

생제로써 항생제의 효과면에서 탁월함과 부작용이 적다는 잇점이 있어, 최근 산업동물과 소동물임상에서 가장 광범하게 사용하고 있다. 사람에서는 enrofloxacin의 전환물질인 ciprofloxacin이라는 성분명으로 개발된 이 항생제는 그람양성 및 그람음성균을 포함한 광범한 살균효과가 있어 여러 질병(호흡기, 소화기, 피부, 비뇨기 등)에 사용되고 있다⁶.

최근 애완동물의 노령화에 따른 비뇨기계의 약화와 탈수 및 발열의 병력을 가지고 있는 환축에서 enrofloxacin투여시 식욕부진, 구토, 배뇨장애 등의 부작용이 실제 임상에서 때때로 관찰되고 있다. 그러나 탈수나 hyperoxaluria의 상태에서 enrofloxacin의 투여에 대한 신세뇨관이나 사구체의 변화에 대한 보고는 많지 않다. 따라서 본 연구에서는 수분부족 상태를 유도시킨 실험군과 oxalate를 사용한 실험군에 enrofloxacin을 투여하여 신장의 병적변화를 H-E염색하여 병리조직학적으로 관찰하였던 바, 신장기능이 저하된 개체에 enrofloxacin투여시 나타날 수 있는 신장세포변화에 대한 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

공시동물과 사료

공시된 랫트는 Fan 등²⁴의 기술에 따라 200 g~300 g의 웅성 Sprague-Dewely로서 생명공학연구소에서 분양받아 polycarbonate cage에 사육하면서 공시하였다. 사료는 일반 랫트전용 pellet사료(삼양사)를 사용하였으며 음수는 실험군에 따라 다르게 급여하였다. 실험군에 사용된 랫트는 총 65마리이며, 실험군은 4개군으로 분류하여 실험하였으며 구체적인 사항은 아래와 같다.

실험군과 실험방법

실험 제1군. 탈수를 유도한 상태에서의 enrofloxacin (Baytril®, Bayer) 1회투여가 신장에 미치는 영향을 알아보기 위해 웅성랫트 20마리를 공시하여 음수공급을 중단한지 72시간째 enrofloxacin을 체중 kg당 각각 0, 5, 50, 200 mg을 각각 복강으로 4개군에 1회투여한 후 24시간째에 부검하여 임상 및 병리조직학적 검사를 실시하였다 (Table 1).

실험 제2군. Hyperoxaluria 상태에서의 enrofloxacin 장기투여가 신장에 미치는 영향을 알아보기 위해 웅성랫트 15마

리를 공시하여 3% sodium oxalate를 함유한 물을 7일간 계속급여하고, 매일 1회씩 enrofloxacin을 체중 kg당 각각 0, 50, 100mg을 7일간 피하투여한 다음 부검하여 병리조직학적 검사 및 노침사검사를 실시하였다(Table 2).

실험 제3군. Hyperoxaluria 상태에서의 enrofloxacin 장기투여 후 7일간의 투약을 중지한 경우 신장에 미치는 영향을 알아보기 위해 웅성랫트 15마리를 공시하여 3% sodium oxalate를 포함한 물을 7일간 계속급여하고, 매일 1회씩 7일간 enrofloxacin을 체중 kg당 각각 0, 50, 100 mg을 피하투여한 다음, 7일동안 모든 투약을 중단하고 3% sodium oxalate를 포함하지않은 수도수를 계속급여하여 실험 14일째 부검하여 병리조직학적 검사 및 노침사검사를 실시하였다(Table 3).

실험 제4군. 급성 hyperoxaluria 상태에서의 enrofloxacin 장기투여가 신장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 웅성랫트 15마리를 공시하여 1일째 체중 100 mg당 3 mg의 sodium oxalate를 복강내로 1회 투여하여 급성 hyperoxaluria를 유도한 다음, enrofloxacin을 체중 kg당 각각 0, 50, 500 mg을 매일 1회씩 7일간 복강 내 투여한 후 실험 7일째 부검하여 병리조직학적 검사 및 노침사 검사를 실시하였다(Table 4).

