

살리실산 나트륨이 Guinea Pig 내이 외림프의 Unknown Compound에 미치는 영향

울산대학교 의과대학 이비인후과학 교실·생화학 교실*·아산생명과학연구소**
김 상 윤·황 온 유*·김 혜 진**·추 광 철

=Abstract=

The Effect of Sodium Salicylate on Concentration of Unknown Compound in Perilymph of Guinea Pig

Sang Yoon Kim, On-You Hwang, Hye Jin Kim, Kwang Chol Chu
Department of Otolaryngology, Department of Biochemistry*, College of Medicine
University of Ulsan, Asan Institute for Life Science**

There are some evidences that temporary hearing loss is induced by disturbance of cochlear microcirculation due to the inhibition of prostaglandin synthesis by salicylate, however, the mechanism of salicylate ototoxicity has been still under study.

We previously suggested that the increase of unknown compound concentration in perilymph of guinea pig might be important for the mechanism of salicylate ototoxicity. So we tried to compare the time course of unknown compound concentration to salicylate concentration in perilymph. Sodium salicylate(460mg/kg) was injected intraperitoneally to guinea pig. Unknown compound concentration in perilymph was measured before the injection and 1 hour, 3 hours, 5 hours, 7 hours and 24 hours after injection, using HPLC-ECD. The time course of unknown compound concentration reveals maximum level at 5 hours and nearly control level at 24 hours, and this is similar to the change of salicylate concentration in perilymph. These data might be another evidence to our understanding of unknown compound-related salicylate ototoxicity.

Key Words : Salicylate, Ototoxicity, Guinea pig, Unknown compound, HPLC-ECD.

1. 서 론

Salicylate가 이명을 동반한 가역적 청력장애를 일으키는 것은 잘 알려져있으나 salicylate의 작용기전

에 대하여는 많은 논란이 있다.

Salicylate를 이용한 전기생리학 연구에서 salicylate의 작용 장소가 와우인 것은 가정할 수 있으나^{1,2} 영구적인 조직 병리학적 변화가 없어^{3,4} salicylate 이독증의 원인이 와우 효소계(enzyme system)의

* 본 논문은 아산생명과학 연구소의 지원에 의해 이루어졌음.

일시적인 장애일 것이라는 주장이 있었다⁴.

Prostaglandins(이하 PGs라 함)이 내이 외측벽에서 생성되어 내이 미세순환, 특히 혈관조(stria vascularis)나 나선인대(spiral ligament)의 미세순환에 중요한 역할을 담당하고 있음이 증명되어^{8,9,10,11} PGs 생성이 salicylate에 의해 억제되는 것이 salicylate 이독증의 원인이라는 주장도 있다. 그러나 Puel 등은¹² salicylate 이독증때 보이는 전기생리학적 변화가 다른 PGs 합성 억제제와 다른 점을 들어 salicylate 이독증은 내이에서 PGs 생성이 억제되어 발생하는 것은 아니라고 주장하였다. 또한, salicylate가 나선인대의 noradrenalin에 의해 지배받는 혈관에 작용하여 와우의 혈류량을 감소시켜 이독증을 유발한다는 보고도 있다^{13,14}.

이와같이 salicylate 이독증의 작용기전에 대한 원인을 한가지로 설명할 수 없어 아직까지 많은 연구가 진행되고 있고, 김등은 salicylate 이독증의 원인으로 salicylate에 의해 guinea pig 외림프에서 증가되는 Unknown Compound(이하 UC라함)를 제시한 바 있다¹⁵. UC는 HPLC-Electrochemical Detector(이하 HPLC-ECD라함)에 의해 검출되는 화합물로 catecholamine이나 그의 metabolites가 아닌 것은 증명되었으나 아직까지 어떤 물질인지 정확히 밝혀지지는 않았다.

이에 저자들은 salicylate를 복강내 주사한 guinea pig의 외림프에서 UC의 시간에 따른 변화 양상을 밝혀보고자 하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 실험동물의 선정

실험 동물은 300-350 gm의 Preyer 반응이 정상인 albino guinea pig을 사용하였다. 실험군 동물은 sodium salicylate(460mg/kg)를 생리식염수 5cc에 용해시켜 복강내 주사하기 전, 주사후 1시간, 3시간, 5시간, 7시간, 24시간에 각각 3마리 6귀에서 외림프를 채취하였다(Table 1).

