

카드뮴에 의한 흰쥐의 급성 신독성에서 superoxide dismutase의 활성화 변화

한양대학교 의과대학 산업의학교실, 약리학교실¹⁾, 가톨릭대학교 의과대학 예방의학교실 · 산업의학센터²⁾

이수진 · 고현철¹⁾ · 박정일²⁾

— Abstract —

Changes of Superoxide Dismutase Activity in Cadmium-induced Acute Nephrotoxicity of Rats

Soo-jin Lee, Hyun Chul Koh¹⁾, Chung Yill Park²⁾

*Department of Occupational & Environmental Medicine, Hanyang University College of Medicine,
Department of Pharmacology, Hanyang University College of Medicine¹⁾,
Department of Preventive Medicine, Industrial Medical Center, The Catholic University of Korea²⁾*

Objectives : To investigate the role of superoxide dismutase(SOD) in the pathogenesis of cadmium-induced acute nephrotoxicity.

Methods : Rats treated with a single intraperitoneal injection of cadmium(as CdCl₂, 1 mg/kg) were included in the cadmium-treated group; the control group comprised untreated rats. 24-hour urine samples were obtained prior to sacrifice on days 1, 2, 4, 8 and 16(N = 10 per group), respectively. The activity of SOD and concentration of cadmium were measured in the homogenates of the renal cortex. Nephrotoxicity indices such as N-acetyl-β-D-glucosaminidase(NAG) activity, total protein, and 24-hour urine volume, and the cadmium concentrations in the urine were measured.

Results : The cadmium injection caused a significant increase of cadmium concentration in the renal cortex on days 1 and 2, and in the urine on days 1, 2 and 4. The NAG activities and total protein concentrations in urine were significantly increased on days 1, 2 and 4, and on days 1, 4 and 8, respectively. The peak values of NAG activity and total protein in urine were observed on days 1 and 4, respectively. A significant decrease of 24-hour urinary volume was induced on day 1. Renal SOD activity was significantly inhibited on day 1. Finally, on day 8, SOD activity was significantly increased and all nephrotoxicity indices except urinary total protein returned to the control level.

Conclusions : These results suggest that cadmium induces initial depression of SOD enzyme activities in the renal cortex followed by a later activation, and that the initial depression of this enzyme plays an important role in mediating the proteinuric injury of cadmium-induced acute nephrotoxicity.

Key Words : Cadmium, Nephrotoxicity, N-acetyl-β-D-glucosaminidase, Superoxide dismutase

서 론

카드뮴은 생체조직에서 다양한 독작용을 유발하는 환경 및 산업오염물질의 하나이다. 카드뮴의 독작용 중에서 가장 발현빈도가 높고 민감한 것은 신독성으로, 초기의 저분자량 단백질과 Fanconi씨 증후군을 동반하는 근위 신세뇨관 손상이 특징적이지만, 진행되어 만성 간질성 신병증(chronic interstitial nephropathy)을 보이는 경우도 흔히 있다(Kawada *et al.*, 1989; Goyer & Cherian, 1995).

생체에서의 카드뮴의 독작용 기전은 아직 명확하게 알려져 있지 않지만, DNA 손상과 sulfhydryl의 감소(Sugiyama, 1994; Stohs & Bagchi, 1995; Karmakar *et al.*, 1998), cytochrome P-450의 억제(Klimczak *et al.*, 1984) 및 칼슘 항상성의 변화(Smith *et al.*, 1989) 등이 제시된 바 있으며, 최근에는 산소유리기(free oxygen radical)의 역할에도 관심이 증대되고 있다.

카드뮴에 의한 superoxide anion(O₂⁻)과 과산화수소(H₂O₂)의 증가(Amoruso *et al.*, 1982; Zhong *et al.*, 1990), 항산화 효소계의 변화(Shukla *et al.*, 1987; Gupta *et al.*, 1991; Szymanska & Klita, 1993; Sarkar *et al.*, 1995) 및 지질과산화반응(lipid peroxidation)이 증대되었다는 보고들(Manca *et al.*, 1991; Sarkar *et al.*, 1995)은 카드뮴에 의해 유발되는 생체내 독작용이 세포에서의 산소유리기 증가와 과다한 지질과산화반응이 동반되어 나타나는 결과임을 시사한다고 볼 수 있다.

