

엽산유도 백서 신병증의 조직학적 효소조직화학적 및 전자현미경적 연구

전북대학교 및 전남대학교* 의과대학 병리학교실

강 명 재 · 문 우 성 · 이 동 근
최 호 열 · 김 상 호 · 조 규 혁*

Histological, Enzyme Histochemical, and Electron Microscopic Studies of the Rat Kidney Following Administration of Folic Acid

Myoung Jae Kang, M.D., Woo Sung Moon, M.D., Dong Geun Lee, M.D.
Ho Yeul Choi, M.D., Sang Ho Kim, M.D. and Kyu Hyuk Cho, M.D.*

Department of Pathology, Chonbuk and Chonnam* National University College of Medicine

To investigate the morphologic evidence of acute renal failure by folate, histological, histochemical (PAS), enzyme histochemical (Na-K-ATPase, G6PD, and ALP), and ultrastructural studies were performed.

The results are as follows:

- 1) Oliguria was most severe 3 hours after folate and the urine volume was 24.8% that of the control group.
- 2) Histologically, dilatation of tubules, degeneration and focal necrosis of the cortical tubules, and PAS(+) droplets in the tubular lumen were noted. And also frequent mitoses, mild interstitial connective tissue proliferation, and neutrophilic infiltrates were observed in the late stage.
- 3) On enzyme histochemical examination, the activities of Na-K-ATPase and ALP were decreased, but G6PD activity was increased in comparison with the control group.
- 4) The ultrastructural studies revealed cytoplasmic vacuoles, apical cytoplasmic blebbing, dense bodies, mildly swollen mitochondria, dilated endoplasmic reticulum, loss of brush border of the proximal tubules, and loss of microvilli of the thin limb of Henle's loop. Later, marked attenuation or loss of infoldings of basal plasma membrane of the cortical tubules was recognized.

According to above results, the cause of acute renal failure by folate is thought to be the injuries of tubular epithelial cells including sodium pump secondary to tubular obstruction. (**Korean J Pathol 1994; 28 : 449~459**)

Key Words: Folic acid, Rat, Nephropathy, Enzyme histochemistry, Ultrastructure

서 론

수용성 비타민의 일종인 엽산(pteroylmonogluta-

mic acid)은 pteridine, p-aminobenzoic acid 및 glutamic acid로 구성되는 화합물로서 녹색식물과 세균에 의하여 합성되며, 이의 섭취가 불충분하거나 항암제인 methotrexate와 같은 엽산 길항제를 투여하였을 경우 거대적아구성 빈혈을 유발하거나 위장관 점막 또는 배아(embryo)와 같이 DNA합성 및 세포 전환이 빠른 조직에 손상을 초래하게 된다.

Taylor등¹⁾은 DNA합성에 중요한 역할을 하는 엽

접 수: 1994년 3월 10일, 게재승인: 1994년 5월 25일
주 소: 전주시 덕진구 금암동 산 2-20, 우편번호 560-182
전북대학교 의과대학 병리학교실, 강명재

산을 백서에 투여하여 신장의 비대가 유발됨을 관찰하였는데, 이들은 신장의 현저한 증대에도 불구하고 신장에 병소가 없거나 경미한 구조적 변화를 보여 이를 화학적으로 유도된 신장의 비대라 하였다. 또한 염산을 실험동물에 투여시 급성 신부전을 초래하는데, 염산투여에 의한 실험동물의 희생이 거의 없고 급성 신부전의 재현성이 높기 때문에 이를 이용한 신병증에 대한 연구가 많이 이루어졌으나, 대부분 동량의 염산을 투여하였음에도 불구하고 형태학적으로는 전혀 변화가 없거나 경미한 경우^{1,2)}부터 중등도의 변화를 보이는 경우^{3,4)}, 또 괴사를 보이는 경우^{5,6)}까지 다양한 결과를 보임에 따라 염산에 의한 급성 신부전의 기전에 대해서도 연구자들 사이에 상이한 의견을 보였다.

이에 저자는 백서에 염산투여시 초래되는 급성신부전의 기전을 형태학적으로 증명하고 통상의 신독성 물질에 의한 경우와의 형태학적 차이를 추구하고자 본 연구를 시도하였다.

재료 및 방법

실험동물은 일정 기간 동일 조건하에서 사육한 체중 150~200 gm의 Wistar계 백서를 암수 구별없이 사용하였다. 실험동물은 실험군(40마리)과 대조군(5마리)으로 구분하였으며, 실험군은 염산 투여 후 관찰 시간에 따라 8군으로 세분하였다. 실험군에 투여한 염산(Pteroylmonoglutamic acid, Sigma)은 0.3N sodium bicarbonate 1 ml당 50 mg가 되도록 용해시키고, 실험동물의 체중 Kg당 250 mg의 염산을 에텔마취하에서 백서 꼬리의 측부정맥을 통하여 단회 투여하였으며, 대조군에는 동량의 0.3N sodium bicarbonate만을 단회 투여하였다.

염산 투여 후 대조군 5마리와 실험군중 5마리를 택

하여 1마리씩 metabolic cage에 넣어 3, 6, 24, 48 시간 간격으로 배뇨량을 측정하였고, 실험군은 염산 투여 후 30분, 1, 3, 6, 12, 24, 48, 96시간에 각각 5마리씩을 희생시켜 신장을 적출하여 육안적 및 조직학적 검사를 하였으며, 대조군은 뇨량을 측정한 48시간 후에 희생시켜 관찰하였다. 적출한 신장은 즉시 중량을 측정하고 신장표면과 절단면을 육안적으로 관찰한 후 일부는 동결절편을 만들어 H&E염색과 효소조직화학적 염색을 시행하고, 일부는 통상 방법으로 파라핀 절편을 만들어 H&E염색과 PAS염색을 실시하여 광학현미경적 관찰을 하였다. 효소조직화학적 검사는 염산 투여 후 24시간군과 48시간군에 대해서 시행하였는데, 염산에 의한 급성 신부전과 밀접한 관계가 있을 것으로 생각되며 나트륨 펌프의 역할을 하는 Na-K-ATPase의 활성도를 보기 위하여 Guth and Albers 방법⁷⁾으로 염색을 시행하였으며, 그 외에 glucose-6-phosphate dehydrogenase(G-6-PD)염색⁸⁾과 alkaline phosphatase(ALP) 염색⁹⁾을 시행하였다.

전자현미경적 검사는 신장의 피질과 수질에서 각각 약 1 mm³ 크기의 세편을 여러개 만들어 2.5% glutaraldehyde(pH 7.4) 용액에 실온에서 2시간 전 고정시킨 후, 0.5% sucrose가 포함된 0.05M cacodylate 완충액으로 2시간동안 세척하고, 2% OsO₄와 0.1 M cacodylate 완충액을 동량 혼합한 용액으로 후고정시킨 후, 계열 에칠알콜로 탈수과정을 거친 뒤 Epon 812로 포매하였다. 포매조직은 초박절편기(LKB, Model 2188-050)로 1 μm 두께의 절편을 만들어, 1% toluidine blue로 염색하여 광학현미경으로 적정 부위를 확인한 후, 다시 초박절편을 제작하여 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색을 한 후, 투과전자현미경(JEM 1200, E XII)으로 관찰하였다.

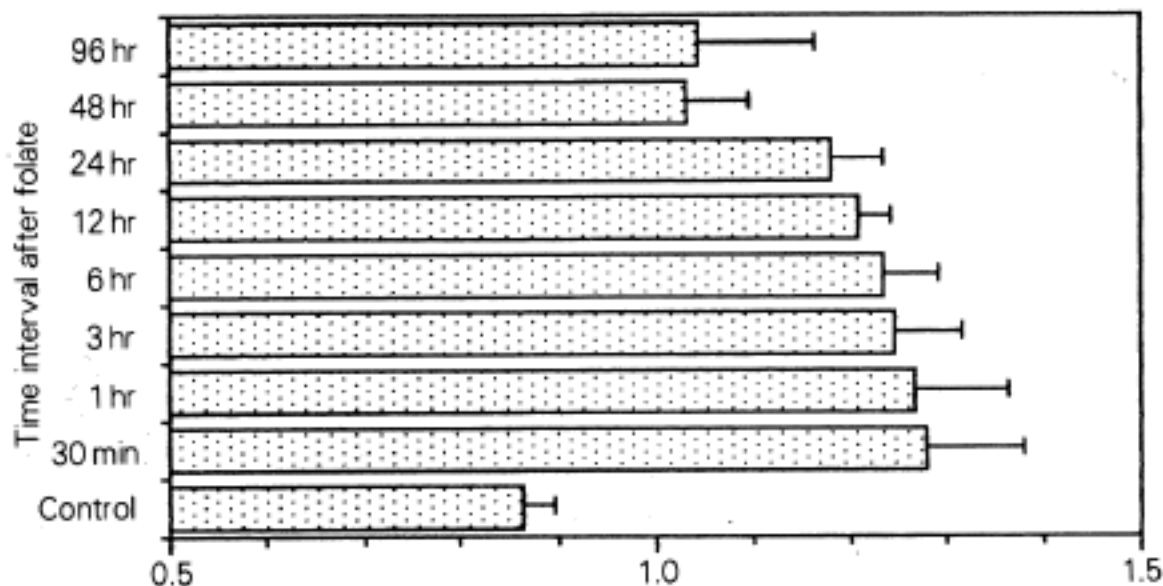


Fig. 1. The ratio of kidney to body weight(%).