이상과 같이 각 실험 군을 통해 음수중단상태에서의 enrofloxacin 일회투여가 신장에 미치는 영향(G1), sodium

Table 2. Experimental Design 2

Groups (n=15)	Protocol
1(n=5)	① 3% sodium oxalate+water P.O. for 7days ② Enrofloxacin 0 mg/kg
2(n=5)	① 3% sodium oxalate+water P.O. for 7days ② Enrofloxacin 50 mg/kg S.C. for 7days
3(n=5)	① 3% sodium oxalate+water P.O. for 7days ② Enrofloxacin 100 mg/kg S.C. for 7days

Table 3. Experimental Design 3

Groups (n=15)	Protocol
1(n=5)	① 3% sodium oxalate + water P.O. for 7days ② Enrofloxacin 0 mg/kg ③ After 7days, normal water+food for 7days
2(n=5)	① 3% sodium oxalate + water P.O. for 7days ② Enrofloxacin 50 mg/kg S.C. for 7days ③ After 7days, normal water+food for 7days
3(n=5)	① 3% sodium oxalate + water P.O. for 7days ② Enrofloxacin 100 mg/kg S.C. for 7days ③ After 7days, normal water+food for 7days

Table 4. Experimental Design 4

Groups (n=15)	Protocol
1 (n=5)	① 30 mg/kg sodium oxalate single dose I.P. ② Enrofloxacin 0 mg/kg S.C. for 7days
2 (n=5)	① 30 mg/kg sodium oxalate single dose I.P. ② Enrofloxacin 50 mg/kg S.C. for 7days
3 (n=5)	① 30 mg/kg sodium oxalate single dose I.P. ② Enrofloxacin 500 mg/kg S.C. for 7days

Table 1. Experimental Design 1

Groups (n=20)	Protocol
1 (n=5)	① Deprivation of water for 72 hours ② Enrofloxacin 0 mg/kg
2 (n=5)	① Deprivation of water for 72 hours ② Enrofloxacin 5 mg/kg I.P.
3 (n=5)	① Deprivation of water for 72 hours ② Enrofloxacin 50 mg/kg I.P.
4 (n=5)	① Deprivation of water for 72 hours ② Enrofloxacin 200 mg/kg I.P.

oxalate를 음수 시킨 후 enrofloxacin 장기투여가 신장에 미치는 영향(G2), G2상태에서 7일간의 투약을 중지하여 자연치유를 시켰을 경우 신장의 변화(G3), sodium oxalate 1회 투여 후 급성 hyperoxaluria상태에서 enrofloxacin과랑투여가 신장에 미치는 영향(G4) 등을 알아보기 위하여 본 실험을 실시한 후 임상 및 병리조직학적으로 추구하고있다.

병리조직학적 관찰

각 실험군(Group 1, 2, 3, 4)의 실험동물의 신장조직을 검사하기 위해 부검 후 신장을 절취하여 10% 중성 포르말린 용액으로 고정한 다음 파라핀 포매 처리 후 3-4 μm 두께의 조직절편을 제작하여 통상적인 방법에 따라 H-E염색을 실시하여 관찰하였다.

노침사검사

각 실험군의 실험기간도중 일정한 시간에 소변을 채취하여 원심분리를 한 뒤 침전된 노침사를 채취하여 슬라이드 글라스에 한 방울 놓고 커버글라스를 덮은 다음 광학현미경으로 관찰하였다.

결 과

탈수유도상태에서의 enrofloxacin 1회 투여가 신장에 미치는 영향(G1), sodium oxalate 투여상태에서의 enrofloxacin 장기투여가 신장에 미치는 영향(G2), G2실험에서 enrofloxacin의 투약을 중지함으로써 신장의 변화(G3), sodium oxalate 1회 투여 후 급성 hyperoxaluria상태에서의 enrofloxacin과랑투여가 신장에 미치는 영향(G4) 등을 알아보기 위하여 각 실험군을 통하여 임상 및 병리조직학적으로 추구하고 있던 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

실험 제1군(G1)

음수가 중단된 랫트에 enrofloxacin을 용량별로 투여시 투여용량이 많아질수록 식욕의 감소 또는 절폐, 침울, 행동둔화, 뇨량의 급격한 감소 등의 임상증상이 나타났으며 폐사는 발견되지 않았다. 실험군은 대조군에 비하여 사구체의 충혈 및 피사와 세뇨관 상피세포의 공포화, 신장 피질내의 충혈과 출혈(Fig 1) 및 세뇨관내 단백질성 원주 등이 enrofloxacin의 양이 증가함에 따라 점차 심하게 나타나는 것으로 간주되었다(Fig 2).