그러나 위 연구들은 실험에 사용된 카드뮴의 화학적 성분이 서로 다르고, 대부분의 연구가 카드뮴 투여 후 서로 다른 시점에서 1회 관찰한 결과만을 제시하고 있으며 SOD 활성도에 대한 카드뮴의 영향에 대해 상반된 결과 - 억제(Manca *et al.*, 1991; Patra *et al.*, 1999), 증가(Gupta *et al.*, 1991) - 를 제시하고 있어, 카드뮴의 독작용 기전을 산소유리기와 지질과산화반응과 관련지어 이해하기에는 어려움이 있다.

따라서 카드뮴 노출 후 관찰되는 산화적 스트레스 관련 변수들의 변화가 직접적으로 카드뮴의 독작용 특히, 신독성의 발생에 미치는 영향에 관한 결론을 도출하기에는 미흡한 부분이 많아 다양한 형태의 추

가 연구가 필요한 것으로 생각된다.

산화적 스트레스에 의한 생체 독작용 기전이 산소유리기, 항산화 효소, 및 지질과산화반응과 같은 인자들이 상호작용하여 나타나는 일련의 연속반응의 결과라는 측면을 고려하면 위 변수들간의 연관성을 구명하기 위하여 독작용의 결과에 해당하는 변수(신독성 지표)와 산화적 스트레스 관련 변수(SOD 활성도)들을 시간경과에 따라 추적·관찰하여 변화양상을 서로 비교·분석하는 연구모델이 적합하다고 생각된다.

본 연구는 흰쥐를 대상으로 카드뮴(CdCl₂)을 주사한 후, 요중 N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG) 활성도, 총 단백 농도, 24시간 요량 및 카드뮴 농도와 신피질에서 superoxide dismutase (SOD) 활성도 및 카드뮴 농도를 시간경과에 따라 측정하고 변화양상을 비교함으로써, 신독성의 발생과 SOD 활성도의 연관성을 밝혀, 궁극적으로 카드뮴에 의한 신독성에서 산화적 스트레스의 역할을 구명하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 실험대상

체중 220±20 g의 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley)를 실험 일주일 전부터 상업용 배합사료로 약 18 ℃가 유지되는 동물실에서 사육한 후 외견상 건강한 개체만을 실험대상으로 하였다. 동물실에서 사육하는 동안 사료와 물은 제한없이 공급하였다. 카드뮴 주사군은 0.15 M 생리식염수로 0.25 mg/ml 농도로 녹인 CdCl₂를 1 mg/kg 용량으로 1회 복강내 주사하였으며, 대조군에게도 동일 용량의 0.15 M 생리식염수를 같은 방법으로 주사하였다. 각 군당 동물 수는 10마리였다.

2. 시료채취 및 분석

1) 시료전처리

동물을 단두도살, 개복한 후, 연동펌프를 이용하여 phosphate buffered saline(pH 7.4)을 복부동맥을 통해 좌측 신장 내로 관류한 후, 신장을 떼어내고, 신피질 250 mg을 취하여 potassium phosphate buffer(pH 7.4, 4 ℃) 5 ml와 섞은 뒤 균질화하였다. 이를 초음파 처리한 후, 4 ℃, 20,000 G

에서 30분간 원심분리한 상층액을 취하여 신피질내 카드뮴 농도와 SOD 활성도 측정에 사용하였다. 또한, metabolism cage를 이용하여 실험 전일 24시간 요를 수집하여 24시간 요량, 요중 카드뮴 농도, 총 단백 농도와 NAG 활성도 측정에 사용하였다.

2) 신피질 및 요중 카드뮴 농도 측정

신피질 카드뮴 농도는 조직액 3 ml와 13.3 M 질산 3 ml를 섞은 뒤, microwave(Q45 Enviroprep, Questron Co., Princeton, NJ, U.S.A.)로 용해시킨 후, 원자흡수분광광도계(PE3300, Perkin Elmer, Norwalk, CT, U.S.A.)를 이용하여 불꽃방법(flame method)으로 분석하였다. 요중 카드뮴 농도는 24시간 요 0.1 ml를 매질개선제(0.095 M(NH₄)₂HPO₄, 0.5 % Triton X-100) 0.9 ml와 섞은 다음 graphite furnace에 10 µl 주입하여 분석하였다(Ong *et al.*, 1990).

3) 신피질내 SOD 활성도 측정

SOD 활성도는 Marklund와 Marklund(1974)의 pyrogallol auto-oxidation 방법으로 정량하였으며, 소의 신장에서 추출한 SOD를 표준시료로 사용하였다. 50 mM Tris-acetate buffer(pH 8.24)에 1 mM DTPA를 첨가하고, 1시간 동안 bubbling 한 후, 이 완충액 9.8 ml에 시료 100 µl와 30분간 음압펌프로 산소를 제거시킨 pyrogallol 용액 100 µl를 넣고 10초간 교반시킨 후, 420 nm 파장에서 분광광도계로 흡광도를 측정하였다.