2. 외림프 채취 및 준비

Pentobarbital(40mg/kg)을 복강내 주사하여 실험 동물을 마취한 후 복외위 위치로 하고 상측 접근

(superior approach)을 통하여 양측 정원창막을 노출시켰다. 수술 현미경 하에 정원창막을 천자한 후 25 μ L 용량의 Hamilton 주사기(Hamilton Co.)로 외림프 10 μ L를 채취하였다.

채취한 외림프 10 μ L에 0.15% Na₂S₂O₅와 Na₂EDTA를 함유하고 있는 0.4M HClO₄ 5 μ L를 첨가하여 혼합한 후 UC 농도를 측정할 때까지 -80 $^{\circ}$ C에 냉장 보관하였다.

Table 1. Classification of experimental animal(N=18 guinea pigs).

Time	No. of Animal	Intraperitoneal Injection
without Inj	3(6ears)	None
1hr after Inj	3(6ears)	Sodium salicylate(460mg/kg)
3hrs after Inj	3(6ears)	Sodium salicylate(460mg/kg)
5hrs after Inj	3(6ears)	Sodium salicylate(460mg/kg)
7hrs after Inj	3(6ears)	Sodium salicylate(460mg/kg)
24hrs after Inj	3(6ears)	Sodium salicylate(460mg/kg)

3. Catecholamine 농도의 측정 방법

1) HPLC-ECD system

- (1) pump : Waters 510
- (2) injector : Waters U6K
- (3) temperature controller : Waters TCM
- (4) column : Bondapak C18
- (5) electrochemical detector : Waters 460
- (6) integrator : Yong-In D520A

2) Standard chemicals

norepinephrine

3) Mobile phase

0.1M NaH₂PO₄, 0.1mM EDTA, 1mM Na-octylsulfate, 10% methanol, 30 μ L/L triethylamine의 혼합물로 pH는 3.35로 조절한다.

III. 연구 결과

UC의 정확한 정체가 밝혀지지 않아 UC 농도의 절대값을 알 수 없어 UC 농도를 상대값으로 계산하여 시간에 따른 변화를 비교하였다. 즉, HPLC-ECD에 나타나는 chromatogram의 UC peak의 면적을 norepinephrine 50pg을 기계에 주입했을 때 나타

나는 chromatogram의 norepinephrine peak의 면적으로 나눈 값을 UC의 농도로 하였다.

UC의 농도는 salicylate(460mg/kg)를 복강내 주사하지 않은 guinea pig의 외림프에서는 0.7, 주사한 후 1시간이 경과한 외림프에 5.2; 3시간 후에 13.4, 5시간 후에 31.3, 7시간 후에 16.2, 24시간 후에 1.9로, salicylate에 의한 guinea pig 외림프 UC 농도의 시간에 따른 변화는 주사 후 5시간에 최고 농도에 도달한 후 24시간에는 주사 전보다는 약간 높았으나 거의 주사 전 농도에 도달하였다(Table 2., Fig. 1).

Table 2. Time course of unknown compound in perilymph.

Time (Hrs after Injection)	Concentration of Unknown Compound	
	Mean	S.D.
0	0.7	0.3
1	5.2	2.9
3	13.4	3.6
5	31.3	14.7
7	16.2	3.4
24	1.9	0.5

*Values are expressed as unknown compound/norepinephrine(50pg) area

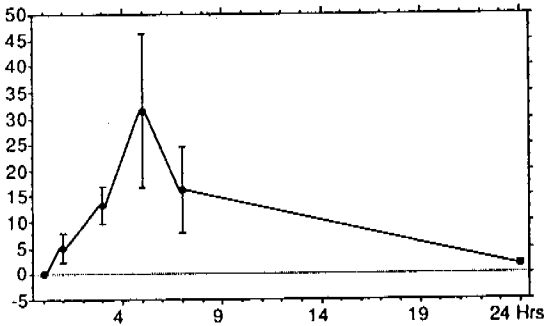


Fig. 1. Time course of concentration of unknown compound in perilymph.