성 적

1. 체중에 대한 신장 중량비의 변화

실험동물은 모두 양측 신장을 절제하여 즉시 제축하였으며, 체중에 대한 신장의 중량비는 백분율(%)로 표시하였다. Fig. 1에서와 같이 체중에 대한 대조군의 신장 중량비는 $0.864 \pm 0.032\%$ 이나, 엽산투여 30분 후에는 $1.278 \pm 0.102\%$ 로서 최고치를 보였으며, 이 후 점차 감소하여 48시간 및 96시간 후에는 1.034% 및 1.044%의 평균치를 보였다(Fig. 1).

2. 배뇨량

배뇨량은 엽산 투여 3, 6, 24 및 48시간 후에 측정하였으며, 각각의 측정 시간 전후 30분씩 1시간동안의

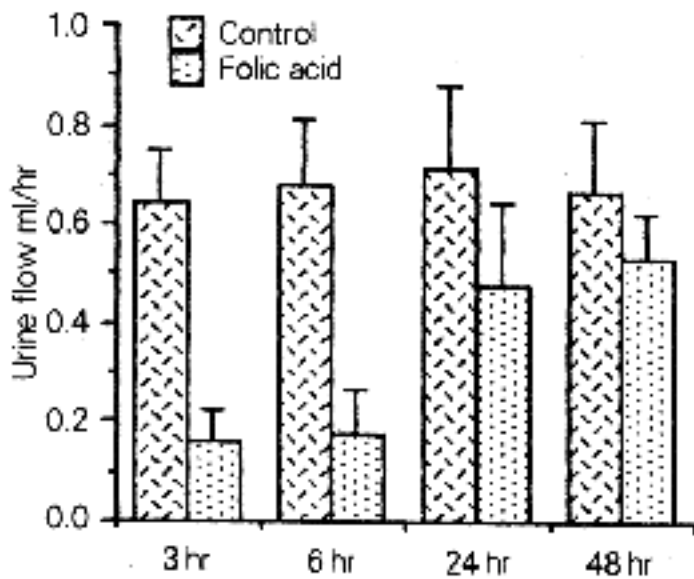


Fig. 2. Urine flow of control and folate-treated rats.

노량을 제축한 결과는 Fig. 2에서와 같다. 엽산 투여 3시간 및 6시간 후에는 극심한 핏뇨현상을 보였으나, 시간이 경과함에 따라 노배설량은 증가하여, 48시간 후에는 0.530 ml/hr로서 대조군인 0.662 ml/hr의 80%에 달하였다(Fig. 2).

3. 육안소견

엽산 투여 30분 후 신장의 전 표면에 걸쳐 많은 황

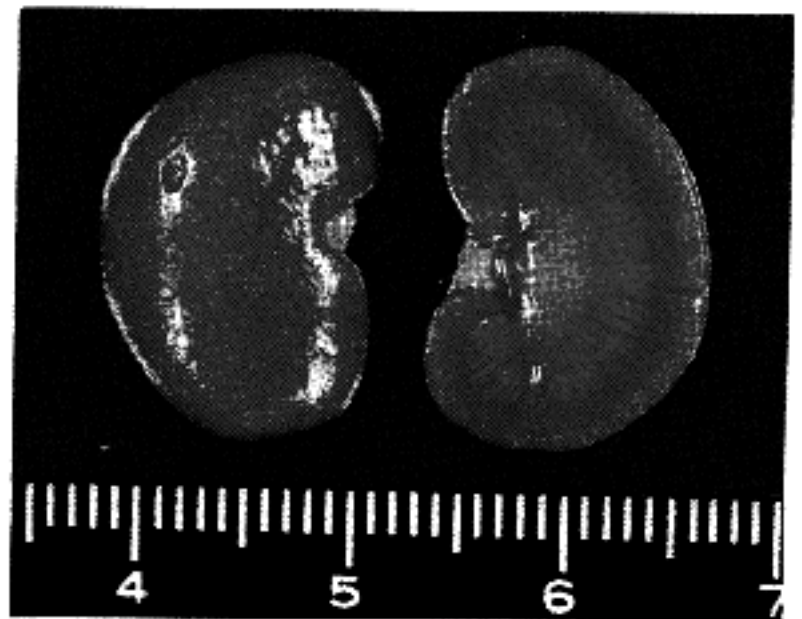


Fig. 3. 30 minutes after folic acid administration. External and cut surfaces of rat kidney. The external surface is mottled with multiple yellow to brown tiny spots. The cut surface shows indistinct yellow stripes on the cortex, and bright yellow outer medulla with reddish streaks

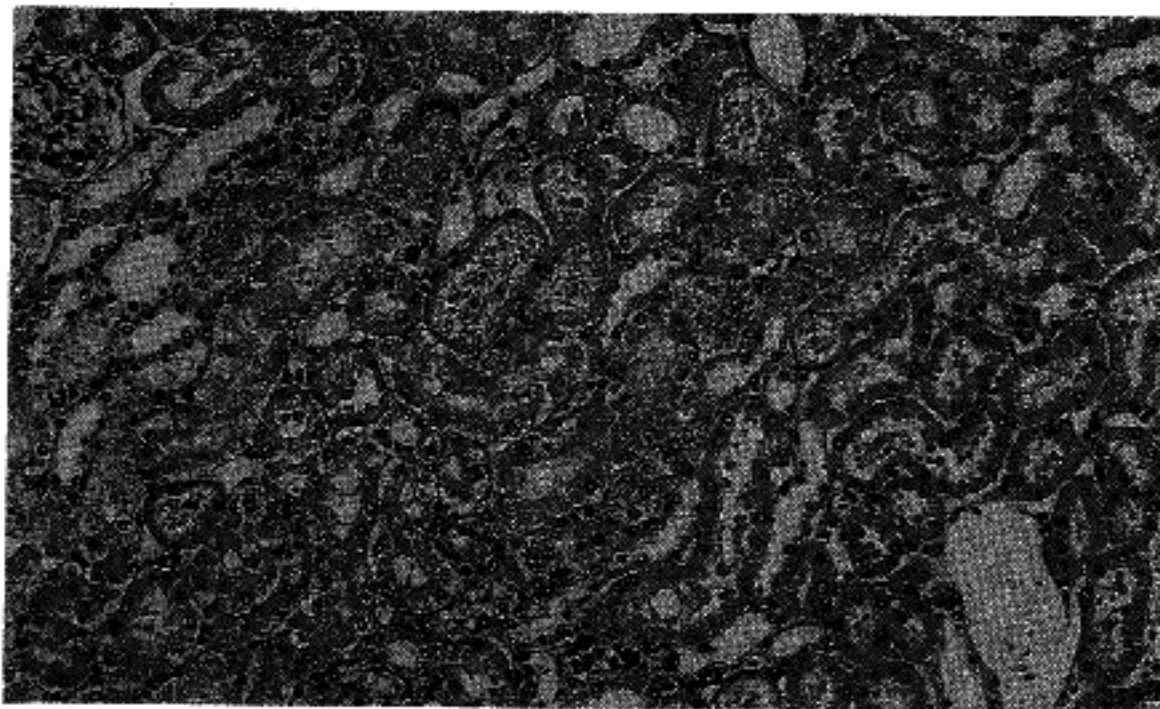


Fig. 4. 1 hour after folic acid administration. Cytoplasmic swelling, loss of nuclei, occasional cytoplasmic vacuoles, and extrusion of cell debris into lumens in the proximal tubules of the cortex.

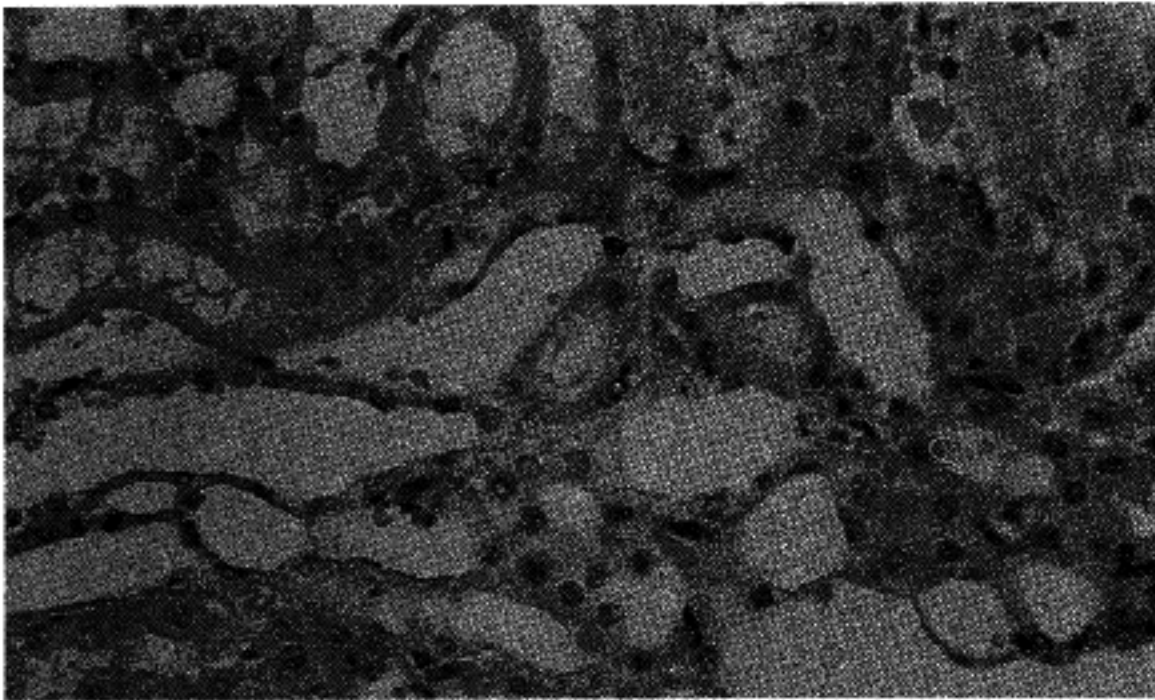


Fig. 5. 48 hours after folic acid administration. Frequent mitotic figures in the cortical tubular epithelial cells.