4) 요중 NAG 활성도 및 총 단백 농도 측정

Horak 들(1981)의 방법에 따라 기질은 p-nitro-zophenyl-N-acetyl-β-D-glucosamide를 사용하여 요중 NAG 활성도를 측정하였다. 0.25 ml의 요에 0.1 M citrate buffer(pH 4.4) 0.25 ml를 섞은 후, 기질액 0.5 ml를 첨가하고 37 °C 항온조에서 30분간 반응시킨 다음, 410 nm에서 분광광도계로 흡광도를 측정하였다.

신피질과 요중 총 단백 농도는 bovine serum albumin을 표준으로 하여, Lowry 들(1951)의 방법으로 측정하였으며, 요중 총 단백 농도는 creatinine 농도로 보정하였다. 요중 creatinine의 농도는 Jaffe반응을 이용한 Folin-Wu 방법(Bonnes & Taussky, 1945)으로 측정하였다.

3. 통계 분석

모든 실험성적은 평균±표준오차로 표시하였다. Kolmogorov-Smirnov 검정을 사용하여 자료들의 정규성을 확인하였으며, 각 군별 측정항목들에 대해 분산분석(ANOVA)과 LSD(least significant difference) 다중비교법을 통하여 대조군과 카드뮴 주사군들 간의 유의성을 검정하였다. 모든 통계분석은 SPSS(ver 7.5) 프로그램을 사용하였으며 검정에 대한 유의수준은 5 %로 설정하였다.

결 과

1. 신피질과 요중 카드뮴 농도

신피질의 카드뮴 농도는 1일과 2일에 23.73±

Table 1. Cadmium concentration in renal cortex and urine after injection of cadmium

Day after CdCl ₂ injection	Concentration of cadmium	
	Renal cortex(µg/g protein)	Urine(µg/g creatinine)
Control	5.21±1.35	14.77± 6.86
1	23.73±7.58*	131.42±67.77*
2	13.59±3.81*	103.17±47.83*
4	8.93±2.69	88.77±39.90*
8	8.12±4.09	40.79±23.11
16	6.02±3.08	36.55±14.47

Rats were injected intraperitoneally with a single dose of CdCl₂, 1 mg/kg for Cd-injected groups and with normal saline for control group. Cd-injected groups were sacrificed at 1, 2, 4, 8, and 16 days after injection. Values are mean±SE(n=10). *p<0.01 compared with the control.

7.58 및 $13.59 \pm 3.81 \mu\text{g/g protein}$ 로서 대조군에 비해 각각, 460 %, 260 %로 통계학적으로 유의하게 증가되었으나($p < 0.01$), 4일부터 서서히 감소하여 대조군과 차이가 없었다. 요중 카드뮴 농도는 1일, 2일 및 4일에 131.42 ± 67.77 , 103.17 ± 47.83 및 $88.77 \pm 39.9 \mu\text{g/g creatinine}$ 로서 대조군에 비해

각각, 890 %, 700 %, 590 %로 통계학적으로 유의하게 증가되었으나($p < 0.01$), 8일부터 감소하여 8일과 16일은 대조군과 차이가 없었다(Table 1).

2. 요중 NAG 활성도, 총 단백 농도 및 요량

카드뮴 신독성의 지표로서 요중 NAG 활성도, 총

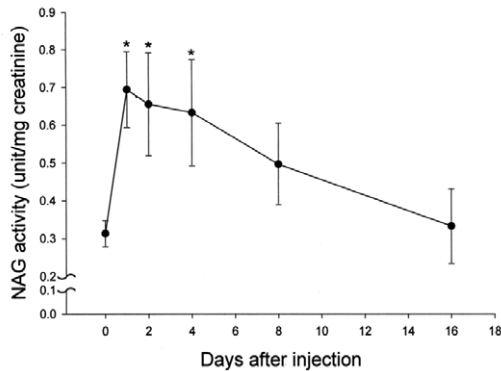


Fig. 1. Changes in urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase(NAG) activity after injection of cadmium. NAG activity was measured in the 24-hour urine of each animal and corrected by urinary creatinine concentration. Values are mean \pm SE(n=10). * $p < 0.05$ compared with the control.