실험 제2군(G2)

3% sodium oxalate를 포함한 물을 급여한 결과 hyperoxaluria를 유도할 수 있게되었으며, 실험군의 일부는 식욕감소, 음수량 감소 및 행동둔화가 나타났다. 특히 음수량의 감소로 어느 정도의 수분부족상태가 동반되었다고 본다. 실험군의 소변을 원심분리 하여 침전된 노침사를 현미경으로 검사한 결과 다수는 다이아몬드 형태의 calcium oxalate crystal(Fig 3)이 검출되었고 일부는 장방형의 magnesium ammonium

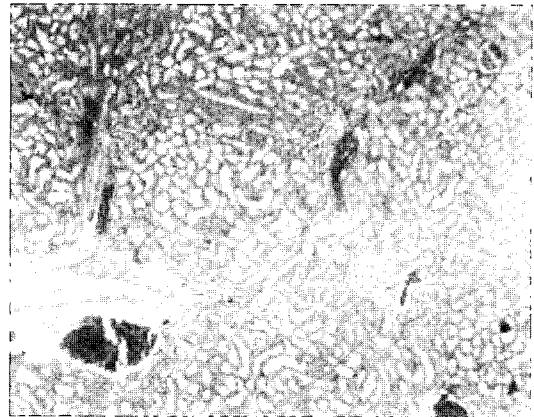


Fig 1. Hyperemia and hemorrhage of renal cortex in the rat deprived of water for 72 hrs and administered with enrofloxacin 200 mg/kg b.w. H-E. $\times 40$.

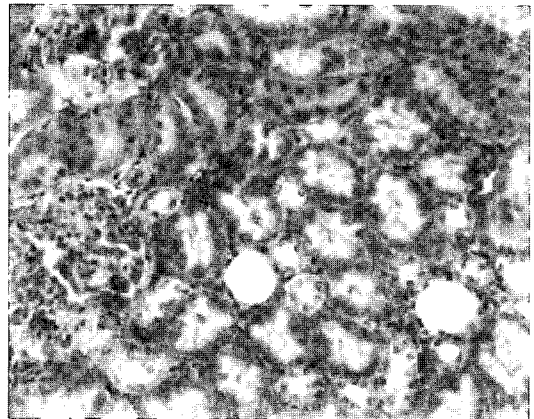


Fig 2. Vacuolation and necrosis of renal tubular epithelia, and proteinous cast within renal tubule are seen in the rat deprived of water for 72 hrs and administered with enrofloxacin 200 mg/kg b.w. H-E. $\times 200$.

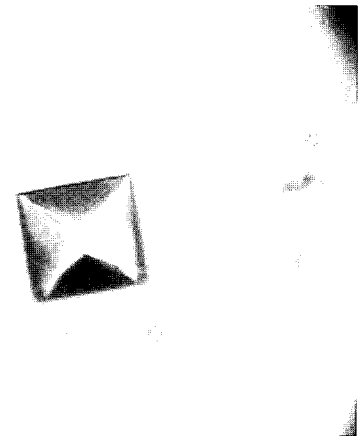


Fig 3. Calcium oxalate crystals(diamond-like type) in urine sediment appeared in the rat administered with 3% sodium oxalate and enrofloxacin 100 mg/kg b.w. for 7days. H-E. $\times 200$.

phosphate crystal이 검출되었다(Fig 4). Enrofloxacin 투여용량이 증가할수록 사구체의 출혈과 괴사 및 낭포형성(Fig 5) 그리고 신장피질의 충혈, 세뇨관의 공포화와 괴사 및 단백질성 요원주 출현 등의 변화가 더욱 증가되는 것으로 인정되었다(Fig 6).