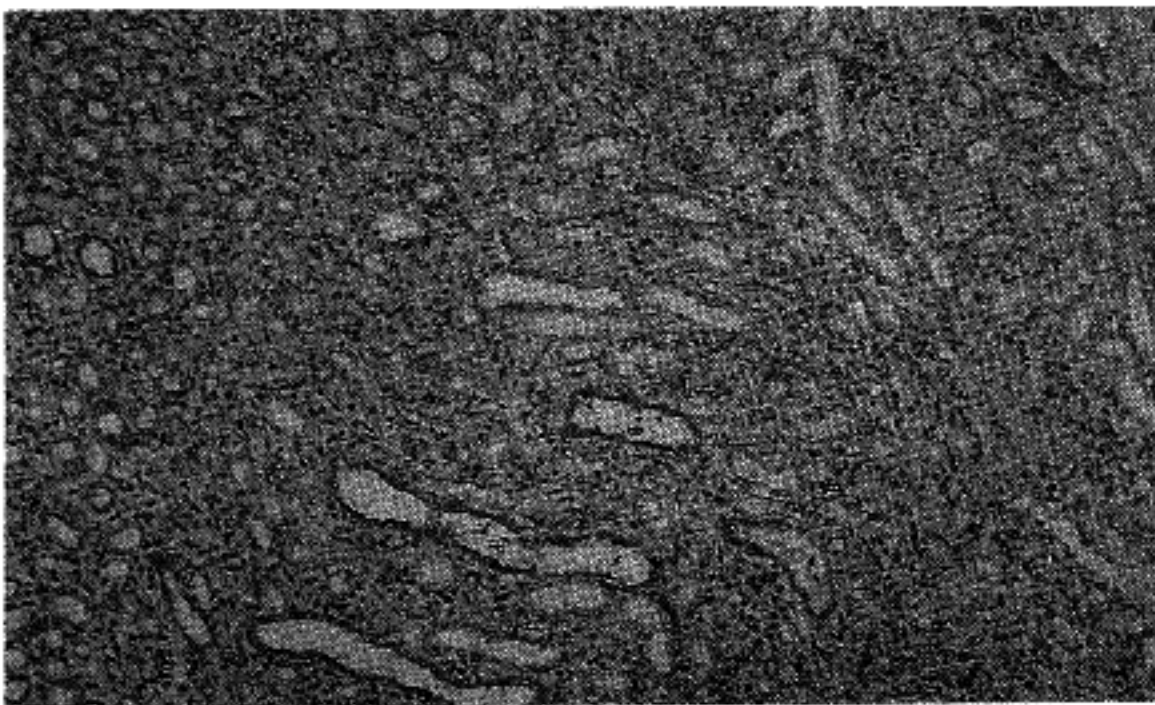


Fig. 6. 96 hours after folic acid administration. Mild proliferation of interstitial cell and fibroblast with focal inflammatory infiltrates in the interstitium of the medulla.

색의 전상 또는 비만성 반점이 출현하였고, 신장의 절단면상 전 피질에서 희미한 황색의 선조를 관찰할 수 있었으며, 수질의 외측에는 윤곽이 뚜렷한 황색 선조가 주름 이루어 울타리처럼 배열되어 있고 그 사이사이에서 적색 선조를 관찰할 수 있었다(Fig. 3). 이러한 육안적 변화는 12시간 경과시까지 같은 정도로 잘 유지되어 있었으나 24시간후에는 약간 감소되고, 96시간에는 수질의 외측에서만 희미한 황색 선조가 관찰되었다.

4. 광학현미경 소견

1) 조직학적소견: 염산 투여 30분 후에 피질과 수질의 세뇨관 확장 및 세뇨관 상피세포의 변형을 관찰할 수 있었다. 근위 세뇨관에서는 상피세포들이 종창

으로 인한 풍선양세포질을 보여주거나 왜지민의 부분적 소실을 보였다. 1시간 후에는 세뇨관상피의 손상이 더 진행되어 국소적인 괴사도 보였으나 세포 기저막의 파괴 및 간질부종등은 관찰할 수 없었다(Fig. 4).

염산 투여 48시간 후에는 다수의 핵분열상을 볼 수 있었는데, 피질과 외측 수질, 특히 피질의 원위세뇨관에서 자주 관찰되었고(Fig. 5), 이는 96시간 후에도 드물게 관찰되었으며, 96시간 후에는 세뇨관 주위와 내강에서 다형핵백혈구의 출현 및 간질혈관조직의 증식도 볼 수 있었다(Fig. 6). 동결절편조직에서 잘 관찰되었던 세뇨관에 침착된 염산은 48시간 이후 대부분 소실되어 일부만이 남아 있었고, 일부 실험동물에서 피질의 세뇨관이나 수질의 집합관등에는 호산성의 PAS 약양성 소적이 출현하였으며, 모든 실험동물에

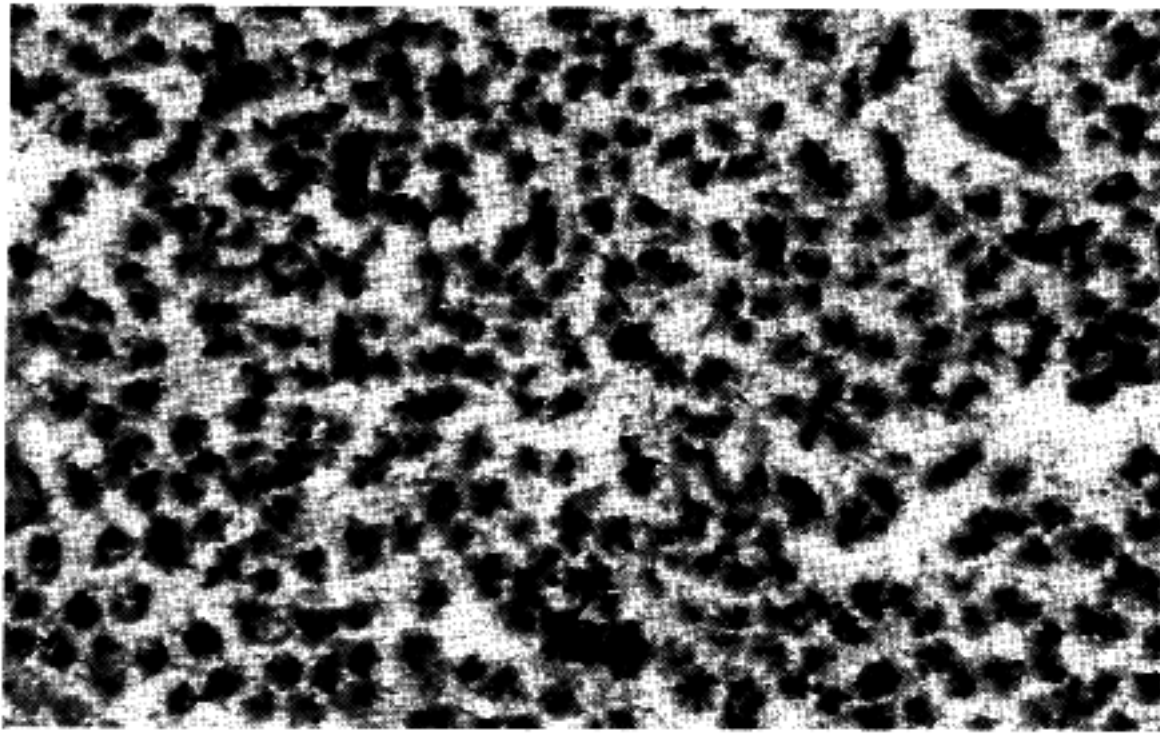


Fig. 7. Control group. Enzyme histochemical study for Na-K-ATPase. Strong positive reaction in cortical tubules.