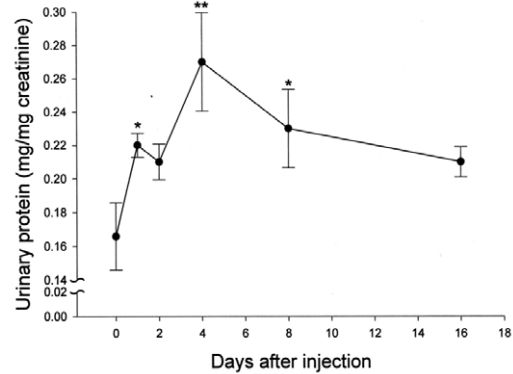


Fig. 2. Changes in concentration of urinary total protein after injection of cadmium. Urinary total protein was measured in the 24-hour urine of each animal and corrected by urinary creatinine concentration. Values are mean \pm SE(n=10). * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ compared with the control

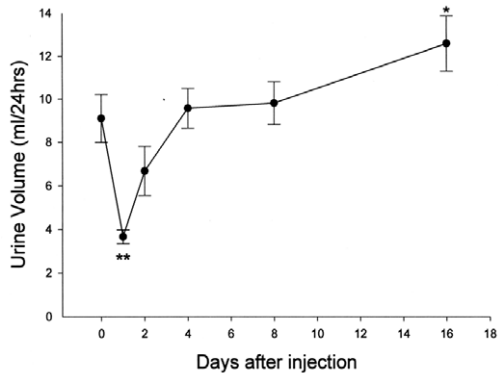


Fig. 3. Changes in urine volume after injection of cadmium. Urine was collected for 24 hours in each animal. Values are mean \pm SE(n=10). * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ compared with the control.

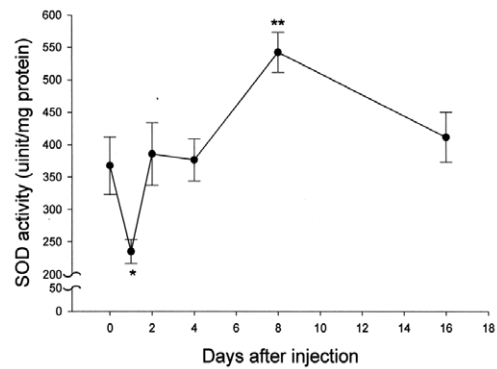


Fig. 4. Changes in superoxide dismutase(SOD) activity in renal cortex after injection of cadmium. SOD activity was measured in renal cortex and corrected by protein concentration. Values are mean \pm SE(n=10). * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ compared with the control.

단백 농도 및 24시간 요량을 측정하였다. NAG 활성도는 1일, 2일 및 4일에 0.69 ± 0.10 , 0.66 ± 0.14 및 0.63 ± 0.14 unit/mg creatinine 로서 대조군에 비해 각각, 220 %, 210 %, 200 %로 통계학적으로 유의하게 증가하였으나($p < 0.05$), 8일부터 서서히 감소하여 대조군의 수준까지 회복되었다(Fig. 1). 총 단백 농도는 1일, 4일 및 8일에 0.22 ± 0.01 , 0.27 ± 0.03 및 0.23 ± 0.02 mg/mg creatinine 로서 대조군에 비해 각각, 130 %, 160 %, 140 %로 통계학적으로 유의하게 증가하였지만(각각, $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.05$), 2일과 16일에는 대조군과 차이가 없었다(Fig. 2). 본 실험결과에서 NAG 활성도의 증가가 총 단백 농도의 증가보다 조기에 나타나는 양상이었으며 증가비율도 높았다. 24시간 요량은 1일에 3.66 ± 0.32 ml/24 hrs 로서 대조군의 40 %로 통계학적으로 유의하게 감소하였으며($p < 0.01$), 16일에는 12.59 ± 1.29 ml/24 hrs 로서 대조군에 비해 140 %로 통계학적으로 유의하게 증가되었다($p < 0.05$), (Fig. 3).

3. 신피질내 SOD 활성도

신피질에서 측정된 SOD 활성도는 1일에 235.11 ± 18.50 unit/mg protein 로서 대조군의 64 %로 통계학적으로 유의하게 감소하였다($p < 0.05$), 2일과 4일에는 대조군 수준으로 회복된 후, 8일에는 542.40 ± 30.96 unit/mg protein 로서 대조군에 비해 150 %로 통계학적으로 유의하게 증가되었으며($p < 0.01$), 16일에는 다시 대조군 수준으로 감소하였다(Fig. 4).