실험 제3군(G3)

3% sodium oxalate를 함유한 물을 급여한 결과 hyperoxaluria를 유도할 수 있게 되었으며, 실험군의 일부는 식욕 및 음수량 감소, 행동둔화가 나타났다. 특히 음수량의 감소로 어느 정도의 수분부족상태가 동반되었다고 본다. 실험 7일 후 수도수를 급여함으로써 음수량의 급격한 증가가 있었고, 소변량도 증가되었다. 절제된 식욕도 조금씩 증가하여 행동둔화도 호전이 되었다. Enrofloxacin 투여용량이 증가할수록 사구체의 손상과 신장피질의 충혈, 세뇨관의 공포화와 괴사, 세뇨관내 결정체양의 물질이 현저히 증가되는 것으로 인정되었다(Figs 7, 8). 실험 7일 후 수도수가 급여되면서 실험



Fig 4. Magnesium ammonium phosphate crystals in urine sediment appeared in the rat administered with 3% sodium oxalate and enrofloxacin 50 mg/kg b.w. for 7days. H-E. $\times 200$.

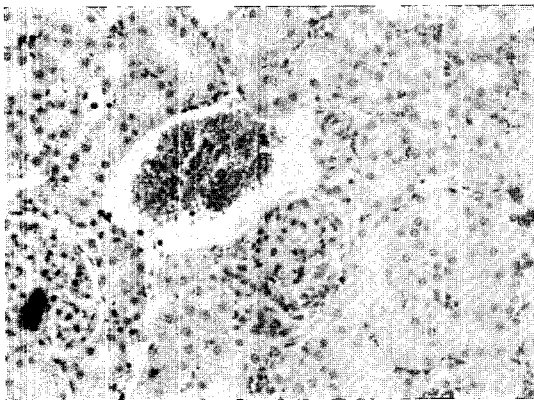


Fig 5. Hemorrhage, necrosis and cyst formation of glomeruli (\uparrow) are seen in the kidney of the rat administered with 3% sodium oxalate and enrofloxacin 100 mg/kg b.w. for 7days. H-E. $\times 200$.

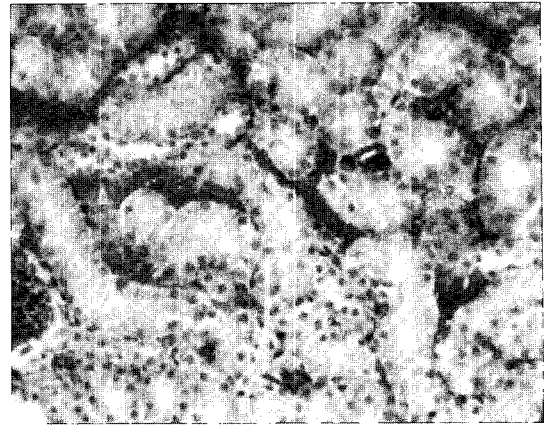


Fig 6. Tubular epithelial vacuolation and necrosis, proteinous cast, and cortical hyperemia and hemorrhage are seen in the kidney of rat administered with 3% sodium oxalate and enrofloxacin 100 mg/kg b.w. for 7days. H-E. $\times 400$.

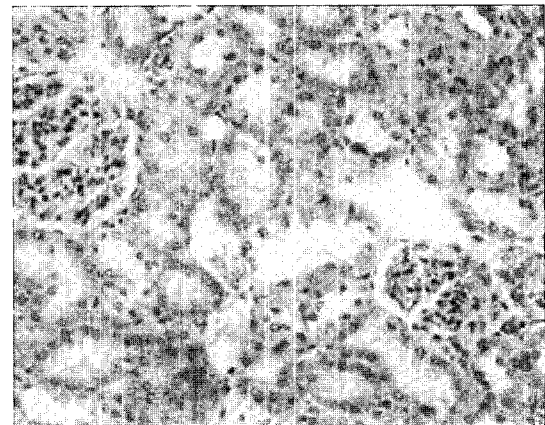


Fig 7. Vacuolation and necrosis of renal tubular epithelia are observed in the rat administered with 3% sodium oxalate and enrofloxacin 100 mg/kg b.w. for 7days. H-E. $\times 200$.

