

흰쥐에서 cisplatin에 의한 위벽세포의 미세구조변화에 미치는 SOD의 영향

백 두 진 · 박 규 완 · 정 호 삼
한양대학교 의과대학 해부학교실

Effect of SOD on Ultrastructural Changes of Gastric Parietal Cells in the Cisplatin Treated Rats

Doo Jin Paik, Kyu Wan Park and Ho Sam Chung
Department of Anatomy, College of Medicine, Hanyang University
(Received August 6, 1996)

ABSTRACT

This study aims to demonstrate the effect of SOD (superoxide dismutase), one of the antioxidant enzymes, on the ultrastructural changes in the parietal cells caused by the administration of cisplatin in the rat.

A total of 60 healthy Sprague-Dawley rats weighing about 200 gm were used as experimental animals. Cisplatin (6 mg/kg) was administered intraperitoneally to rats pretreated with 15,000 unit/kg of SOD or rats without the pretreatment.

The experimental animals were sacrificed at 6 hours, 12 hours, 24 hours and 3 days after the administration of cisplatin.

The results were as follows:

1. SOD alone did not affect the ultrastructural changes in the gastric parietal cells in the rat.
2. Irregular shaped mitochondria, mitochondria with dim cristae, dilated cristae, ruptured outer membrane, electron lucent matrix and degenerative mitochondria were seen in cisplatin treated rat. Whorled membranous body, many lysosomes and large vacuole were observed in the gastric parietal cells in cisplatin treated rat.
3. Mitochondria with dilated cristae and electron lucent matrix and irregular shaped mitochondria were observed in the gastric parietal cells of the cisplatin treated rat with pretreatment of SOD.

These results suggest that SOD attenuates the toxic effect of the cisplatin in the gastric parietal cells of the rat.

Key words : SOD, Cisplatin, Parietal Cell, Rat

서 론

Rosenberg 등 (1969)이 동물의 종양세포인 sarcoma 180세포와 L1210세포에 대한 cisplatin의 항암작용을 보고한 아래 인체에서 잘 생기는 악성 난소종양, 두경부의 악성 상피종양, 방광암, 갑상선암, 신경아세포종, 골육종, 자궁경부암 및 진행된 위암(Choie 등, 1980; Aabo 등, 1985) 등에 항암제로 널리 쓰이고 있다. Cisplatin은 백금원소에 2개의 염소기와 2개의 암모니아기가 수평면의 cis 위치에 결합된 금속화합물로 암세포에만 특이적으로 작용하지 않고 정상세포에도 영향을 미쳐 항암제로 사용시 여러 부작용이 나타나는 것으로 알려져 있다. Kantarjian 등 (1985)은 cisplatin을 투여하는 경우 사용 제한요소가 되는 것은 신독성이라 하였고 약제를 투여받은 환자의 25% 정도에서는 골수억제가 관찰된다고 하였으며, Lee 등 (1986)과 Cohen 및 Mallman (1987)은 cisplatin의 투여로 오심 및 구토, 식욕부진, 밀초신경증과 위장의 자율신경증에 의한 위장 평대가 나타난다고 하였고, Fleischman 등 (1975)과 Nakayama (1992)는 cisplatin에 의해 청각장애가 일어난다고 하였다.

Tay 등 (1988)은 cisplatin이 혼산 및 단백질의 합성을 억제하여 항산화효소인 catalase의 발현을 억제하여 산화자극(oxidative stress)을 일으킨다고 하였고, Sugiyama 등 (1989)은 cisplatin에 의해 사립체의 기능저하와 glutathione peroxidase의 활성이 감소되어 유리산소기에 의한 손상이 일어나 신독성이 나타난다고 하였으며, Zhang 및 Lindup (1993)은 cisplatin에 의해 세포내 환원된 glutathione이 감소되고 사립체에서 지방의 과산화가 일어나 비가역적으로 세포가 손상된다고 하였다.

한편 유리산소기의 작용과 관련된 소화기질환이나 독성에 대한 많은 연구 결과가 보고되어 있다. Perry 등 (1986)은 위장에서는 허혈시 유리산소기의 작용으로 위점막손상이 일어나며 허혈전 allopurinol이나 SOD를 투여하면 위점막의 손상 정도가 감소한다고 하였고, Oshima 등 (1990)은 허혈로 위장에서 항산화효소의 활성이 감소하면 위궤양이 생긴다고 하였으며, Pihan 등 (1987)과 Mutoh 등 (1990)은 ethanol에 의한 위점막

손상은 자유산소기의 작용에 의한 것이라 하였다. Ogino 등 (1991)은 diethyldithiocarbamate를 투여하면 위점막의 혈류량이 감소하고 SOD의 활성이 감소하여 위점막 손상이 일어난다고 하였으며, Terano 등 (1989)과 Takeuchi 등 (1991)은 indomethacin이나 ethanol에 의해 형성된 유리산소기에 의해 발생하는 위점막의 손상을 allopurinol, dimethyl sulfoxide 및 SOD의 투여로 감소시킬 수 있다고 하였다.