고 찰

카드뮴 신독성의 가장 중요한 특징은 단백뇨이다. 초기에는 근위 신세뇨관 세포의 손상과 재흡수 장애로 인하여 β_2 -microglobulin, retinol-binding protein과 같은 저분자량 단백질이 특징적으로 나타나지만 더욱 진행된 경우에는 사구체 손상이 동반되어 albumin과 transferrin 같은 고분자량 단백질도 함께 배설되는 혼합형 단백뇨(mixed-type proteinuria)를 보인다. 따라서 저분자량 단백질은 카드뮴 신독성을 조기에 파악할 수 있는 민감한 생물학적 지표(biological marker)로 널리 사용되고 있다. 또

한, NAG는 근위 신세뇨관 세포에 고농도로 분포하는 lysosomal enzyme으로서 분자량(120,000 dalton)이 커서 사구체를 통과하지 못하므로 주로 근위 신세뇨관 세포에 특이적으로 작용하는 독성물질들의 감시와 연구에 적합하며, 카드뮴에 의한 신손상에서 요중 배설량이 매우 민감하게 증가하는 것으로 알려져 있다(Chan & Rennert, 1981; Kawada *et al.*, 1989; Goyer & Cherian, 1995).

본 실험에서 요중 NAG 활성도는 카드뮴 주사 후 1일, 2일 및 4일에, 총 단백 농도는 1일, 4일 및 8일에 대조군에 비해 통계학적으로 유의하게 증가되어 카드뮴에 의한 신독성이 급성으로 발생되었음을 알 수 있다. 요중 총 단백 농도는 4일에 최고치를 보였지만, NAG 활성도의 증가는 1일에 최고치를 보여 카드뮴 신독성의 초기에는 요중 NAG 활성도가 총 단백 농도에 비해 보다 조기에 증가하였다. 24시간 요량은 1일에 대조군의 40 %로 감소하였으나 이 후 서서히 증가하다가 16일에는 오히려 140 %로 증가되는 양상을 보였다. 카드뮴 신독성에서 다뇨증은 흔히 관찰되는 결과 중의 하나로서 근위 신세뇨관의 재흡수 장애에 의한 것으로 추정하고 있다(Chan & Rennert, 1981; Squibb *et al.*, 1984). 한편, Nordberg 등(1975)은 1.5 mg/kg 용량의 cadmium-metallothionein을 주사한 생쥐에서 24~48 시간 사이에 심한 핏뇨증을 관찰하여 본 연구와 일치한 결과를 얻었다. 그들은 관찰된 핏뇨증이 카드뮴에 의한 사구체의 여과 장애에 기인하며 실험동물의 40 %가 4일째 사망한 원인은 신부전에 의한 것으로 설명하였다.

카드뮴 주사 후, 카드뮴 농도는 신피질에서 1일과 2일에, 요에서 1일, 2일 및 4일에 통계학적으로 유의하게 증가하였으며, 이것은 Sugihira 등(1987)의 결과와 잘 일치한다. 이들은 신손상 지표들의 변화에 비해 선행되거나 거의 동시에 증가되는 양상이었다. 본 실험에서 관찰된 요중 카드뮴 배설은 손상된 신피질 세포로부터 유리되었거나 근위 신세뇨관의 손상에 의한 재흡수 장애 또는 이들이 동시에 작용하여 나타나는 결과로 추측할 수 있다. 따라서 급성 카드뮴 노출 후 신피질과 요중 카드뮴 농도의 증가는 노출의 유무와 강도 등에 대한 정보를 제공할 뿐 아니라 신독성의 예측 지표로서의 의미도 가진다고 생각된다.

카드뮴에 의한 세포독성 기전의 하나인 산소유리기 역할론은 카드뮴 노출이 세포에서 산소유리기의 농도를 증가시키고 증가된 산소유리기는 항산화계(antioxidant system)의 제거 한계를 초과하였을 때 과도한 지질과산화반응이 초래되어 세포의 구조적 손상, 기능적 장애 및 괴사로 진행된다고 요약된다(Maestro, 1980).

카드뮴에 의한 세포 손상은 카드뮴이 직접적으로 산소유리기 생성을 증가시킴으로서 나타나거나, 산소유리기의 제거를 담당하는 항산화계가 억제되므로써 간접적으로 세포내 산소유리기의 농도가 증가되어 유발될 수 있을 것이다. 전자의 경우는 Amoruso 들(1982)과 Zhong 들(1990)이 주장한 가설과 일치한다. 이들은 카드뮴의 산소유리기 생성 능력에 관한 시험관내 실험을 통해 카드뮴이 각각, superoxide anion(O₂⁻)과 과산화수소를 생성시킨다고 하였다. 그러나 후자의 가설을 주장한 Ochi 들(1987)은 정상적인 생리조건에서 CdCl₂ 형태의 카드뮴은 전자를 수용하거나 제공할 능력이 없기 때문에 직접적으로 산소유리기를 생성할 수 없으며 카드뮴에 의한 세포내 산소유리기 농도의 증가는 항산화계의 억제에 기인하는 간접적인 결과라고 하였다.