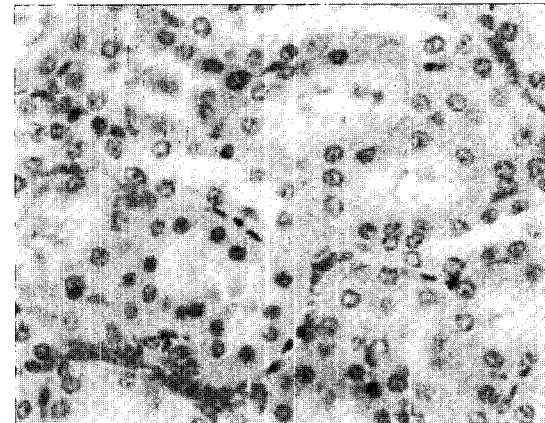


Fig 8. Bluish materials within renal tubule are seen in the rat administered with 3% sodium oxalate and enrofloxacin 100 mg/kg b.w. for 7days. H-E. $\times 400$.

저하였으며, gentamicin과 ethylene glycol 투여 시에 일어날 수 있는 신장의 소견과 일치된다고 본다. 최근 사람에서 결석이 많이 발생되고, 이에 대한 연구가 많아지고 있는 상태에서 hyperoxaluria와 결석모델연구가 활발히 진행되고 있다고 보고^{57,58}되고 있는데, 사람에서도 많이 사용되는 항생제인 ciprofloxacin이 신장질환과 관련된 환자 치료시 주의를 기울일 필요가 있음을 본 연구를 통해서도 알 수 있었으며, enrofloxacin 투여에 의한 랫트도 이와 같은 연구에 결석형성 관련모델로 이용될수 있다고 사료되었다.

Khan 등⁴⁹은 웅성 랫트에서 calcium oxalate crystal과 magnesium ammonium phosphate crystal이 검출된 것을 보고한 바 있으며 본 실험에서도 이와 유사한 결과를 볼 수 있었다. Massey 등⁵⁰은 콩이나 콩을 재료로한 음식물들이 그 영양적인 잇점 때문에 소비가 증가하고 있으나 oxalate의 포함도는 비교적 높은 편이며, 이러한 oxalate가 음식으로부터 흡수되게되면 대사되지 않은 상태로 소변으로 배설되게 되고, 이 과정에서 칼슘을 생성시키는 불용해성의 염에 부착하여 신결석으로 형성되어 침착하게 된다고 했으며, calcium oxalate와 관련된 신장이나 뇨결석의 병력을 가진 사람에게서 그 개별적인 oxalate의 소모가 권장량을 훨씬 증가하고 있어 심각한 문제를 일으키고 있음을 보고했다. Schmiendl 등²¹은 고콜레스테롤과 지방이 풍부한 음식을 급여하여 hyperlipidemia를 유도한 랫트에서 hyperoxaluria와 신장세포에 미세 칼 침착에 의한 신경화증에 대하여 연구하였다. Bernhard⁵¹와 Hess 등⁵²은 과도한 육류 단백질 섭취와 같은 '나쁜' 식사습관들은 hyperoxaluria (mild metabolic hyperoxaluria), hypocitraturia 그리고 hyperuricosuria를 유도하여 결석과 크리스탈형성에 많은 영향을 주고있음을 강조하였다. Nguyen 등⁵³은 고단백식이 신결석 질환을 위한 위협적인 요소로 받아들여지고 있다는 사실과 육류단백질의 섭취가 oxaluria에 영향을 미치고 있는 것은 사실이지만, 건강한 개체와 결석생성개체에서의 병적발생에 대해서는 상호 의견이 대립되고 있다는 사실을 보고했다. 결석 환자가 가급적 섭취량을 줄여야 하는 음식은 수산(水酸)이 많은 시금치, 코코아, 감자, 땅콩, 홍차 등이며 이들은 생체에 hyperoxaluria를 유도할 수 있으며, calcium oxalate 결석유발가능성이 높을 수 있다는 것을 본 실험을 통해서도 알 수 있었으며, 특히 hyperoxaluria에서의 항생제 사용이나 신장질환 치료 시에는 사람이나 동물에서 모두 이러한 사항을 고려해야한다고 사료된다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 수분부족이나 hyperoxaluria가 유도된 상태에서의 enrofloxacin 투여가 신장손상에 영향을 미칠 수 있다는 것을 알 수 있었다. 특히 enrofloxacin은 중증감염상태에서 선택될 수 있는 항생제이기에 노령 환축에 대한 사용에서는 개체의 탈수나 신기능에 유의하여 사용할 필요가 분명히 있다. 이미 aminoglycosides(gentamicin, neomycin 등)계열과 sulfonamide 계열의 항생제는 임상에서 신독성과 신장세포파괴 등의 부작용이 많이 보고되어있어서 신질환 환자에서 사용상 주의를 기울이고 있고^{5,59},

