나타나는가를 관찰할 목적으로 성차에 의한 영향 및 숫쥐의 고환을 결찰하여 testosterone을 투여하여 인위적으로 성전환을 유도한 후 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

정상 암, 숫 쥐에 승홍을 투여하고서 신조직 중 lipid peroxide 함량은 숫쥐에서 증가되었으며 testosterone의 투여로서 propylene glycol 투여군보다 더욱 현저하게 증가되었다. 지질 과산화의 생성에 관여하는 xanthine oxidase와 aldehyde oxidase의 활성은 testosterone의 투여 후 승홍 투여군에서 증가되었으며 catalase 및 glutathione peroxidase 활성에는 별다른 영향이 없었으며 신장의 형태학적인 검사에서도 testosterone으로 전처리하고 승홍을 투여한 군에서 신독성이 현저하게 나타나고 있었으며 이 때 혈중 testosterone 농도가 현저하게 증가됨을 볼 수 있었다. 이상의 실험 결과로서 승홍의 신독성 증가는 신장의 지질 과산화 생성 과정에서 generating enzyme system에 남성 호르몬인 testosterone이 관여하여 나타나는 결과로 생각된다.

## 참고문헌

- Aei, A., 1974, Catalase in methods of enzymatic analysis(H. U. Bergmeyer, eds), Academic Press, N. Y., 2, 673-684.
- Balar, J. G., Enaleus, H. L. and Trotman, A. F., 1976, Comprehensive in organic chemistry, 3, 191-196.
- Battelli, M.G., 1980, Enzymatic conversion of rat liver xanthine oxidase from dehydrogenase to oxidase, FEBS Letters, 113, 47-53.
- Bus, J. S. and Gibson, J. E., 1979, Lipid peroxidation and its role in toxicology, Elsevier press, Review in biochemical toxicology, 125-130.
- Cavaliers, E. and Regan, E., 1985, Role of radicals in aromatic hydrocarbon carcinogenesis, Environ. Health. Persp., 64, 69-75.
- Cohen, G. M. and Mannering, G. J., 1974, Sex-dependent differences in drug metabolism in the rat, Drug. Meta., Dispo., 2(3), 285-294.
- Degertekin, H., Akdamar, K., Yates, R., Chem, I., Ertan, A. and Vaupel, R., 1986, Light and electron microscopic studies of diet induced hepatic changes in mice, Acta. Anat., 125, 174-179.
- Galeotti, T., Cavatorta, P., Borrello, S. and Zannoni, C., 1984, Lipid peroxidation and fluidity of plasma membrane from rat liver, FEBS Letter, 169, 169-173.
- Groot, D. H. and Noll, T., 1988, The role of physiological oxygen in lipid peroxidation, Chem. Phys. Lipid, 44, 187-192.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C., 1984, Lipid peroxidation, free radicals, cell damage and antioxidant therapy, Lancet, 1, 1396-1401.
- Kalra, S. P. and Kalra, P. S., 1982, Discriminative effects of testosterone on hypothalamic luteinizing hormone releasing hormone levels and