본 실험에서는 카드뮴 주사 후 1일에 SOD 활성도가 대조군의 64 % 수준까지 통계학적으로 유의하게 억제되었으며, 이는 다양한 조직과 세포를 대상으로 시행된 다수의 시험관내 및 동물실험들과도 동일한 결과를 나타내었다(Jamall & Smith, 1985; Manca *et al.*, 1991; Shukla *et al.*, 1987; Stajin *et al.*, 1997). SOD 활성도가 1일에 현저히 억제된 반면, 요중 NAG 활성도는 최고치를 보였고 24시간 요량이 급격히 감소한 점으로 보아 카드뮴 신독성의 병리기전에서 SOD 활성도가 억제되는 과정이 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다. 즉, 카드뮴이 SOD 활성을 억제하고 그로 인한 산소유리기(O₂⁻) 농도의 증가가 신독성의 발생에 결정적인 역할을 하였을 것으로 생각된다.

한편, 설치류에서 SOD는 세포질내에 존재하는 Cu-Zn SOD와 미토콘드리아내에 존재하는 Mn SOD의 2 가지 종류가 있는 것으로 알려져 있으며(Fridovich, 1978). 이 중 Cu-Zn SOD가 시험관내에서 카드뮴에 노출되면 아연이 카드뮴으로 대체되어 효소의 활성도가 억제 또는 상실된다는 보고들(Bjerrum *et al.*,

1991; Kofod *et al.*, 1991)을 통해 이 연구에서 관찰된 SOD 활성도 억제 현상이 설명된다.

SOD 활성도에 대한 카드뮴의 영향과 관련하여, Koizumi와 Li(1992)는 30 μmol/kg 용량의 CdCl₂를 1회 복강내 주사한 쥐의 고환에서 12시간 후 1회 관찰한 결과, 다른 항산화 효소들의 활성도는 변화하였으나 SOD 활성도는 변화가 없다고 하였고, Jamall과 Smith(1985)가 CdCl₂를 200 ppm 농도로 30일간 물과 함께 투여하면서 28일째부터 7일간 5 mg/kg 용량을 매일 피하주사 한 쥐의 심조직에서 7주 후 1회 관찰한 연구, Shukla 들(1987)이 0.4 mg/kg 용량의 Cd-acetate를 30일간 매일 복강내 주사한 후 31일째 쥐의 뇌조직을 1회 관찰한 연구, Manca 들(1991)이 0.5 mg/kg 용량의 CdCl₂를 1시간 간격으로 2회 복강내 주사한 쥐의 간과 신조직을 2~72시간 동안 관찰한 연구 및 Patra 들(1999)이 0.5 mg/kg 용량의 카드뮴을 3개월간 매일 복강내 주사한 쥐의 간, 신 및 고환조직을 관찰한 연구들에서 SOD 활성도가 억제된다고 하였고, Gupta 들(1991)이 3 mg/kg 용량의 CdCl₂를 1회 복강내 주사한 쥐의 간조직을 72시간 후 1회 관찰한 연구에서는 SOD 활성도가 증가된다고 하였다. 위에 기술된 연구들은 카드뮴 투여 후 생체내 여러 조직에서 SOD 활성도를 관찰하였으나 서로 상반된 결과를 보여주었으나 단 1회 관찰한 면에서는 공통점이 있었다.

한편, 본 연구의 실험모형처럼 카드뮴 투여 후 시간경과별로 SOD 활성도를 반복측정한 사례는 Sarkar 들(1995)의 연구에서만 찾을 수 있었는데, 이들은 0.4 mg/kg 용량의 CdCl₂를 1회 복강내 주사한 쥐의 간과 신조직에서 72시간 동안의 반복관찰에서 본 연구와 일치하는 양상-카드뮴 주사 후 관찰시점에 따라 상반된 결과(즉, 초기의 억제, 후기의 증가)-을 보였다. 즉, 6시간 이내에서는 SOD 활성도가 억제되었고 24시간 후에는 증가되는 양상이었다.

SOD 활성도에 대해 연구마다 상반된 결과를 보이는 이유를 명확히 설명할 수는 없지만, 사용된 카드뮴의 용량, 투여방법, 실험동물, 동물의 체중 및 측정시기 등이 영향을 미칠 수 있을 것으로 생각된다. 특히, 본 연구에서 카드뮴 노출 후 비교적 단기간내에 SOD 활성도가 억제와 증가의 상반된 양상을 동시에 보임으로써 카드뮴 노출 후 측정시점이 매우 중요한 결정인자임을 시사하고 있다.

