

## Gentamicin의 막성화우 및 신장근위세뇨관 Na-K-ATPase 활성도에 미치는 영향

고신의대 이비인후과학교실 · 생리학교실\*  
이미현 · 이한국 · 이강대 · 유태현 · 박양생\*

### The Effect of Gentamicin on Na-K-ATPase of Rabbit Cochlea and Renal Proximal Tubule

Mi Hyun Lee M.D., Han Kook Lee M.D., Kang Dae Lee M.D.,  
Tai Hyun Yu M.D., Yang Seang Park Ph.D.\*

*Department of Otolaryngology · Physiology\*, Kosin Medical College*

#### = Abstract =

Effects of gentamicin on the  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -activated adenosine triphosphatase (Na-K-ATPase) activities of rabbit membranous cochlear homogenates and renal cortical basolateral membranes were studied to investigate mechanisms of gentamicin-induced ototoxicity and nephrotoxicity.

From normal adult rabbits anesthetized with pentobarbital sodium, membranous cochleae were dissected out under a stereomicroscope and homogenized. Renal cortical basolateral membranes were isolated by Percoll gradient centrifugation. The Na-K-ATPase activity was determined by measuring inorganic phosphate liberated during incubation of tissue homogenates or membrane fractions with ATP at 37°C. The enzyme activity was determined in the presence and absence of gentamicin in the preincubation and incubation media. The period of preincubation was 60 minutes and that of incubation was 20 minutes (renal ATPase) or 30 minutes (cochlear ATPase).

Treatment of cochlear homogenates with 1mM gentamicin resulted in a significant reduction of Na-K-ATPase activity. Likewise, in renal cortical basolateral membrane fractions, the enzyme activity was significantly attenuated by 1~10mM gentamicin treatment, the effect being proportional to the concentration of the antibiotic. Kinetic analysis indicated that the reduction of renal Na-K-ATPase activity by gentamicin was due to an increase in  $K_m$  with no change in  $V_{max}$ .

These results indicate that both in the cochlea and renal proximal tubule, gentamicin inhibits the active  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  transport process by changing the substrate affinity of the Na-K-ATPase system, which may lead to alterations of cochlear and renal function.

**KEY WORDS :** Gentamicin · Na-K-ATPase · Rabbit Cochlea & Renal Proximal Tubule.

## 서 론

내이의 와우는 음향자극을 청신경으로 전달해 주는 기관으로서 그 기능의 수행에는 능동적 이온 이동과정이 필수적인 역할을 담당한다. 막미로의 와우부는 막나선판과 Reissner막으로 형성된 3각형의 막성관이며, 이를 와우관이라 한다. 이 와우관은 그 기부에서 연합관에 의하여 막전정과 통한다. 외립프강은 골나선판과 와우관에 의하여 양분되며 Reissner막이 있는 쪽을 전정계라 하고 기저막이 있는 쪽을 고설계라 한다. 와우관의 기저막 외측벽에 위치하고 있는 혈관조는 상피조직으로 구성되어 있는데, 이는 결체조직인 나선인대에 싸여 있다<sup>6)</sup>. 혈관조에는 혈관분포가 많으며, 연변세포(marginal cell)내에는 미토콘드리아 및 에너지 대사에 관여하는 여러가지 효소들이 다량 존재하고<sup>32)</sup> 기저부의 함몰(basal infolding)에는  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -activated adenosine triphosphatase(Na-K-ATPase)의 활성도가 높다<sup>12,23,24,26)</sup>. 세개의 관내에는 모두 액체가 차 있는데, 와우관내액은 내립프라고 불리우며 세포외액이지만 그 성분은 세포내액과 유사하여  $\text{Na}^+$  농도가 낮은(0.2~25mM) 반면  $\text{K}^+$  농도가 높으며(148~188 mM), 전정계와 고설계 내액은 외립프라고 불리우며  $\text{Na}^+$  농도는 높고(130~160 mM)  $\text{K}^+$  농도는 낮다(3~10mM)<sup>32,36)</sup>.