- luteinizing hormone secretion in castrated male rats : Analysis of dose and duration characteristics, *Endocrinology*, 111, 24-28.
- Harmam, D., 1984, free radical theory fo ageing, *Age*, 7, 111-117.
- Kim, H. Y., Kim, D. H. and Choi, J. W., 1993, Study on the nephrotoxicity of mercuric chloride in sex-difference, *J. Env. Sci.&Tech. Res.*, Proceeding on published data.
- Kirshbaum, B. B., Sprinkle, F. M. and Oken, D. E., 1980, Renal function and mercury level in rats with mercuric chloride nephrotoxicity, *Nephron*, 26, 28-35.
- Kitagawa, H., Fujita, S., Suzuki, T. and Kitani, K., 1985, Disappearance of sex difference in rat liver drug metabolism in old age, *Biochem. Pharmacol.*, 34(4), 579-580.
- Klaassen, C. D., Amdur, M. O. and Doull, J., 1991, Casarett and doull's *Toxicology*, Pergamon Press, Inc. 4th Ed., 646-651.
- Knayan, G. E., Bulger, R. G. and Dobyan, D. C., 1982, Mercuric chloride-induced acute renal failure in the rat. *Lab. Invest.*, 46(6), 613-617.
- Kobsydh, Y and Usui, T., 1982, Lipid peroxidation in hemolysate of rabbit erythrocytes, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 105, 537-545.
- Li, J-L, m Okada, S., Hamazaki, S., Deug, I-L. and Midorikawa, O., 1988, Sex differences in ferric nitrilotriacetate-induced lipid peroxidation and nephrotoxicity in mice, *Biochem. Biophys. Acta.*, 963, 82-85.
- Lowry, H. O., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J., 1951, Protein measurement with folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275.
- Maher, J. F., 1976, Toxic nephropathy, in B. M. Brenner and F. C. Rector(Eds.). *The kidney*, Saunders, N. P., 1355-1375.
- Narimatsu, S., Watanabe, K., Yamamoto, I. and Yoshimura, H., 1991, Sex difference in the oxidative metabolism of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol in the rat, *Biochem. Pharmacol.*, 41(8), 1187-1191.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K., 1979, Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Anal. Biochem.*, 95, 351-358.
- Okada, S., Hamazaki, S., Ebina, Y., Fujioka, M. and Midorikawa, O., 1983, In structure and function of iron storage and transport proteins, Elsevier, N.Y., 473-475.
- Paglia, E. D. and Valentine, W. N., 1967, Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase, *J. Lab. Clin. Med.*, 70, 158-169.
- Rajagopalan, K. V., Fridovich, I. and Handler, P., 1962, Hepatic aldehyde oxidase, *J. Biol. Chem.*, 237, 922-928.
- Reddy, C. C., Tu, C. P. D., Burgess, J. R., Scholz, R. W. and Massaro E. J., 1981, Evidence for the occurrence of selenium-dependent glutathione peroxidase activity in rat liver microsome, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 101, 970-978.
- Reinke, L. A., Meyer, M. J. and Notley, K. A., 1986, Diminished rates of glucuronidation and sulfation in perfused rat liver after chronic ethanol administration, *Biochem. Pharmacol.*, 35, 439-451.
- Ress, D., Cotgreave, I. and Moldeus, P., 1985, The interaction of reduced glutathione with active oxygen species generated by xanthine oxidase catalysed metabolism of xanthine, *Biochem. Biophys. Acta.*, 341, 278-285.
- Rowry, D. A. and Halliwell, B., 1983, Free radicals relevant to the pathology of rheumatoid disease, *Clin. Sci.*, 64, 649-653.
- Ruegg, C. E., Gandolfi, A. J., Nage, R. B. and Brendel, K., 1988, Defferential patterns of injury to the proximal tubule of renal cortical slices following in vitro exposure to mercuric chloride, potassium dichromate or hydroxide con-

- ditions, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 90, 26-2.
- Stacy, N. H. and Kappus, H., 1982, Cellular toxicity and lipid peroxidation in response to mercury, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 63, 29-35.
- Stauber, R. E., Rosenblum, E., Eagon, P. K., Gavalier, J. S. and Van Theil, D.H., 1991, The effect of portal-system shunting on hepatic sex hormone receptors in male rats, *Gastroenterology*, 100(1), 168-174.
- Stripe, F. and Della Corte, E., 1969, The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (Type D) to oxidase (Type O), *J. Biol. Chem.*, 244, 3855-3863.
- Verity, M. A. and Brown, W. J., 1970,  $Hg^{2+}$ -induced kidney necrosis, *Am. J. Pathol.*, 61, 57-62.
- Waud, W. R. and Rajagopalan, K. V., 1976, Purification and properties of the  $NAD^+$ -dependent and  $O_2$  dependent forms of rat liver xanthine dehydrogenase, *Arch. Biochem. Biophys.*, 172, 354-360.
- Wolfert, A. J., Haveri, H. A., Reilly, K. M., Oken, K. R. and Oken, D. E., 1982, Glomerular hemodynamics in mercury-induced acute renal failure, *Kidney. Int.*, 32, 246-250.