본 실험에서 카드뮴 주사 후, 1일에는 신독성을 나타내는 지표들인 요중 NAG 활성도, 총 단백 농도 및 24시간 요량의 변화에 비해 신피질내 SOD 활성도가 시간적으로 선행되거나 거의 동시에 통계학적으로 유의하게 억제되었고, 8일에는 오히려 통계학적으로 유의하게 증가됨과 동시에 신독성 지표들도 회복되는 양상을 보임으로서, SOD 활성도의 변화와 신독성 지표들의 변화간에 밀접한 연관성이 있음을 보여주었다. 이를 통해 초기의 SOD 활성도 억제는 세포내 O₂⁻ 증가를 유발함으로써 과다한 산화적 스트레스로 인한 신독성으로 이어지고, 반동현상(rebound phenomenon)으로 SOD 합성이 증가되어 더 이상의 독작용으로부터 세포를 보호하였던 것으로 추측해 볼 수 있다. 그리고 신피질과 요중 카드뮴 농도도 8일째에 대조군과 비슷한 수준까지 회복되었음을 고려하면, 카드뮴 주사 후 카드뮴이 신장을 통해 요로 다량 배설되어 급성 신독성의 호전과정에 기여하였을 것으로 생각된다.

요 약

목적 : 카드뮴에 의한 급성 신독성의 병리기전에서 SOD의 역할을 구명하고자 본 연구를 실시하였다.

방법 : 1 mg/kg 용량의 CdCl₂를 쥐의 복강내에 1회 주사한 후 1일, 2일, 4일, 8일 및 16일째에 신피질에서 SOD 활성도와 카드뮴 농도를 측정하였다. 그리고 신독성의 지표로서 요중 NAG 활성도, 총 단백 농도, 24시간 요량 및 카드뮴 농도를 분석·비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

결과 : 카드뮴 농도는 신피질에서 1일과 2일에, 요에서 1일, 2일, 4일에 통계학적으로 유의하게 증가되었고, 요중 NAG 활성도는 1일, 2일, 4일, 총 단백 농도는 1일, 4일, 8일에 유의하게 증가되었다. NAG 활성도와 총 단백 농도의 최고치는 각각, 1일과 4일에 관찰되었다. 24시간 요량은 1일에 통계학적으로 유의하게 감소하였다. 요중 NAG 활성도의 변화가 요중 총 단백 농도의 변화에 비해 조기에 나타나고 변화율도 컸다. SOD 활성도는 1일에 통계학적으로 유의하게 억제되었고, 8일에는 유의하게 증가된 반면, 요중 총 단백을 제외한 신독성 지표들은 대조군과 비슷한 수준까지 회복되었다.

결론 : 본 연구 결과는 카드뮴이 신피질의 SOD

활성도를 초기에는 억제하고 후기에는 오히려 증가시키며 특히, 초기 SOD 활성도의 억제가 카드뮴에 의한 급성 신독성의 병리기전에서 상당한 역할을 한다는 것을 시사한다.

참고문헌

- Amoruso MA, Witz G, Goldstein BD. Enhancement of rat and human phagocyte superoxide anion radical production by cadmium *in vitro*. *Toxicol Lett* 1982;10:133-138.
- Bjerrum MJ, Bauer R, Danielsen E, Kofod P. The Zn-site in bovine copper, zinc superoxide dismutase studied by ¹¹¹Cd PAC. *Free Radic Res Commun* 1991;12-13:297-303.
- Bonnes RW, Taussky MH. On the colorimetric determination of creatinine by the Jaffe reaction. *J Biol Chem* 1945;158:581-591.
- Chan WY, Rennert OM. Cadmium nephropathy. *Ann Clin Lab Sci* 1981;11(3):229-238.
- Fridovich I. The biology of oxygen radicals. The superoxide radical is an agent of oxygen toxicity: superoxide dismutase provide an important defense. *Science* 1978;201:875-880.
- Goyer RA and Cherian MG. Renal effects of metals. In : Goyer RA, Klaassen CD, Waalkes, editors. *Metal toxicology*. London : Academic Press, 1995:389-412.
- Gupta S, Athar M, Behari JR, Srivastava RC. Cadmium-mediated induction of cellular defence mechanism : a novel example for the development of adaptive response against a toxicant. *Industrial Health* 1991;29:1-9.
- Horak E, Hopfer SM, Sunderman FW. Spectrophotometric assay for urinary N-acetyl-β-D-glucosaminidase activity. *Clin Chem* 1981;27: 1180-1185.
- Jamall IS, Smith JC. Effects of cadmium on glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and lipid peroxidation in the rat heart: a possible mechanism of cadmium cardiotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985;80:33-42.
- Karmakar R, Banik S, Bandyopadhyay S, Chatterjee M. Cadmium-induced alteration of hepatic lipid peroxidation, glutathione S-transferase activity and reduced glutathione level and their possible correlation with chromosomal alteration in mice : a time course study. *Mutat*