이에 저자는 혼산 및 단백질의 합성을 억제하고, 유리산소기와 연관되어 세포독작용을 일으키는 cisplatin을 투여하면 상피세포의 재생 및 탈락이 활발한 위장에 영향을 미쳐 벽세포에서 나타나는 형태적 변화와 유리산소기를 처리하는 항산화효소인 SOD를 투여한 후 cisplatin에 의한 위장 벽세포의 형태적 변화를 비교 관찰하기 위하여 흰쥐에 cisplatin을 투여한 후와 SOD를 전처치하고 cisplatin을 투여한 후 시간경과에 따른 위선내 벽세포의 변화를 전자현미경으로 관찰하였다.

재료 및 방법

실험동물로는 동일한 환경 하에서 시판사료(삼양동물사료)로 사육한 체중 200 g 내외의 건강한 웅성 Sprague-Dawley 계 흰쥐를 사용하였으며 실험기간 중 먹이와 물은 무제한 공급하였다.

실험동물은 대조군, cisplatin 투여군과 SOD 전처치후 cisplatin 투여군으로 나눈 다음 희생시킨 시기를 기준으로 6시간, 12시간, 24시간 및 3일 경과군으로 세분하였고 각군의 실험동물은 각 6마리를 사용하였다.

Cisplatin 투여군의 대조군에는 생리적 식염수를 복강내 주사한 다음 희생시켰고, SOD 전처치후 cisplatin 투여군의 대조군은 SOD 투여후 8시간이 경과한 다음 희생시켰다. Cisplatin 투여군에는 흰쥐 체중 kg당 6 mg의 cisplatin (abiplatin® Abic Ltd, Netanya Israel)을 투여한 다음 개복후 위장의 위체부를 적출하였고, SOD 전처치후 cisplatin 투여군은 cisplatin을 투여하기 2시간전에 흰쥐 체중 kg당 15,000 unit의 SOD (Bovine kidney, Sigma, St Louis U.S.A.)를 복강내 투여한 다음 cisplatin 투여군과 같은 방법으로 위체부를 적출하였다. 적출한 위조직은 즉시 Millonig's phosphate 용액 (pH 7.2)으로 완충된 2.5% glutaraldehyde-2%

paraformaldehyde 혼합액에 30분 동안 고정하였다. 그후 고정된 조직을 1 mm³의 크기로 세절하고 혼합액에 다시 2 내지 4시간 고정한 다음 이를 다시 Millonig액에 2시간 담근 후 1% osmium tetroxide로 고정하였다.

탈수는 alcohol-aceton 농도차에 따라 시행하였으며 Epon 812에 포매하여 LKB III ultramicrotome으로 600~800Å 두께의 초박절편을 만들어 uranyl acetate (Watson, 1958)와 lead citrate (Venable와 Caggeshall, 1965)로 이중 염색한 후 벽세포를 전자현미경 (Hitachi H-600)으로 관찰하였다.

실험 결과

1. 정상대조군

정상대조군의 흰쥐 위장에서 벽세포는 위선 경부 및 체부에 주로 위치하는 원형의 세포로 중심부에서는 직경 4~5 μm의 불규칙한 구형의 핵이 관찰되었고, 핵주변의 세포질에서는 벽세포에서 특징적으로 나타나는 세포내세관과 tubulovesicle이 관찰되었다. 세포내세관은 핵주변에서 구형 혹은 관상의 크기가 다른 공포로 나타나고 안에는 미세옹모가 있었으며 실제로 이소포들은 위선강을 향하는 세포의 핵입부인 세포내세관의 단면이 나타난 것이다. Tubulovesicle은 세포내세관 주변에 있는 대소부동한 다수의 tubule과 vesicle로 구성되며 그안에는 미립자 혹은 세포기질이 함유되어 있었다. 사립체는 구형 혹은 간형으로 직경이 1 μm 내외였고, 특징적으로 세포내 다수 분포되었으며 기질내에서 치밀하게 분포되는 사립체들이 관찰되었다.

조연내형질세망은 소조가 분절된 양상으로 나타났고 활면내형질세망과 Golgi체는 관찰되지 않았다. 당원과립은 세포질 전역에 분포되었으며 집괴를 이루는 것도 있었다 (Fig. 1).

2. SOD 투여대조군

SOD를 투여한 대조군의 흰쥐 벽세포에서는 다수의 사립체, tubulovesicle, 세포내세관과 미세옹모 등이 나타났으며 대조군과 유사하게 관찰되었다 (Fig. 2).