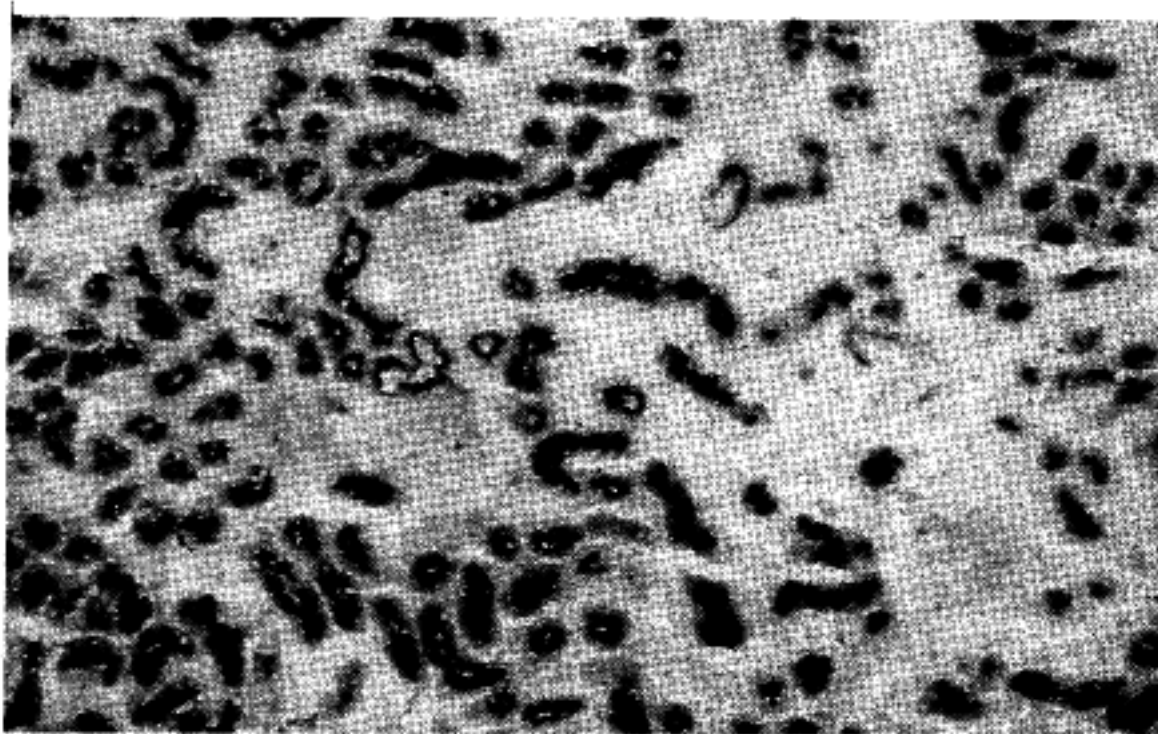


Fig. 8. Enzyme histochemical study for Na-K-ATPase. Enzyme activity is reduced 24 hours after folic acid.

서 사구체 이상병변은 관찰 할 수 없었다.

2) 동결절편의 조직학적 및 효소조직화학적 소견

(1) H&E 소견; 파라핀포대에 의한 조직제작성 신장에 침착되어 있을 엽산이 소실되므로 동결절편조직을 제작하여 H&E 염색후 관찰한 소견은 다음과 같다. 엽산투여 30분 후부터 신세뇨관에 밝은 황색 또는 황갈색의 침착물이 관찰되었다. 이들 침착물은 하나의 큰 덩어리 또는 여러개의 결정체로서 세뇨관 내강을 막 채우고 있거나, 다수의 조그만 결정들이 세뇨관 내강의 주변부를 따라 존재하였다. 엽산의 침착은 신장 전체에 분포하고 있었으나 신수질의 외층에 가장 많았으며, 피질에서는 근위세뇨관에, 수질에서는 집합관과 헨레 세체의 상행각에 많았다. 시간대별로는 엽산 투

여 30분부터 6시간 후까지는 큰 차이가 없었으나, 24시간 후부터 현저히 감소하여 48시간 또는 96시간 후에는 세뇨관내에서 드물게 관찰되었다.

(2) 효소조직화학적 소견:

Na-K-ATPase; 양성반응을 보인 효소의 활성도가 있는 곳에서는 흑갈색의 침착물이 출현하였는데, 정상대조군에서는 피질의 세뇨관 상피세포에서 강한 양성 반응을 보였으며, 엽산 투여 24시간후에는 정상대조군에 비하여 염색성이 현저히 감소하였으나, 48시간후에는 다소 회복되었다(Fig. 7, 8).

G-6-PD; 양성반응을 보인 곳에서는 흑색의 미세한 과립상 침착물이 관찰되었다. 정상대조군 및 엽산 투여 24시간후의 실험동물에서는 피질의 세뇨관 상피세

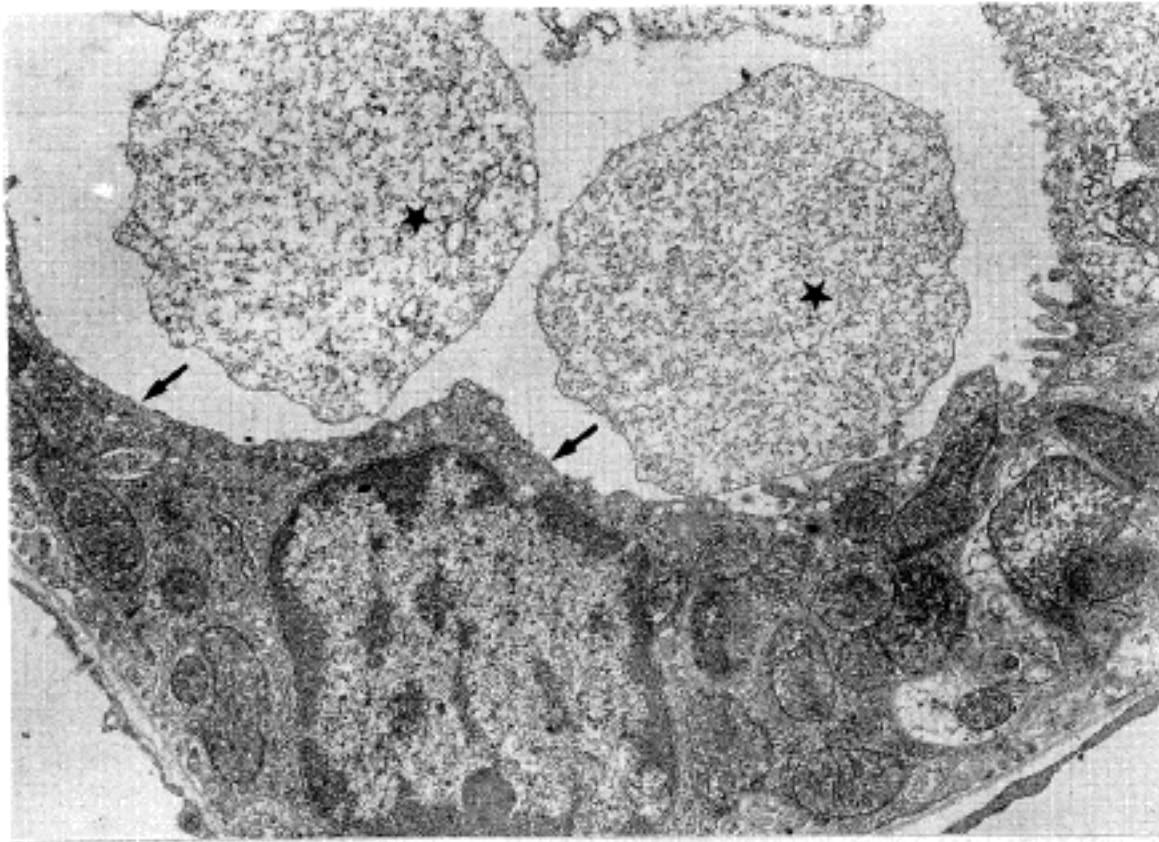


Fig. 9. 30 minutes after folic acid administration. Apical cytoplasmic blebbing (stars) and partial loss of brush border (arrows) in the proximal convoluted tubule. Uranyl acetate & lead citrate $\times 5,000$