*Values are expressed as unknown compound area/norepinephrine(50pg) area.

IV. 고 찰

Salicylate 이독증은 정확히 원인이 밝혀지지 않았으나 조직병리학적 변화가 없는 가역적 감각신경성 난청을 일으키기 때문에 salicylate 이독증의 작용기전에 대한 연구는 내이 생리를 이해하는데 중요한 재료이다.

지금까지 salicylate 이독증의 원인으로 제시된 주장들은 salicylate의 PGs 합성 억제제로서의 작용^{8,9,10,16}, salicylate가 norepinephrine 신경 말단에 작용하여 나타나는 와우혈류양의 감소^{13,14}, Bobbin등⁵이나 Puel등¹²이 주장한 내이 신경물질의 변화 등 여러가지가 있으나, 내이 생리에 대한 지식의 부족으로 salicylate 이독증의 원인을 한가지로 규정하기에 어려운 실정이다.

김등¹⁵이 guinea pig 외림프에서 HPLC-ECD로 UC를 검출하여 이 화합물이 salicylate에 의해 증가한다고 보고하였다. 그의 보고에서 UC는 catecholamine이나 salicylate의 주요 대사산물이 아니며 혈장에서도 발견되지 않는다고 하였다.

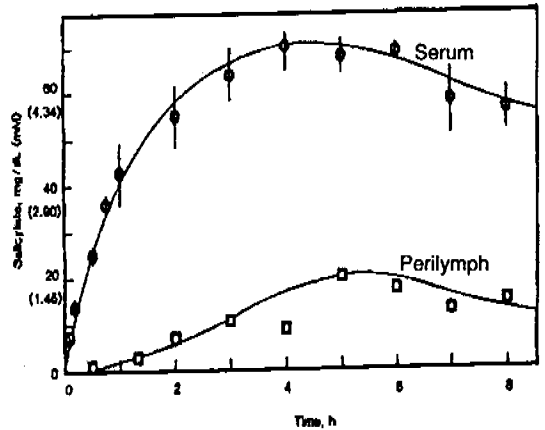


Fig. 2. Time course of concentration of salicylate in perilymph and serum.(Jastreboff PJ, et al, 1986)

이번 연구 결과에서 외림프에 있는 UC는 salicylate를 복강내 주사한 후 5시간이 경과하여 외림프에서 최고 농도를 보였으며 24시간 후에는 주사 전 농도보다 약간 높았으나 거의 주사 전 농도로 회복되었다. 이러한 UC의 시간에 따른 농도 변화는 Jastreboff등¹⁷이 보고한 guinea pig 외림프의 salicylate 농도의 변화와 일치하였다(Fig. 2.). 저자들이

sodium salicylate를 guinea pig의 복강내 주사한 방법이 Jastreboff등이 사용한 방법과 일치하기 때문에 salicylate에 의한 외림프 UC의 농도 변화는 외림프 salicylate 농도와 같은 양상으로 변화한다고 하여도 무방할 것이다.

Salicylate에 의한 청력 장애는 대개 24시간에서 72시간 동안 지속되는 가역적 감각신경성 난청으로^{2, 3, 17, 18, 19} 청력장애의 정도는 외림프 salicylate 농도가 최고치에 도달했을 때 가장 심한 것으로 알려져있다^{1, 17, 20, 21}. 즉, salicylate에 의한 청력장애는 외림프 salicylate 농도에 직접 영향을 받으며 따라서 UC의 농도 변화에도 깊은 연관성이 있을 것이다.

그러나 UC가 salicylate 이독증의 원인으로 작용한다고 주장하려면 UC의 구조식과 기능적 특성을 밝히는 연구가 필요할 것이다.

V. 결 론

Salicylate를 복강내 주사하여 guinea pig 외림프에서 발견된 UC는 아직까지 구조식이나 기능적 특성이 밝혀지지 않았으나, 복강내 주사 후 5시간이 경과하여 농도는 최고치에 도달하였으며 그후 점차 감소하여 24시간 후에는 거의 주사 전 농도에 도달하였다. 이와같은 UC의 농도 변화는 salicylate의 외림프 농도 변화와 일치하여 UC의 외림프 농도는 salicylate 농도에 직접 영향받는 것을 알 수 있었다.