3. Cisplatin 투여군

Cisplatin 투여 6시간 경과군에서 흰쥐의 벽세포에서

는 핵에서 이염색질이 핵주변에 놓축되어 진하게 나타났고, 핵주위소조 (perinuclear cisterna)가 위축되어 잘 관찰되지 않았으며, 사립체는 형태가 불규칙하게 관찰되었고, 불규칙한 형태로 안에 소포를 포함하는 다수의 용해소체도 출현하였다 (Fig. 3). Cisplatin 투여 12시간 경과군에서 흰쥐의 벽세포에서는 사립체의 형태가 불규칙하였으며, 사립체에서는 사립체통이 팽대되거나 구분이 불명확하였고, 사립체기질의 전자밀도가 감소하였다 (Fig. 5). Cisplatin 투여 24시간 경과군에서 흰쥐의 벽세포에서는 사립체에서 사립체통이 팽대되거나 잘구분되지 않았으며, 기질의 전자밀도가 현저히 감소되었고 세포기질을 포함하는 막성와관체와 용해소체가 나타났다 (Fig. 7). Cisplatin 투여 3일 경과군에서 흰쥐의 벽세포에서는 사립체의 외막이 파괴되었고, 기질의 전자밀도가 감소하였으며, 소포를 포함하거나 소포와 연계되어 변성되는 사립체가 나타났고 용해소체가 관찰되었다. 그리고, 핵의 위치에 그물형태의 기질을 함유하는 매우 큰 공포를 가지는 세포도 나타났다 (Figs. 9, 10).

4. SOD 전처치후 cisplatin 투여군

SOD 전처치후 cisplatin 투여 6시간 경과군에서 흰쥐의 벽세포에서는 사립체에서 사립체통이 불분명하였고 일부 기질의 전자밀도가 감소하였으며, 형태가 불규칙한 사립체가 나타났으나 다른 소기관은 정상대조군과 유사하게 관찰되었다 (Fig. 4). SOD 전처치후 cisplatin 투여 12시간 경과군에서 흰쥐의 벽세포에서 사립체는 사립체통이 불분명하였고 기질의 전자밀도가 감소하였으며 외막이 파괴된 사립체가 관찰되었다 (Fig. 6).

SOD 전처치후 cisplatin 투여 24시간 경과군에서 흰쥐의 벽세포에서는 사립체에서 사립체통이 불분명하였고, 기질의 전자밀도가 감소하였으며, 용해소체와 세포의 막구조물을 포함하는 소포도 나타났다 (Fig. 8). SOD 전처치후 cisplatin 투여 3일 경과군에서 흰쥐의 벽세포에서 사립체는 사립체통이 약간 팽대되었고 기질의 전자밀도가 감소하였으나, 다른 세포소기관에서는 대조군과 유사하게 관찰되었다 (Fig. 11).

고찰

Cisplatin은 백금원소에 암모니아기와 염소기가 수평

면의 cis 위치에 결합된 강력한 항암제로 여러 종양에 널리 사용되지만 신독성, 오심 및 구토, 설사, 골수억제작용과 청각장애가 발생하여 제한적으로 사용되고 있다 (Von Hoff 등, 1979; Kantarjian 등, 1985).

Zwelling 및 Kohn (1979)은 cisplatin이 DNA의 strand 사이 혹은 strand내에 결합하여 DNA 합성을 억제하고 세포분열을 억제하여 항암작용을 나타낸다고 하였으며, Azumi 등 (1992)은 사람의 위암세포를 배양한 후 cisplatin을 처리하면 세포주기중 합성기의 지연이 일어나고 제2휴지기의 중단이 일어난다고 하였고, Murata 등 (1990)은 cisplatin이 핵내 DNA보다 사립체에 대한 친화력이 50배 정도 높다고 하였다. Aggarwal (1993)은 cisplatin의 투여후 염소이온의 농도가 낮은 상태에서 가수분해되어 cisplatin의 염소분자가 수산기로 치환되어 -diol형이 되면 사립체에 작용하여 oxidative phosphorylation의 반응이 중단되므로 사립체에서 ATP합성이 억제되고 칼슘이온이 방출되며, 해당작용이 감소하고 막에서 이동에 관여하는 효소의 활성이 감소하며 세포질에서 칼슘과 나트륨이온 농도가 증가하고 용해소체의 수가 증가하며 세포내 thiol기가 감소한다고 하였다.

Gorden과 Gattone (1986)은 흰쥐에 5.5 mg/kg의 cisplatin을 투여하면 신장의 기능장애, 신장세포내 사립체의 호흡장애 및 세포내 칼슘이온의 침착으로 세포에서 발생되는 비가역적 손상은 약제에 의한 부분적 허혈이 원인이라고 하였고, Kameyama 및 Gemba (1991)는 cisplatin에 의해 흰쥐 신장의 사립체내의 glutathione이 감소되고 칼슘이온의 유입이 감소한다고 하였다. Choie 등 (1981)은 5 mg/kg의 cisplatin을 흰쥐에 투여하면 중식중인 세포에 민감하게 작용하여, 소장 점막에서 상피세포의 괴사와 유사분열의 억제로 융모와 장샘 (crypt)의 수가 감소하고 이러한 손상은 회장에서 가장 심하다고 하였으며 약제 투여후 5에서 7일이 경과하면 회복된다고 하였다. Chey 등 (1988)은 cisplatin 투여후 위와 소장에서 근육의 전기자극 활성 (myoelectrical activity)이 장애되어 반대쪽으로 진행되는 연동운동이 일어나고 혈중 motilin의 변화로 오심 및 구토가 일어난다고 하였다. 이러한 cisplatin의 세포내 작용이 유리기 (free radical)의 형성 및 항산화효소계 효소의 활성 불균형을 이루거나, 지방의 과산화와 관련이 있다는 보고가 있다.