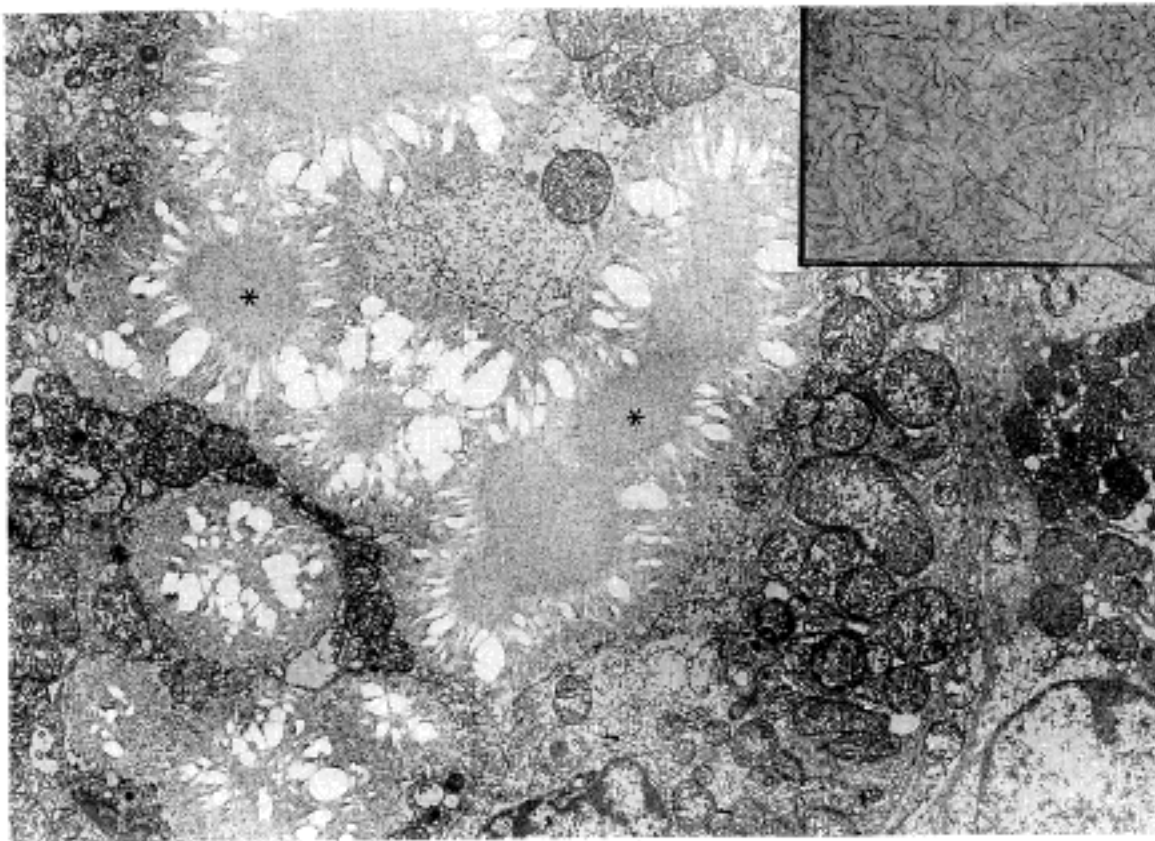


Fig. 10. 30. minutes after folic acid administration. Folate casts (asterisks) containing stellate foci of filamentous material in the lumen of the proximal convoluted tubule. Inset shows higher magnification of filamentous material of folate cast. Uranyl acetate & lead citrate $\times 2,500$ (Inset $\times 10,000$)

포에서 약한 양성반응을 보였으나, 염산 투여 48시간 후에는 강한 양성 반응을 보이고 범위도 넓어져 효소의 활성도가 증가되었음을 알 수 있었다.

ALP; 양성반응을 보인 곳에서는 암청색의 침착물을 볼 수 있었다. 정상 대조군에서는 피질의 세뇨관 상피세포에서 강한 양성반응을 보였으며, 염산 투여 24시간 후에는 효소의 활성도가 감소하였으나, 48시간 후에는 염색도와 염색되는 부위도 약간 증가하여 비교적 많은 세뇨관에서 양성반응을 보였다.

한편, 효소염색 결과 이들 효소의 활성도는 주로 피질에서 관찰되었으며 수질에서는 정상 대조군이나 실험군 모두 아주 미약한 효소활성을 보였다.

5. 전자현미경적 소견

염산 투여 후 초기에 피질 및 수질의 세뇨관 상피세포에서 세포질내 공포형성, 세포질 전자밀도의 감소 및 세포 첨단 수포형성(apical cytoplasmic blebbing) 등이 관찰되었다. 피질의 근위 세뇨관 상

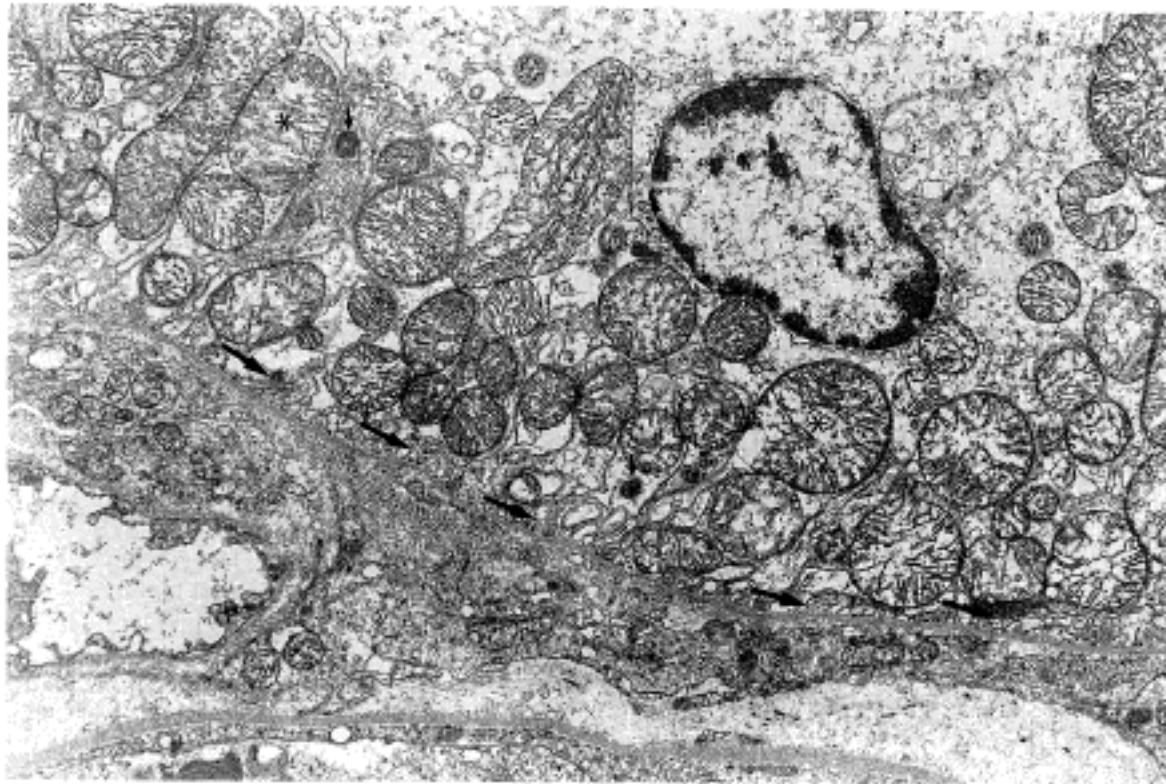


Fig. 11. 30 minutes after folic acid administration. Margination of nuclear chromatin, dense bodies (thin arrows), mildly swollen mitochondria (asterisks), decreased cytoplasmic density, and relatively well preserved infoldings (thick arrows) of basal plasma membrane of the distal convoluted tubule. Uranyl acetate&lead citrate $\times 4,000$

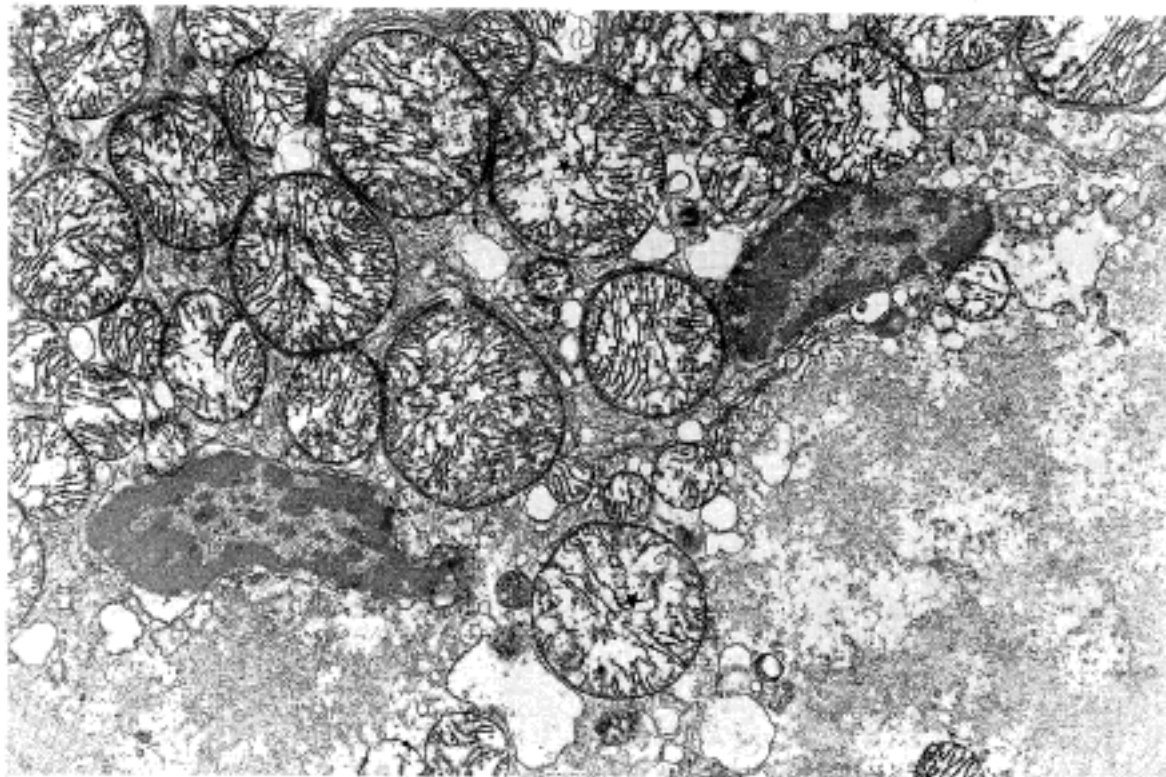


Fig. 12. 3 hours after folic acid administration. Dilated endoplasmic reticulum (arrows) and mildly swollen mitochondria (stars) in the distal convoluted tubule. Uranyl acetate&lead citrate $\times 5,000$