- Res 1998;397(2):183-190.
- Kawada T, Koyama H, Suzuki S. Cadmium, NAG activity, and β_2 -microglobulin in the urine of cadmium pigment workers. *Br J Ind Med* 1989;46:52-55.
- Klimczak J, Wisnieeska-Knypl JM, Kolakowski J. Stimulation of lipid peroxidation and heme oxygenase activity with inhibition of cytochrome p-450 monooxygenase in the liver of rats repeatedly exposed to cadmium. *Toxicology* 1984;32:267-276.
- Kofod P, Bauer R, Danielsen E, Larsen E, Bjerrum ML. ^{113}Cd -NMR investigation of a cadmium-substituted copper, zinc-containing superoxide dismutase from yeast. *Eur J Biochem* 1991;198:607-611.
- Koizumi T, Li ZG. Role of oxidative stress in single-dose, cadmium-induced testicular cancer. *J Toxicol Environ Health* 1992;37:25-36.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-275.
- Maestro RFD. A approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol scand(Suppl)* 1980;492:153-168.
- Manca D, Ricard A, Trottier B, Chevalier G. Studies on lipid peroxidation in rat tissues following administration of low and moderate doses of cadmium chloride. *Toxicology* 1991;67:303-323.
- Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 1974 ; 47 : 469-474.
- Nordberg GF, Goyer R, Nordberg M. Comparative toxicology of cadmium-metallothionein and cadmium chloride on mouse kidney. *Arch Pathol* 1975;99:192-197.
- Ochi T, Takahashi K, Ohsawa M. Indirect evidence for the induction of a prooxidant state by cadmium chloride in cultured mammalian cells and a possible mechanism for the induction. *Mutat Res* 1987;180:257-266.
- Ong CN, Chua LH, Lee BL, Ong HY, Chia KS. Electrothermal atomic absorption spectrophotometric determination of cadmium and nickel in urine. *J Analytical Toxicology* 1990;14:29-33.
- Patra RC, Swarup D, Senapati SK. Effects of cadmium on lipid peroxides and superoxide dismutase in hepatic, renal and testicular tissue of rat. *Vet Hum Toxicol* 1999 Apr;41(2):65-67.
- Sarkar S, Yadav P, Bansal AK, Bhatnagar D. Cadmium-induced lipid peroxidation and the status of the antioxidant system in rat tissues. *J Trace Elements Med Biol* 1995;9:144-149.
- Shukla GS, Hussain T, Chandra SV. Possible role of regional superoxide dismutase activity and lipid peroxide levels in cadmium neurotoxicity : in vivo and in vitro studies in growing rats. *Life Sci* 1987;41(19):2215-2221.
- Smith JB, Dwyer SD, Smith L. Cadmium evoked inositol polyphosphate formation and calcium mobilization. *J Biol Chem* 1989;264:7115-8.
- Squibb KS, Pritchard JB, Fowler BA. Cadmium-Metallothionein nephropathy: relationships between ultrastructural/biochemical alterations and intracellular cadmium binding. *J Pharmacol Exp Therapeutics* 1984;229(1):311-321.
- Stajn A, Zikic RV, Ognjanovic B. Effect of cadmium and selenium on the antioxidant defense system in rat kidneys. *Comp Biochem Physiol* 1997;117C(2):167-172.
- Stohs SJ, Bagchi D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Rad Biol Med* 1995;16:321-336.
- Sugihira N, Sakai M, Suzuki KT. Renal damage induced by cadmium-metallothionein: effects on biochemical indications. *Toxicology* 1987;44:1-11.
- Sugiyama M. Role of cellular antioxidants in metal-induced damage. *Cell Biol Toxicol* 1994;10:1-22.
- Szymanska E, Klita TL. Effect of cadmium(CdCl_2) on lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes. *Acta Biochimica Polonica* 1993;40(1):144-146.
- Zhong Z, Troll W, Koenig KL, Frenkel K. Carcinogenic sulfide salts of nickel and cadmium induce H_2O_2 formation by human polymorphonuclear leukocytes. *Cancer Research* 1990;50:7564-7570.