Dedon과 Borch (1987)는 cisplatin이 catalase의

thiol기와 결합하여 alkylation 시키면 효소활성이 소실된다고 하였고, Sadzuka 등 (1992)은 cisplatin의 투여로 흰쥐의 간 및 신장에서 catalase, glutathion peroxidase 및 glutathion S-transferase와 활성이 현저히 감소하고 Cu-Zn SOD는 신장에서 활성이 감소하며, 약제가 직접 지질의 과산화를 일으키지는 못하지만 항산화제 효소의 활성을 감소시키고 자유반응기 (free radical)의 형성을 증가시켜 지질의 과산화를 일으킨다고 하였다.

Wachowicz 및 Kustron (1992)은 폐지의 혈소판 배양에서 cisplatin이 glutathion peroxidase와 SOD의 활성을 감소시켜 지방이 과산화되므로 malondialdehyde의 양이 증가한다고 하였고, Cho와 Cho (1993)는 5 mg/kg의 cisplatin을 투여 받은 흰쥐의 신수질에서 catalase와 SOD의 활성감소로 자유반응기의 형성이 증가하여 신독성이 발생하고 α -tocopherol과 dimethylthiourea의 투여로 신독성의 정도를 감소시킬 수 있다고 하였다. Sugiyama 등 (1989)은 cisplatin에 의한 신독성은 사립체의 기능저하와 glutathion peroxidase의 활성감소로 자유반응기가 증가하여 생긴 손상이라 하고 selenium을 함께 투여하면 glutathion peroxidase의 활성이 증가하여 신독성이 감소한다고 하였고, Torii 등 (1993)은 뾰족뒤쥐에 20 mg/kg의 cisplatin을 복강내로 투여하면 60분 후 뇌, 간 및 소장에서 지방의 과산화가 일어나 thiobarbituric acid 반응성물질이 증가한다고 하고 약제에 의하여 나타나는 오심 및 구토 현상을 cisplatin의 작용으로 형성된 자유반응기가 enterochromaffin 세포중 EC세포를 자극하여 serotonin이 분비되어 일어나는 현상으로 유리반응기의 제거제인 N-(2-mercaptopropionyl)의 투여로 예방이 가능하다고 하였다.

한편 세포에서 단백질, 핵산, 막의 지질, 세포질의 분자, 교원질 등과 반응하여 손상을 일으키고 SOD에 의하여 대사되는 것 (Freeman과 Crapo, 1982)으로 알려진 반응성산소기 혹은 유리산소기에 의하여 소화장관의 점막 손상이 일어난다는 보고도 있다. Schoenberg 및 Beger (1993)는 허혈 및 재판류로 소장에서 유리산소기가 형성되고 phospholipase A₂가 활성화되어 지방의 과산화와 prostaglandin 및 leucotriene의 형성이 증가하게 되며, SOD, catalase, dimethyl sulfoxide, allopurinol,

deferoxamine 등의 투여로 이러한 현상이 약화된다고 하였으며, Mizui 등 (1987)은 alcohol을 흰쥐에 투여하면 xanthine oxidase의 작용으로 형성된 superoxide anion에 의하여 지질의 과산화가 일어나 위점막 손상이 야기된다고 하였다. Ogino 등 (1990)은 dimethyldithiocarbamate를 투여받은 흰쥐의 위에서는 2시간 경과후 Cu-Zn SOD의 활성이 감소하고 점막혈류가 52% 정도 감소하며 점막의 충혈이 생겨 유리산소기가 발생하므로 궤양이 생긴다고 하였고, Vaananen 등 (1991)은 indomethacin에 의한 위점막손상은 호중구에서 발생한 유리반응기에 의한 것으로 superoxide dismutase 혹은 catalatase의 투여로 손상 정도가 감소한다고 하였다.

또한 SOD는 superoxide anion을 과산화수소로 변환시켜 산화자극에서 세포의 구성물질을 보호하는 항산화효소중 하나로 포유동물에는 분자량이 38,000이고 세포질에 분포하는 Cu-Zn SOD, 분자량이 80,000이고 사립체에 분포하는 Mn SOD와 세포외액에 분포하는 고분자량의 SOD가 있으며 각 SOD의 항체는 서로교차 반응이 없다고 하였고, Mn SOD는 chloroform이나 ethanol에 의해, Cu-Zn SOD는 cyanide에 의해 활성이 감소하는 것으로 알려져 있으며 동물에서 SOD의 분포량은 간, 신장, 심장, 뇌, 폐, 비장, 척수, 망막, 궤장, 수정체 및 소장의 순으로 나타난다고 하였다 (Weisger 및 Fridovich 1973; Fridovich 1978; Zidenberg-Cherr 등, 1983; Davis 등, 1989; Izokun-Etiobhio 등, 1990).