피세포에서는 부분적인 핵자연의 소실이 관찰되었는데, 이는 세포 첨단 수포형성이 있는 곳에서 더욱 현저하였다(Fig. 9). 피질과 수질의 여러 세관내에 존재하는 엽산 침착물은 사상물질로 구성되고 대부분 그 주위에 다수의 열이 둘러싸고 있어 전체적으로 성상을 이루는 경향이 많았다(Fig. 10). 이들 침착물은 손상을 입은 세포의 세포질내에서도 관찰되었으며 시간이 경과하면서 출현 빈도 및 크기가 감소하고 형태도 다양하였다. 또한 원위 세뇨관 및 수질의 집합관의 상피세포에서는 염색질의 핵막 변연에의 부착, 치밀체(dense body)의 출현, 미토콘드리아의 경미한 종창

및 소포체(ER)의 확장등이 관찰되었다(Fig. 11, 12). 엽산투여 초기에는 피질의 세뇨관 상피세포에서 세포 기저막의 주름(infoldings of the basal plasma membrane)이 비교적 잘 보존되어 있었으나, 24시간에서 96시간후에는 주름의 높이가 낮아지거나 부분적으로 소실되어 있는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 13). 또, 헨레 계계의 하행각에서는 세관 내강의 세포 파괴물, 세포질내 소기관 및 미세용모의 소실등이 관찰되었다(Fig. 14).

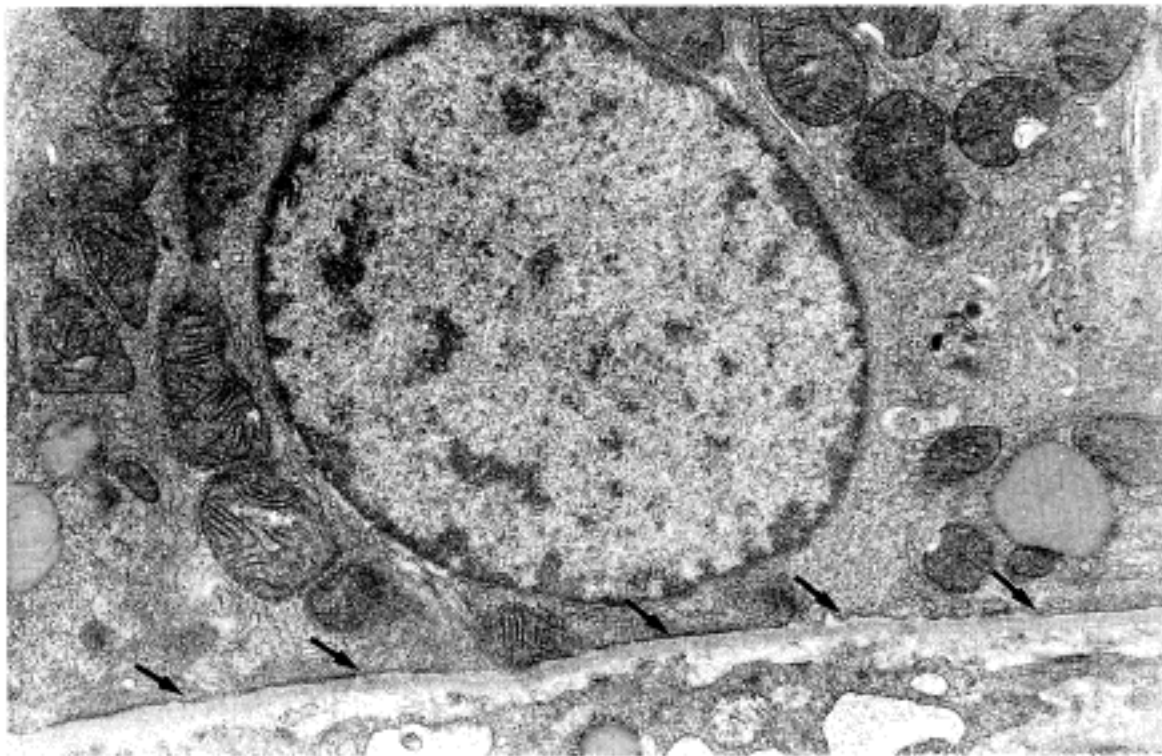


Fig. 13. 48 hours after folic acid administration. Marked attenuation or loss of the infoldings of basal plasma membrane (arrows) in the proximal convoluted tubule. Uranyl acetate&lead citrate $\times 5,000$

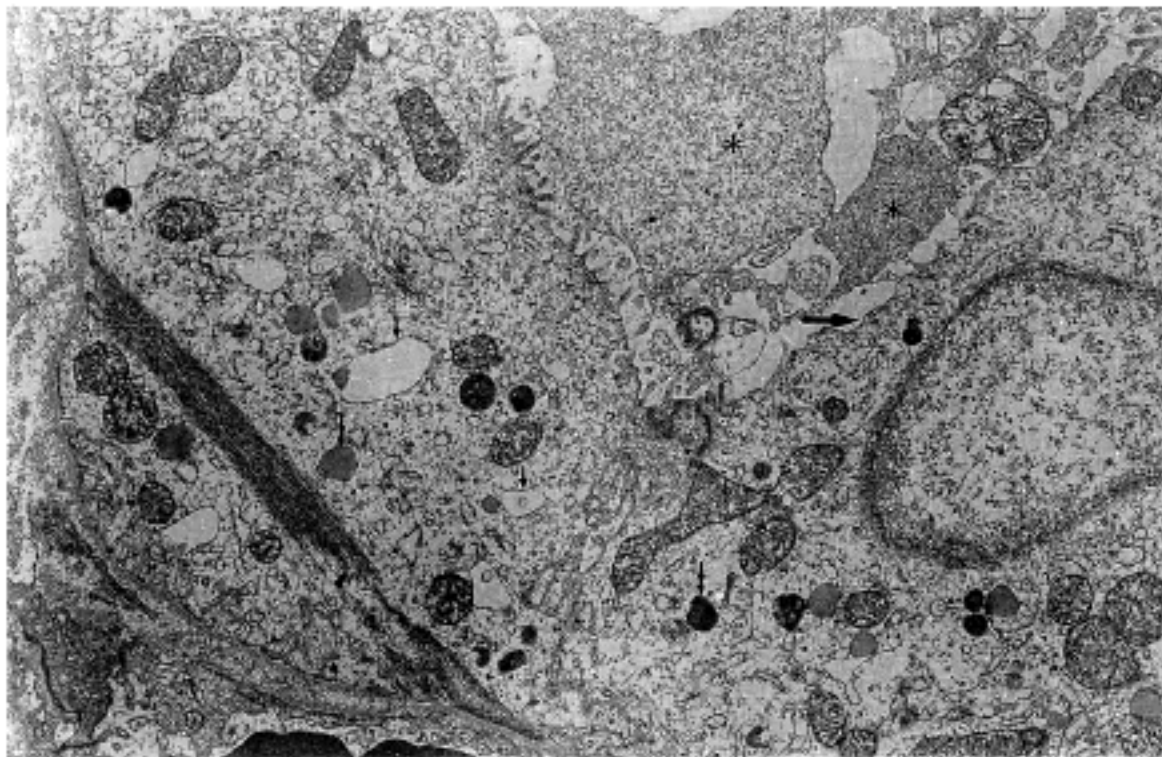


Fig. 14. 48 hours after folic acid administration. Apical cytoplasmic blebbing (asterisks), cellular debris, decreased cytoplasmic density, dilated endoplasmic reticulum (thin arrows), dense bodies (double arrows), and partial loss of microvilli (thick arrow) of the thin descending limb of Henle's loop. Uranyl acetate&lead citrate $\times 4,000$

고 찰

일반적으로 급성 신부전은 신독성 물질인 mercuric chloride^{10,11)}의 투여나 신허혈을 일으키는 glycerol^{12,13)}의 투여 또는 신동맥의 결찰¹⁴⁾ 등에 의해서 유발시킬 수 있다. 그리고, 실험적으로 유도된 급성 신부전증에서 볼 수 있는 췌노현상은 대부분 일차적으로 신사구체 여과의 손상에 의한 것이나, 부수적으로는 세뇨관의 손상이 관여한다고 하였다²⁾.