enrofloxacin은 몇 가지의 부작용⁶을 제외하고는 이미 오래 전부터 그 효능에 비하여 부작용이 드물다고 알려져 있으며, 특히 수분부족상태나 hyperoxaluria가 유도된 상태에서의 enrofloxacin의 투여시 신세뇨관이나 사구체의 병리조직학적 변화에 대한 보고는 거의 찾아볼 수 없었다. 따라서 이 연구를 통해 신장의 기능이 좋지 못하거나, 심한 수분부족시, 나아가 환축이 자연적인 탈수나 hyperoxaluria가 유도된 상태라면 enrofloxacin의 과량투여시 신세뇨관이나 사구체의 변성 및 괴사, 결정체나 결석까지도 발생할 수 있는 가능성이 있다는 것을 알아냄으로써 enrofloxacin을 사용시에 주의를 기울여서 오·남용에 의해 발생할 수 있는 신장손상을 막고, 이 항생제를 올바르게 사용함에 있어 참조가 될 수 있을 것으로 사료된다.

결 론

Sodium oxalate를 투여한 웅성랫트에서 enrofloxacin (Baytril[®] Bayer)투여시 신장손상에 미치는 영향을 알아보기 위하여, enrofloxacin을 단기간 혹은 장기간 투여한 후 임상 및 병리조직학적 소견을 추궁하였던 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

음수공급차단으로 수분부족상태를 유발시킨 웅성랫트에서 enrofloxacin 투여용량에 따라 식욕감소 및 절제, 침울, 행동둔화, 소변량의 급격한 감소 등의 임상증상이 심하게 나타났으며, 실험군이 대조군에 비하여 사구체의 충출혈, 신장피질내의 충출혈 및 세뇨관의 공포화와 괴사와 세뇨관내 단백질성 원주출현 등이 enrofloxacin의 투여용량이 증가함에 따라 점차 심하게 나타나는 것으로 간주되었다. Sodium oxalate를 음수와 함께 급여하고 enrofloxacin을 투여시 식욕감소, 음수량 감소 및 행동둔화가 나타났다. 사구체의 충출혈과 괴사 그리고 신장피질내 충출혈, 세뇨관상피의 공포화와 괴사, 단백질성 원주 등 enrofloxacin 투여용량이 증가함에 따라 더욱 심해지는 것이 인정되었다. 실험군의 소변을 원심분리하여 침전된 요침사를 현미경으로 검사한 결과 다수는 calcium oxalate crystal이 검출되었고 일부는 magnesium ammonium phosphate crystal이 검출되었다. Sodium oxalate를 복강내로 투여하여 급성 hyperoxaluria를 유도한 후 enrofloxacin을 투여한 결과 실험의 랫트 일부는 식욕 및 음수량감소, 행동둔화가 나타났다. 과량(500 mg/kg b.w.)의 enrofloxacin 투여시 사구체의 충출혈과 신장 피질내 충출혈, 세뇨관의 공포화와 괴사, 단백질성 원주, 무기질 침착 등의 변화가 더욱 심해지는 것으로 인정되었다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 랫트에서 수분부족이나 hyperoxaluria가 유도된 상태에서 enrofloxacin이 신장의 사구체와 세뇨관을 손상시킬 수 있다는 것을 알 수 있었으며, 본 실험의 결과로 미루어 보아 임상치료 견지에서 탈수상태나 hyperoxaluria 상태의 다른 포유류 등에서도 유사병변을 일으킬 가능성을 배제하지 않을 수 없다고 사료 되었다.