와우각은 endolymphatic resting potential(ERP)과 cochlear microphonic potential(CMP) 및 summating potential(SP)등 세 종류의 막전압을 발생시킨다. ERP는 내립프가 외립프에 비해 약 80~100mV의 양전압을 띠는 안정된 전압(steady potential)이며<sup>40)</sup>, CMP는 청각자극에 따라 그 크기 및 빈도가 변화되는 것으로, 양자 모두 세포대사가 억제되거나 내립프의  $\text{K}^+$  농도가 낮아지면 감소된다<sup>1,8,38)</sup>. 와우의 기저부에서 첨단부로 갈수록 내립프의  $\text{K}^+$  농도 및 삼투질농도가 낮아지며<sup>33,35,37)</sup> 동시에 ERP의 크기도 작아진다<sup>3,16,24,33,35,37)</sup>. 이러한 사실은 와우의 전압(따라서 그 기능)이 내립프와 외립프간의 양이온 농도경사에 의해 발생되며 이러한 농도경사는 능동적 물질이동계(active

transport system)에 의하여 유지됨을 시사한다.

Na-K-ATPase는 세포막에서  $\text{Na}^+$  및  $\text{K}^+$ 의 능동적 이동을 담당하는  $\text{Na}^+$  펌프의 핵심부분인데, 과거 수행된 여러가지 연구보고들은 혈관조에 존재하는 Na-K-ATPase가 와우의 전압발생 및 내립프의 생성에 밀접하게 관여하고 있음을 시사한다. 와우에서 Na-K-ATPase 활성도의 종적인 변화는 내립프의  $\text{K}^+$  농도변화와 일치하며<sup>17)</sup>, Na-K-ATPase 억제제인 ouabain을 외립프에 주입하면 내외립프간의  $\text{K}^+$  및  $\text{Na}^+$  농도 경사가 소실되면서 막전압도 소실되며<sup>12,15,18,22,25)</sup>, 발생학적 연구에서 생후 12일과 18일 사이에 쥐의 혈관조의 Na-K-ATPase 활성도 및 내립프 막전압이 동시에 갑자기 증가하여 성체의 수준에 이르는 사설<sup>3,16,42)</sup> 등이 관찰된 바 있다. 이러한 여러 사실들을 종합해 볼 때 Na-K-ATPase는 막성와우의 기능에 결정적인 역할을 담당하고 있으며, 따라서 이 효소의 기능이 저해될 경우 내이의 청각기능에 이상이 초래될 것으로 사료된다.

임상에서 그람음성균 감염 치료에 널리 사용되고 있는 aminoglycoside 항생제들은 그 부작용으로 이독성 및 신독성을 유발하는 것으로 알려져 있다<sup>6,10,39)</sup>. 이러한 aminoglycoside 항생제의 신독성에 대해서 신장에서는 비교적 많은 연구가 수행되어 왔으며 aminoglycoside에 의해 Na-K-ATPase 기능이 억제됨이 보고된 바 있지만<sup>5,21,41)</sup> 내이의 Na-K-ATPase 활성도에 대한 aminoglycoside 항생제의 영향은 별로 연구된 바 없으며, 또한 신장에서도 aminoglycoside 항생제에 의한 Na-K-ATPase의 억제기전은 아직 밝혀진 바 없다.

따라서 본 연구에서는 토끼 막성와우 및 신장근위세뇨관 세포막의 Na-K-ATPase 활성도에 대한 gentamicin의 영향을 조사함으로써 aminoglycoside 항생제의 이독성 및 신독성 기전의 일부를 밝히려 하였다.

## 실험재료 및 방법

## 1) 실험동물

실험동물로는 체중 2~3kg의 Preyer반사가 정상이고 건강한 백색가토를 사용하였다.

## 2) 막성와우의 분리 및 homogenate 준비

Pentobarbital sodium (30mg/kg)을 복강내 주입하여 동물을 마취한 후 단두하여 봉소를 적출한 다음, 섭씨 4°C이하의 생리적 식염수 내에서 봉소를 개방하고 입체현미경하에서 와우를 찾아 막성와우를 제거한 후 막성와우를 적출하였다. 분리된 막성와우를 네개씩 합쳐 1.5ml의 homogenizing용액(250mM sucrose, 10 mM Hepes/Tris, pH 7.0)에 넣고 조직파쇄기(Potter homogenizer)로 충분히 갈아 균등액을 만든 다음 단백질농도가 약 0.25mg/ml되게 조

정하였다.

## 3) 신피질조직의 기저막 (basolateral membrane ; BLM) 분리

신장을 적출하여 꾀막을 벗기고 2~3mm 두께로 잘라 신피질만을 분리한 후 잘게 썰어서 냉각된 자당(sucrose)완충용액(250mM sucrose, 20mM Hepes/Trsi, pH 7.4)내에 1/10(w/v)의 비율로 넣고 조직파쇄기를 이용하여 1,500 rpm에서 25회 왕복하며 갈아서 조직 균등액(homogenate)을 만들었다. 균등액으로부터 기저막의 분리는 Kinsella 등<sup>14)</sup> 및 Scalera 등<sup>20)</sup>의 방법을 변형하여<sup>20)</sup> 다음과 같이 시행하였다(그림 1).