결론적으로 salicylate에 직접 영향을 받아 변화하는 UC에 대한 연구는 salicylate 이독증의 작용기전을 밝히는데 중요한 역할을 하리라 생각된다.

참고문헌

1. Gold A, Wilpizeski CR : Studies in auditory adaptation : II. Some effects of sodium salicylate on evoked auditory potentials in cats. *Laryngoscope* 1966; 76:674-685.
2. McCabe PA, Dey FL : The effect of aspirin upon auditory sensitivity. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1965; 74: 312-325.
3. Meyers EN, Bernstein J : Salicylate ototoxicity : A clinical and experimental study. *Arch Otolaryngol* 1965; 82:483-493.

4. Silverstein H, Bernstein JM, Davies DG : Salicylate ototoxicity : A biochemical and electrophysiological study. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1967; 76:118-128.
5. Bobbin RP : Effects of putative transmitters on afferent transmission. *J Acoust Soc Am* 1976; 60:579.
6. DeMoura LF, Hayden RC : Salicylate ototoxicity. *Arch Otolaryngol* 1968; 87:60-64.
7. Douek EE, Dodson HC, Bannister LH : The effect of sodium salicylate on the cochlea of guinea pigs. *J Laryngol Otol* 1983; 97:793-799.
8. Escoubet B, Amsallem P, Ferrary E : Prostaglandin synthesis by the cochlea of the guinea pig. Influences of aspirin, gentamicin, and acoustic stimulation. *Prostaglandins* 1985; 29:589-599.
9. Hawkins JE : Drug Ototoxicity. Hand book of sensory physiology. Vol 3, Springer Verlag, 708-712, 1976.
10. Jung TTK, Juhn SK : Prostaglandins in perilymph. *Assoc Res Otolaryngol Abstr* 1984; 7: 107.
11. Trans Ba Huy P, Servin F, Ohresser M, et al : Adenyl cyclase in guinea pig stria vascularis. *Acta Otolaryngol* 1981; 91:9-14.
12. Puel JL, Bobbin RP, Fallon M : Salicylate, meclofenomate, and guinine on cochlear potentials. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1990; 102:66-73.
13. Cazals Y, Li XQ, Arousseau C : Acute effects of noradrenaline related vasoactive agents on the ototoxicity of aspirin : An experimental study in the guinea pig. *Hear Res* 1988; 36:39-96.
14. Didier A, Nuttal AL, Miller JM : sodium salicylate induced blood flow changes and hearing losses in the guinea pig cochlea. *Assoc Res Otolaryngology* 1990; 13:310.
15. 김상윤, 노관택 : 살리실산 나트륨이 내이 외림프의 카테콜아민 농도에 미치는 영향. *한이인지* 1992 ; 35(6):847-861.

16. Jung TTK, Juhn SK, Edlin J, et al : The effect of aspirin and noise-exposure on the concentration of prostaglandins in perilymph, CSF and aqueous humor of chinchillas. Assoc Res Otolaryngol Abstr 1986; 9:149-150.
17. Jastreboff PJ, Hansen R, Sasaki PG, et al : Differential uptake of salicylates in serum, cerebrospinal fluid, and perilymph. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1986; 112:1050-1053.
18. McFadden D, Plastsmier HS : Aspirin can potentiate the temporary hearing loss induced by intense sounds. Hear Res 1983; 9:295-316.
19. Ramsden RT, Latif A, O'Malley S : Electrocochleographic changes in acute salicylate overdosage. J Laryngol Otol 1985; 99:1269-1273.
20. McPherson DL, Miller JM : Choline salicylate : Effects on cochlear function. Arch Otolaryngol 1974; 99:304-308.
21. Mitchell C, Brumett R, Hines D, et al : Electrophysiological study of the effect of sodium salicylate upon the cochlea. Arch Otolaryngol 1973; 98:297-301.