Inoue 등 (1989)은 SOD가 반감기가 짧아 poly-(styrene-Co-maleic acid butyl ester)와 공유결합된 유도체를 만들어 투여하면 혈중 albumin과 결합하여 반감기가 6시간 정도된다고 하였으며, Oka 등 (1990)은 위점막에는 SOD의 분포가 적어 유리산소기에 민감하게 반응한다고 하였고, Naito 등 (1993)은 위점막에서 궤양이 생긴 주변부는 SOD의 활성이 매우 낮고 치유가 되는 시기에는 SOD의 활성이 높아 궤양의 치유에 SOD가 중요한 역할을 한다고 하였다.

본 실험에서는 여러 학자들의 보고처럼 cisplatin 투여 후 벽세포에서 사립체의 변화가 주로 일어났으며 약제 투여 12시간이 경과후부터 사립체의 외막이 파괴되거나 변성되는 것도 나타났으나, SOD를 전처치하고 cisplatin 을 투여하면 사립체에서 일어나는 변화의 정도가 감소하-

였고, 막성와관체 등의 이차용해소체는 관찰되지 않았으며 용해소체의 출현도 감소하였다. SOD 전처치후 cisplatin 투여 12시간 경과군에서 관찰되는 사립체막의 손상은 cisplatin에 의해 catalase의 활성이 감소하면 세포에서 과산화수소가 축적되어 철이 매개하는 Haber 및 Weiss 반응 ($O_2^- + Fe^{+++} \rightarrow O_2 + Fe^{+++}$, $H_2O_2 + Fe^{+++} \rightarrow \cdot OH + Fe^{+++} + OH^-$)이 일어나고 이때 형성되는 반응성수산기에 의해 손상이 일어난 것으로 SOD가 반응성수산기의 형성을 억제하지는 못한다고 추측할 수 있었다. 이후 24시간 및 3일 경과시에는 SOD를 전처치한 경우 사립체의 손상 정도가 감소하였다. 이러한 현상은 여러 학자의 보고한 바와 같이 cisplatin이 SOD의 활성을 감소시켜 2차적으로 증가되는 유리산소기를 투여한 SOD가 대사시켜 손상을 약화시키는 것으로 생각할 수 있다. 또, cisplatin의 작용으로 조직에서 반응성수산기가 증가하게 되고 SOD는 superoxide anion을 대사하는 효소이므로 SOD가 cisplatin에 의한 독작용을 약화시킬 수 있다는 것은 cisplatin이 catalase 활성의 감소뿐 아니라 superoxide anion의 형성을 촉진하는 효과가 있을 것으로 예상되며 이에 대하여도 앞으로 연구해 볼 필요가 있을 것으로 생각된다.

이상의 결과를 종합하면 SOD가 cisplatin의 작용으로 세포에서 형성되는 유리산소기를 대사시켜 cisplatin에 의하여 벽세포에서 일어나는 미세구조의 변화를 감소시키므로 SOD가 cisplatin에 의한 세포손상을 약화시키는 것으로 사료된다.

결 론

임상에서 치료효과가 높은 항암제로 널리 쓰이는 cisplatin은 신독성, 소화기 증상 및 내이의 손상 등을 일으키며 이러한 독성의 발현은 유리산소기에 의한 것으로 보고된 바가 있다. 이에 저자는 항산화효소인 SOD가 cisplatin의 작용에 의한 위샘벽세포에서 미세구조의 변화에 영향을 미치리라 사료되어 흰쥐에 체중 kg당 6 mg의 cisplatin을 단독 투여하거나, 15000 unit/kg의 SOD 를 투여한 뒤 cisplatin을 투여한 다음 6시간, 12시간, 24시간 및 3일 경과후 위체부의 조직을 절취하여 표본을 제작하고 투과전자현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. SOD의 단독투여가 벽세포의 형태적 변화에 영향을 미치지 않았다.
2. Cisplatin을 투여한 흰쥐의 벽세포에서는 사립체의 형태가 불규칙해지고 사립체릉이 팽대되거나 잘 구분되지 않았고 사립체 기질의 전자밀도가 감소하였으며, 외막이 파괴되거나 변성되어 공포가 형성된 사립체도 관찰되었고, 세포기질을 포함하는 막성과 권체 등 다수의 용해소체를 볼 수 있었으며 핵위치에서 큰 공포가 관찰되었다.
3. SOD를 전처치한 후 cisplatin을 투여한 흰쥐의 벽세포에서는 시간경과에 따라 사립체는 형태가 불분명해지거나 사립체릉이 팽대되었고 기질의 전자밀도가 감소하였으며, cisplatin 투여 3일 경과후에는 사립체릉이 다소 팽대되었으나 다른 세포소기관들은 정상대조군과 유사하게 관찰되었다.
이상의 결과를 종합하면 SOD가 흰쥐 위벽세포에 미친 cisplatin의 독성을 감소시키는 것으로 사료된다.