근래 백서에 엽산을 투여하여 췌노 및 혈중요소증가를 유발시켰다는 보고를 접할 수 있다^{15,16)}. DNA

합성에 중요한 역할을 하는 엽산(pteroyl-mono-glutamic acid)은 pteridine, p-aminobenzoic acid 및 glutamic acid로 구성된 화합물로서, 많은 양의 엽산을 여러 실험동물에 투여하였을 경우 신장에서 DNA, RNA 및 단백질의 합성은 물론 신세뇨관 상피세포의 비대를 초래한다고 하였다¹⁷⁾. Preuss등¹⁸⁾은 엽산 투여 직후 신장 조직에서는 많은 엽산 침착물을 볼 수 있으며, 엽산에 의해서 신장이 비대되는 것은 세뇨관의 급성 폐색에 의해서 시작된다고 하였다. Ayer등¹⁹⁾과 Chedru등²⁰⁾에 의하면, 엽산 투여 96시간후에 inulin과 paraaminohippuric acid(PAH) 청소율이 각각 42% 및 32% 감소하였으나, 36시간후

에 측정된 신피질의 혈류는 변함이 없는 것으로 보아, 염산 투여후 2시간내에 신피질혈류를 대조군의 1/3로 떨어뜨린다는 glycerol과는 다른 기전에 의해서 피노를 초래하는 것임을 알 수 있다고 하였다.

본 연구에서 체중에 대한 신장의 중량비는 염산투여 30분 후에 가장 증가하여 대조군에 비해 약 48% 증가를 보였다. 이는 염산침착과 이에 의한 세뇨관 폐쇄로 신장에 많은 양의 노가 저류되어 있기 때문일 것으로 생각되며, 신장 절단면의 육안 소견과 동결절편조직의 H&E 염색에서 확인된 신세뇨관내염산 침착물이 약물 투여 30분 후에 가장 많았던 것과 일치하는 소견이다. 이 후 중량비의 증가율은 점차 감소하여 48시간 및 96시간 후에는 대조군에 비해 각각 19.6%와 20.8% 증가하였는데, 이 때에는 염산의 침착도 적었으므로 뇨저류에 의하기보다는 조직학적으로 확인된 세뇨관 상피세포와 세뇨관 기질조직의 증식에 의한 신비후에 따른 것으로 생각된다. Byrnes등⁵⁾은 백서에 염산을 투여한 실험에서 체중에 대한 신장의 중량비를 측정할 결과 본 실험성과 유사한 증가율을 보였는데, 염산 투여 3시간 후에 중량비가 가장 증가하였고, 그 후 점차 감소하는 경향을 보였다. 이처럼 최대 증가율을 보인 시간이 본 연구와 다른 것은 이들이 약물투여후 최초로 신장 중량을 측정할 시간이 염산투여 3시간 후였기 때문이라 생각된다. 또한 Schubert등²¹⁾은 같은 실험에서 건조시킨 신장의 중량비를 측정할 결과 염산투여후 15시간까지는 대조군과 유사하였으나, 24시간 후부터 서서히 증가하였으며 96시간 후에는 대조군에 비해서 39% 증가하였다고 보고하여 신비후가 일어났음을 시사하였다.

본 연구에서 염산침착에 의한 뇨저류와 관계있는 배뇨량이 염산투여 3시간 후에는 대조군의 24.8%인 0.160 ml/hr로 가장 심한 피노현상을 보였으며, 염산투여 6시간후에도 큰 변화가 없었으나, 이 후 점차 증가하여 48시간후에는 대조군의 80%에 달하였다. Schmidt등²⁾은 동량의 염산투여후 24시간동안 3 ml 이하의 피노를 보이다 60시간 후부터 뇨량이 많아지기 시작하여 19일후에는 대조군과 같은 수준으로 회복되었다고 보고하였는데, 저자의 실험에서 관찰한 염산투여수 48시간까지의 성적과 유사하였다. 또, Fink등²²⁾은 백서에 440 mg/kgBW의 염산을 투여하여 더 심한 피노현상을 관찰 보고한 바 있다.

염산은 중성이나 산성에서는 비교적 용해도가 낮기 때문에 많은 양의 염산이 사구체를 통해 여과되면 신세뇨관내 pH가 떨어져 침착이 용이해진다. 이러한 침착은 세뇨관내 압력을 측정함으로써 세뇨관 폐쇄를 초래함이 확인되었는데, 실험동물 체중 1 kg당 250 mg의 염산을 투여한 직후 근위세뇨관내 압력은 노란 결찰후의 압력에 상응하는 증가를 보였지만, 세뇨관 폐쇄가 완전하지는 않았다. Schmidt등²⁾은 광범한 염산 침착에도 불구하고, 24시간이 경과 할 때까지 세뇨관

상피세포의 변성이나 괴사는 관찰되지 않아, 피노기에 형태학적 손상이 결여되기 때문에 구조적 변화는 피노를 일으키는 병인이 될 수 없다고 하였다. 그러나, 어떤 학자들⁶⁾은 염산 투여 30분후에 세뇨관 상피세포의 변성이나 괴사가 관찰된다고 하였는데, 본 실험의 형태학적 연구 결과를 보면 세뇨관의 확장, 상피세포의 종창, 핵의 소실, 세뇨관강내에 존재하는 세포과괴물, 근위세뇨관 상피세포의 쇄자연의 소실등 피질과 수질의 세뇨관 상피세포의 변성 및 괴사소견을 볼 수 있었고, 48시간 후에는 세뇨관 상피세포의 빈번한 핵분열상을 관찰할 수 있었다.

Mercuric bichloride등 전형적인 신독성 물질에 의해 유발되는 신병증에서 선택적으로 근위 세뇨관의 괴사만을 초래한다는 Oliver등²³⁾의 보고는 피질 및 수질의 세뇨관 상피세포의 국소적인 변성 및 괴사소견을 보인 본 실험과는 상이한 결과를 보여 염산에 의한 신병증에는 피질 원위 세뇨관 및 수질 세뇨관의 보존을 기대할 수는 없을 것으로 생각된다.

Byrnes등²⁴⁾은 자동방사선사진술에 의하여 염산 투여 36시간 후에 세뇨관 상피세포에 ³H-thymidine이 가장 많이 결합하여 활발한 DNA합성을 관찰 한 바 있는데, 이는 본 연구에서 48시간째 원위 세뇨관 상피세포에서 혼한 세포분열상을 관찰한 바와 일치하는 소견이다. 한편, Baserga등²⁵⁾은 마우스복강내에 염산을 투여한 후 신세포의 세포주기와 DNA합성을 경시적으로 추궁하였는데, 그들에 의하면 DNA합성은 염산 투여 20시간 후부터 증가하기 시작하여 38시간에서 60시간사이에 최고치를 보였으며, 핵분열상은 염산투여 50시간 후에 가장 빈번히 관찰되었다고 보고하였다. 또한 신장의 부위별 관찰결과 피질과 수질의 외측에서는 염산투여 36시간 후에, 수질의 내측에서는 이보다 다소 늦은 48시간 후에 DNA합성이 최고치에 달한다고 하였다.

염산투여 48시간 후에 주로 수질에서 시작되어 96시간 후에 더욱 증가한 간질조직 증식과 다형핵백혈구의 출현은 다른 연구 결과에서도 접할 수 있는 소견인데, Schubert등²¹⁾은 동량의 염산을 백서에 투여한 실험에서, Fink등²²⁾은 NH₄Cl로 전처치하고 체중 1 kg 당 440 mg의 염산을 투여한 실험에서 유사한 시기에 간질조직의 증식 및 다형핵 백혈구의 침윤뿐 아니라, 96시간 이후에는 육아종의 형성도 볼 수 있었다고 한다.

한편, Schmidt등¹⁵⁾은 염산 투여후 신장이 최대 증가율을 보일 때인 약 48시간에 Na-K-ATPase 활성도가 급격히 감소하여 대조군의 2/3에 달한다고 하였으나, 이들은 또 다른 연구²⁶⁾에서 백서에 동량의 염산 투여후 미세수술을 시행하여 신원의 부위별로 실시한 연구결과 염산투여 30분~1시간 후에 염산이 침착한 근위 및 원위세뇨관에서는 효소활성도가 전혀 측정되지 않고 시간이 경과함에 따라 점차 증가한다고 보고

하였다. 이들의 결과와 저자의 전자현미경적 검색소견을 비교하여 보면, Na-K-ATPase가 작용하는 장소인 세포 기저막 주름은 효소활성도가 급격히 감소하는 초기에는 비교적 잘 보존되지만 활성도가 차츰 회복되는 48시간경에는 초기보다 많은 손상을 받는 것을 알 수 있는데, 이는 Schmidt 등¹⁵⁾의 주장과 일치하는 소견이다. 즉 전자현미경적 소견상 세포질내 공포형성, 세포침단 수포형성, 치밀체 출현, 미토콘드리아의 종창, 소포체의 확장, 근위세뇨관 상피와 헨레 계제 하행각에서의 쇠자연 및 미세용모의 소실등은 염산 투여후 초기에 관찰되었다. 그러나, 세포 기저막 주름은 Na-K-ATPase의 활성도가 급격히 감소한 초기에는 비교적 잘 유지되었고, 염산 투여 48시간 이후에는 이 효소의 활성도가 증가하는 양상을 보였으나 세포 기저막 주름은 소실되거나 현저히 약화되어 있었다.