REFERENCES

- Aabo K, Pedersen H, Rorth M, 1985. Cisplatin in the treatment of advanced gastric carcinoma; a phase II study, *Cancer. Treat. Rep.* 69, 449-450
- Aggarwal SK, 1983. A histochemical approach to the mechanism of action of cisplatin and its analogues, *J. Histochem. Cytochem.* 41, 1053-1073
- Azumi Y, Konishi E, Urata Y, Itoi H, Yamaguchi N, Kubo H, Horii A, Yamagishi H, Ashihara T, Oka T, 1992. Analysis of cell proliferation kinetics and the effects of cisplatin on the cell cycle of human gastric cancer cells by autostage cytofluorometry, *Gan To KagaKu Ryoho.* 19, 987-992 [abstract]
- Chey RD, Lee KY, Asbury R, Chey WY, 1988. Effect of cisplatin on myoelectric activity of the stomach and small intestine in dogs, *Dig. Dis. Sci.* 33, 338-344
- Cho YJ, Cho KC, 1993. Effects of cisplatin on free radical scavenging enzymes and inhibitions of cisplatin-induced nephrotoxicity by free radical scavengers, *J. Catholic Med. College* 46, 753-762
- Choie DD, del Campo AA, Guarino AM, 1980. Subcellular localization of cis-dichlorodiammineplatinum (II) in rat kidney and liver, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 55, 245-252
- Choie DD, Longnecker DS, Copley MP, 1981. Cytotoxicity of cisplatin in rat intestine, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 60, 354-359
- Cohen SC, Mollman JE, 1987. Cisplatin-induced gastric paresis, *J. Neurooncol.* 5, 237-240 [abstract]
- Davis WL, Matthews JL, Shibata K, Kipnis M, Farmer GR, Cortinas E, Meiyir JC, Goodman DBP, 1989. The immunocytochemical localization of superoxide dismutase in the enterocytes of the avian intestine: the effect of vitamin D3, *Histochem. J.* 21, 194-202
- Dedon PC, Borch RF, 1987. Characterization of the reactions of platinum antitumor agents with biologic and non-biologic sulfur-containing nucleophiles, *Biochem. Pharmacol.* 36, 1955-1964
- Fleischman RW, Stadnicki SW, Ethier MF, Schaeppi U, 1975. Ototoxicity of cis-dichlorodiammineplatinum(II) in the guinea pig, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 33, 320-332
- Freeman BA, Crapo JD, 1982. Biology of disease: Free radicals and tissue injury, *Lab. Invest.* 47, 412-426
- Fridovich I, 1978. The biology of oxygen radicals. The superoxide radical in an agent of oxygen toxicity: superoxide dismutases provide an important defense, *Science.* 201, 875-880
- Gorden JA, Gattone VH II, 1986. Mitochondrial alterations in cisplatin-induced acute renal failure, *Am. J. Physiol.* 250, F991-F998
- Inoue M, Ebashi I, Watanabe N, Morino Y, 1989. Synthesis of a superoxide dismutase derivative that circulates bound to albumin and accumulates in tissues whose pH is decreased, *Biochemistry* 28, 6619-6624
- Izokun-Étiabho BO, Oraedu AC, Ugochukwu EN, 1990. A comparative study of superoxide dismutase in various animal species, *Comp. Biochem.*

- Physiol. B 95, 521-523 [abstract]
- Kameyama Y, Gemba M, 1991. Cisplatin-induced injury to calcium uptake by mitochondria in glutathione-depleted slices of rat kidney cortex, Jpn. J. Pharmacol. 55, 174-176 [abstract]
- Kantarjian H, Ajani JA, Karlin DA, 1985. cis-Diamminodichloroplatinum (II) chemotherapy for advanced adenocarcinoma of the upper gastrointestinal tract, Oncology 42, 69-71
- Lee KE, Kubota T, Sawamura M, Kadowaki K, 1986. Effect of metoclopramide on gastric distension and lethal toxicity of cisplatin in mice, Gan To Kagaku Ryoho. 13, 1911-1914 [abstract]
- Mizui T, Sato H, Hirose F, Doteuchi M, 1987. Effect of antiperoxidative drugs on gastric damage induced by ethanol in rats, Life Sci. 41, 755-763 [abstract]
- Murata T, Hibasami H, Maekawa S, Tagawa T, Nakashima K, 1990. Preferential binding of cisplatin to mitochondrial DNA and suppression of ATP generation in human malignant melanoma cells, Biochem. Int. 20, 949-955 [abstract]
- Mutoh H, Hiraishi H, Ota S, Ivey KJ, Terano A, Sugimoto T, 1990. Role of oxygen radicals in ethanol induced damage to cultured gastric mucosal cells, Am. J. Physiol. 258, G603-G609
- Nakayama M, 1992. Cisplatin induced vestibular damage, Nippon Jibinkoka Gakkai Kaiho 95, 81-94 [abstract]
- Naito Y, Yoshikawa T, Kaneko T, Inuma S, Nishimura S, Takahashis, Kondo M, 1993. Role of oxygen radicals in indomethacin-induced gastric mucosal microvascular injury in rats, J. Clin. Gastroenterol. 17(suppl), S99-S103
- Ogino K, Hobara T, Kawamoto T, Kobayashi H, Iwamoto S, Oka S, Okazaki Y, 1990. Mechanism of diethyldithiocarbamate-induced gastric ulcer formation in the rat, Pharmacol. Toxicol. 66, 133-137
- Ogino K, Hobara T, Oka S, Ishiyama H, Yamasaki K, Kanbe T, 1991. Reduction of the extent of diethyldithiocarbamate-induced antral gastric ulcer by neutrophil depletion in the rat, Pharmacol. Toxicol. 68, 144-145
- Oka S, Ogino K, Houbara T, Yoshimura S, Okasaki Y, Takmoto T, Kato N, Iida Y, Uda T, 1990. An immunohistochemical study of copper-zinc-containing superoxide dismutase detected by a monoclonal antibody in gastric mucosa and gastric cancer, Histopathol. 17, 231-236
- Oshima A, Asayama K, Sakai N, Kitajima M, 1990. The role of endogenous free radical scavengers on tissue recovery in the experimental ulcer model, J. Clin. Gastroenterol. 1, S58-S64
- Perry MA, Wadhwa S, Parks DA, Pickard W, Granger DN, 1986. Role of oxygen radicals in ischemia-induced lesions in the cat stomach, Gastroenterol. 90, 362-367
- Pihan G, Regillo G, Szabo S, 1987. Free radical and lipid peroxidation in ethanol- or aspirin-induced gastric mucosal injury, Dig. Dis. Sci. 32, 1395-1401
- Rosenberg B, Van Camp L, Trosko JE, Mansour VH, 1969. Platinum compounds: a new class a potent antitumor agents, Nature 222, 385-386
- Sadzuka Y, Shoji T, Takino Y, 1992. Effect of cisplatin on the activities of enzymes which protect against lipid peroxidation, Biochem. Pharmacol. 43, 1872-1875
- Schoenberg MH, Beger HG, 1993. Reperfusion injury after intestinal ischemia, Crit. Care. Med. 21, 1376-1386 [abstract]
- Sugiyama S, Hayakawa M, Kato T, Hanaki Y, Shimizu K, Ozawa T, 1989. Adverse effects of antitumor drug, cisplatin, on rat kidney mitochondria: disturbances in glutathione peroxidase activity, Biochem. Biophys. Res. Commun. 159, 1121-1127
- Takeuchi K, Ueshima K, Hironaka Y, Fujioka Y, Matsumoto J, Okabe S, 1991. Oxygen free radicals and lipid peroxidation in the pathogenesis of gastric mucosal lesions induced by indomethacin in rats.: relation to gastric hypermotility, Digestion 49, 175-184
- Tay LK, Bregman CL, Masters BA, Williams, PD, 1988. Effects of cis-diamminedichloroplatinum (II) on rabbit kidney in vivo and on rab-

- bit renal proximal tubular cells in culture, *Cancer Res.* 48, 2538-2543
- Terano A, Hiraishi H, Ota S, Shiga J, Sugimoto T, 1989. Role of superoxide and hydroxyl radicals in rat gastric mucosal injury induced by ethanol, *Gastroenterol. Jpn.* 24, 488-493 [abstract]
- Torii Y, Mutoh M, Saito H, Matsuki N, 1993. Involvement of free radicals in cisplatin-induced emesis in suncus murinus, *Eur. J. Pharmacol.* 240, 131-135
- Vaananen PM, Meddings JB, Wallace JL, 1991. Role of oxygen derived free radicals in indomethacin-induced gastric injury, *Am. J. Physiol.* 261, G470-G475
- Venable JH, Coggeshall R, 1965. A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy, *J. Cell. Biol.* 25, 407-417
- Von Hoff DD, Schilsky R, Reichert CM, Reddick RL, Rözenzweig M, Young RC, Muggia RM, 1979. Toxic effects of cis-dichlorodiammineplatinum (II) in man, *Cancer Treat. Rep.* 63, 1527-1531
- Wachowicz B, Kustron J, 1992. Effect of cisplatin on lipid peroxidation in pig blood platelets, *Cytobios.* 70, 41-47 [abstract]
- Watson ML, 1958. Staining of tissue section for electron microscopy with heavy metals, *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 4, 475-478
- Weisiger RA, Fridovich I, 1973. Superoxide dismutase, organelle specificity, *J. Biol. Chem.* 248, 3582-3592
- Zhang JG, Lindup WE, 1993. Role of mitochondria in cisplatin-induced oxidative damage exhibited by rat renal cortical slices, *Biochem. Pharmacol.* 45, 2215-2222
- Zidenberg-Cherr S, Keen CL, Lönnardal B, Hurley LS, 1983. Dietary superoxide dismutase does not affect tissue levels, *Am. J. Clin. Nutr.* 37, 5-7
- Zwelling LA, Kohn KW, 1979. Mechanism of action of cis-dichlorodiammineplatinum (II), *Cancer Treat. Rep.* 63, 1439-1444