본 연구에서 Na-K-ATPase에 대한 효소염색 결과 염산투여 24시간 후에는 대조군에 비하여 현저한 활성도의 감소를 보이다가 48시간후에는 약간 증가한 소견으로 미루어 볼 때, 세포막을 통하여 Na과 K를 운반하는데 밀접히 관여하는 Na-K-ATPase²⁷⁾가 염산 투여후 초기에 효소활성도가 급격히 감소하여 염산 침착물에 의한 세뇨관 폐쇄와 함께 급성 신부전을 유발하는데 큰 역할을 하였을 것으로 생각된다.

결 론

염산은 DNA 합성에 중요한 역할을 하며, 다량의 염산을 실험동물에 투여하면 급성 신부전을 초래하는 것으로 알려져 있다. 저자는 급성 신부전의 기전을 형태학적으로 증명하기 위하여, 염산을 백서 정맥에 투여 (250 mg/kgBW)한 후 경시적으로 조직학적, 조직화학적(PAS), 효소조직화학적(Na-K-ATPase, Glucose-6-phosphate dehydrogenase 및 Alkaline phosphatase) 및 전자현미경적 검색을 실시하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1) 체중에 대한 신장의 중량비는 염산 투여 30분 후에 가장 증가하여 1.3%로서 대조군에 비하여 48%의 증가를 보였으나, 이 후 증가율은 점차 감소하였다.

2) 배뇨량은 염산 투여 3시간 후에 0.16 ml/hr로 대조군의 24.8%에 불과한 심한 피뇨현상을 보였으나, 이 후 점차 증가하여 48시간 후에도 대조군의 80%에 달하였다.

3) 육안 소견은 염산 투여 30분 후에 가장 뚜렷하였는데, 표면에는 크기가 다양한 황색의 반점이, 절단면에서는 피질 및 수질외측에 황색의 선조가 관찰되었다.

4) 조직학적으로 염산 침착물은 신수질에 가장 많았고, 세뇨관의 확장, 근위 및 원위세뇨관 상피세포의 변성 및 국소적 괴사소견등은 염산 투여후 초기에 주로 관찰되었고, 48시간 후에는 핵분열상을, 96시간 후에

는 기질 결합조직의 증식과 세뇨관 주위 및 내강에서 다형핵백혈구의 출현을 관찰할 수 있었다. 또 일부 실험동물에서 피질과 수질의 세관에 호산성의 PAS약양성 소적이 출현하였다.

5) 효소조직화학적 검색에서 초기에 Na-K-ATPase와 Alkaline phosphatase의 활성도는 대조군에 비해서 감소하였으나 Glucose-6-phosphate dehydrogenase의 활성도는 대조군에 비하여 증가하였다.

6) 전자현미경적 검색에서 염산 투여후 초기에는 세포질내 공포형성, 세포침단 수포형성, 치밀체출현, 미토콘드리아의 경미한 종창 및 소포체의 확장등이 관찰되고, 근위 세뇨관상피와 헨레 계제의 하행각에서는 쇠자연 및 미세용모의 소실등이 관찰되었다. 또, 염산 투여후 24~96시간에는 피질의 세뇨관 상피세포 기저막 주름이 현저히 감소 하였다.

이상의 실험성적으로 보아 다량의 염산을 백서에 투여할 때 유발되는 급성 신부전은 염산의 축적으로 인한 세뇨관폐쇄와 그에 따른 세뇨관 상피세포의 손상 및 기능부전에 의한 것으로 생각되며, 피질과 수질의 세뇨관 상피세포의 변성 및 괴사는 피질 근위 세뇨관에 선택적으로 손상을 입히는 일반 신독성 물질에 의하여 초래되는 급성 신부전의 형태학적 소견과 다른 점으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Taylor DM, Threlfall G, Buck AY. Stimulation of renal growth in the rat by folic acid. *Nature (Sond)* 1966; 212: 472-4.
- 2) Schmidt U, Torhorst J, Huguenin M, Dubach UC. Acute renal failure after folate: Na-K-ATPase in isolated rat renal tubule. *Ultramicrochemical and clinical studies. Eur J Clin Invest* 1973; 3: 169-78.
- 3) Schubert GE, Otten G, Sinner E. Resistenz des Nieren-gewebes gegen Serotonin-induzierte Läsionen nach voraus-gehender Folsäurebehandlung. *Beitr Path* 1971; 144: 119-37.
- 4) Torhorst J, Schmidt U, Dubach UC. Veränderungen des Rattennephron nach Folsäure. Kombinierte lichtmikro-skopische, ultrastrukturelle und funktionelle Untersuchungen. *Verh Dtsch Ges Path* 1970; 54: 570-4.
- 5) Byrnes KA, Ghidoni JJ, Suzuki M, Thomas H, Mayfield ED. Response of the rat kidney to folic acid administration. II. Morphologic studies. *Lab Invest* 1972; 26: 191-200.

- 6) Schubert GE, Sinner E, Otten G. *Resistenz des Nierengewebes gegen Dichromatschaden nach Folsaureinjektion. Virchows Arch.* 1971; 353: 207-20.
- 7) Guth L, Albers RW. *Histochemical demonstration of (Na⁺-K⁺)-activated adenosine triphosphatase. J Histochem Cytochem* 1974; 22(5): 320-6.
- 8) 渡邊 慶一. 病理組織化學とその技術. 病理技術マニユアル 4 日本病理學會編, 醫齒藥出版株式會社, 1986; 136-6.
- 9) Burstone MS. *Histochemical comparison of naphthol AS phosphates for the demonstration of phosphatases. J Natl Cancer Inst* 1958; 20: 601-15.
- 10) Flanigan WJ, Oken DE. *Renal micropuncture study of the development of anuria in the rat with mercury-induced acute renal failure. J Clin Invest* 1965; 44: 419-57.
- 11) Flamenbaum W, McDonald FD, Dibona GF, Oken DE. *Micropuncture study of renal tubular factors in low dose mercury poisoning. Nephron* 1971; 8: 221-34.
- 12) Ruiz-Guinazu A, Coelho FB, Paz RA. *Methemoglobin-induced acute renal failure in the rat. In vivo observation, histology and micropuncture measurements of intratubular and postglomerular vascular pressures. Nephron* 1967; 4: 257-75.
- 13) Thiel G, Wilson DR, Arce ML, Oken DE. *Glycerol-induced hemoglobinuric acute renal failure in the rat. II. The experimental model, predisposing factors, and pathophysiologic features. Nephron* 1967; 4: 276-97.
- 14) Arrizurieta EE, Paz RA, Coelho JB, Yelinek L, Nahmod VE, Ruiz-Guinazu A. *Concentrating mechanism and histology during the course of unilateral acute renal failure in the dog. Nephron* 1968; 5: 376-92.
- 15) Schmidt U, Dubach UC, Torhorst J. *Behavior of sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase in rat kidney tissue by folic acid. Experientia (Basel)* 1969; 25: 1288-90.
- 16) Brade W, Propping P. *Akutes Nierenversagen nach Pteridinapplikation. Klin. Wschr.* 1970; 48: 1209-16.
- 17) Taylor DM, Threlfall G, Buck AT. *Chemically induced renal hypertrophy in the rat. Biochem Pharmacol* 1968; 17: 1567-74.
- 18) Preuss HG, Weiss FR, Janicki RH, Goldin H. *Studies on the mechanism of folate-induced growth in the rat kidneys. J Pharmacol Exp Ther* 1972; 180: 754-8.
- 19) Ayer G, Grandchamp A, Wyler T, Truniger G. *Intrarenal hemodynamics in glycerol-induced myohemoglobinuric acute renal failure in the rat. Circulat Res* 1971; 29: 128-35.
- 20) Chedru MF, Baethke R, Oken DE. *Renal cortical blood flow and glomerular filtration in myohemoglobinuric acute renal failure. Kidney Internat* 1972; 1: 232-9.
- 21) Schubert GE. *Folic acid-induced acute renal failure in the rat: Morphological studies. Kidney Int* 1976; 10: S46-50.
- 22) Fink M, Henry M, Tang JD. *Experimental folic acid nephropathy. Pathology* 1987; 19: 143-9.
- 23) Oliver J, MacDowell M, Tracey A. *The pathogenesis of acute renal failure associated with traumatic and toxic injury: renal ischemia, nephrotoxic damage and the ischemic episode. J Clin Invest* 1951; 30: 1307.
- 24) Byrnes KA, Ghidoni JJ, Mayfield ED. *Response of the rat kidney to folic acid administration. I. Biochemical studies. Lab Invest* 1972; 26: 184-90.
- 25) Baserga R, Thatcher D, Marzi D. *Cell proliferation in mouse kidney after a single injection of folic acid. Lab Invest* 1968; 19: 92-6.
- 26) Schmidt U, Dubach UC. *Acute renal failure in the folate-treated rat: Early metabolic changes in various structures in the nephron. Kidney Int* 1976; 10: S39-45.
- 27) Bonting SL. *Sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase and cation transport. Membranes and ion transport (ed.: E. E. Bittar), London-New York: Academic Press* 1970; 257-350.