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** An electron micrograph of parietal cell of gastric gland, control rat. Intracellular canaliculi (IC) with microvilli (Mv), numerous mitochondria (M), tubulovesicles (Tv) around intracellular canaliculi (IC), rough endoplasmic reticulum (r-ER) and glycogen particles (Gly) are seen. Bar indicates 1 μm
- Fig. 2.** An electron micrograph of parietal cell of gastric gland, SOD pretreated control rat. Intracellular canaliculi (IC) with microvilli (Mv), tubulovesicles (Tv) and numerous mitochondria (M) are observed. N, Nucleus. Bar indicates 1 μm
- Fig. 3.** An electron micrograph of parietal cell of gastric gland, 6 hours of cisplatin treated rat. Dense euchromatin, irregular shaped mitochondria (M₁), mitochondria (M), rough endoplasmic reticulum (r-ER), lysosome (Ly), tubulovesicles (Tv) and intracellular canaliculi (IC) with microvilli (Mv) are observed. N, Nucleus. Bar indicates 1 μm
- Fig. 4.** An electron micrograph of parietal cell of gastric gland, 6 hours of cisplatin treated rat with pretreatment of SOD. Mitochondria (M), irregular shaped mitochondria (M₁), tubulovesicles (Tv) and intracellular canaliculi (IC) with microvilli (Mv) are seen. Bar indicates 1 μm
- Fig. 5.** An electron micrograph of parietal cell of gastric gland, 12 hours of cisplatin treated rat. Mitochondria (M₂) with dilated or indistinct cristae and electron lucent matrix, rough endoplasmic reticulum (r-ER), glycogen particles (Gly), tubulovesicles (Tv) and intracellular canaliculi (IC) with microvilli (Mv) are seen. N, Nucleus. Bar indicates 1 μm
- Fig. 6.** An electron micrograph of parietal cell of gastric gland, 12 hours of cisplatin treated rat with pretreatment of SOD. Mitochondria (M), mitochondria (M₃) with ruptured outer membrane and electron lucent matrix, glycogen particles (Gly), tubulovesicles (Tv) and intracellular canaliculi (IC) with microvilli (Mv) are seen. N, Nucleus. Bar indicates 0.5 μm
- Fig. 7.** An electron micrograph of parietal cell of gastric gland, 24 hours of cisplatin treated rat. Mitochondria (M₂) with dilated or indistinct cristae and electron lucent matrix, mitochondria (M₄) with a few cristae and electron lucent matrix, whorled membranous body (WMB) including cytoplasmic matrix, lysosome (Ly), glycogen particles (Gly) tubulovesicle (Tv) and intracellular canaliculi (IC) with microvilli (Mv) are observed. N, Nucleus. Bar indicates 0.5 μm
- Fig. 8.** An electron micrograph of parietal cell of gastric gland, 24 hours of cisplatin treated rat with pretreatment of SOD. Mitochondria (M), mitochondria (M₃) with ruptured outer membrane and electron lucent matrix. Mitochondria (M₄) with a few cristae and marked electron lucent matrix, lysosome (Ly), rough endoplasmic reticulum (r-ER), glycogen particles (Gly), vacuole (v) contained membranous structure, tubulovesicle (Tv) and intracellular canaliculi (IC) with microvilli (Mv) are observed. Bar indicates 1 μm
- Fig. 9.** An electron micrograph of parietal cell of gastric gland, 3 days of cisplatin treated rat. Mitochondria (M₂) with dim cristae and electron lucent matrix, mitochondria (M₃) with ruptured outer membrane and electron lucent matrix, mitochondria (M₄) with a few cristae and electron lucent matrix, rough endoplasmic reticulum (r-ER), glycogen particles (Gly), lysosome (Ly), tubulovesicles (Tv), large vacuole (Va) and intracellular canaliculi (IC) with microvilli (Mv) are observed. Bar indicates 1 μm

Fig. 10. An electron micrograph of parietal cell of gastric gland, 3 days of cisplatin treated rat. Mitochondria (M_2) with indistinct cristae and electron lucent matrix, mitochondria (M_3) with ruptured outer membrane and electron lucent matrix, mitochondria (M_4) with a few cristae and electron lucent matrix, degenerative mitochondria (M_5), lysosome (Ly), tubulovesicles (Tv) and intracellular canaliculi (IC) with microvilli (Mv) are observed. Bar indicates 1 μ m

Fig. 11. An electron micrograph of parietal cell of gastric gland 3 days of cisplatin treated rat with pretreatment of SOD. Mitochondria (M), mitochondria (M_2) with dilated cristae and electron lucent matrix, Golgi complex (Go), rough endoplasmic reticulum (r-ER) tubulovesicles (Tv) and intracellular canaliculi (IC) with microvilli (Mv) are observed. N, Nucleus. Bar indicates 1 μ m