균등액을 냉동원심분리기(Sorvall RC-5B

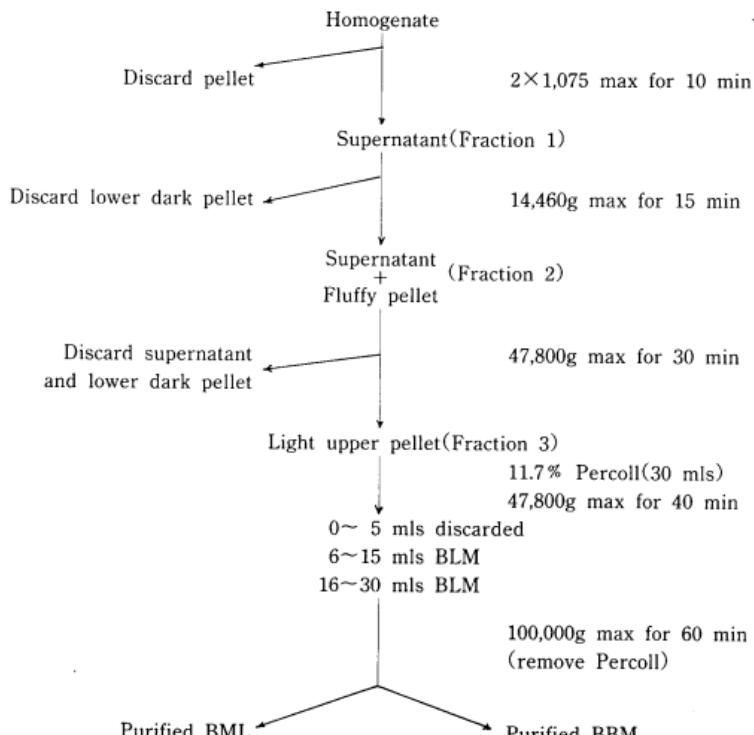


Fig. 1 Flow chart for isolation of brush-border and basolateral membranes from renal cortical homogenate.

Superspeed Centrifuge, ss-34 rotor)에서 1,075  $\times g$ 의 속도로 10분간 원심침전시킨 후 상층액만을 모으고 pellet을 원래 균등액량의 반정도 되게 자당 완충용액으로 희석하여 1,075  $\times g$ 로 10분간 원침한 후 상등액을 먼저 취한 상등액과 합쳤다(Fraction 1). 이것을 다시 14,460  $\times g$ 로 15분간 원침시켜 하부의 검은 pellet은 버리고 상등액과 pellet 중간의 연한 상층부분만을 모아 (Fraction 2) 다시 47,800  $\times g$ 에서 30분간 원침시켰다. 이것의 상층액과 하부의 검은 pellet은 버리고 fluffy layer만 모아서 26.5 ml가 되도록 자당완충액을 가한 후 (Fraction 3) 3.5ml의 Percoll원액 (Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Sweden)을 가하여 총량이 30ml, Percoll농도가 11.7%가 되게 한 다음 위아래로 혼들어 잘 혼합하고 47,800  $\times g$ 에서 40분간 원침시켜 밀도 구배 (density gradient)가 생기게 하였다. 그 다음 피펫을 사용하여 상층으로 부터 1ml씩 조심스럽게 분리하여 처음 4ml는 버리고 중간 5~15ml는 기저막 분획으로, 마지막 16~30ml는 세뇨관강막(brush-border membrane, BBM) 분획으로 하였다. 각각의 막분획을 초원심분리기(Sorvall OTD 75 Ultra Centrifuge)를 사용하여 100,000  $\times g$ 에서 1시간 동안 원침하여 하부에 침전된 Percoll층을 제거하였다. 기저막분획은 100mM mannitol, 100mM KCl, 10mM Hepes/Tris (pH 7.4)가 포함된 완충액으로 단백질 농도가 6~7mg/ml 되도록 희석하고 25gauge 주사침을 수회 통과시켜 막성분이 용액내에 고르게 분포되도록 하였다. 이렇게 분리된 기저막분획은 세뇨관강막의 혼입이 적은 비교적 순수한 기저막임이 누차 확인되었다<sup>13,19,20)</sup>. 분리된 기저막분획은 즉시 ATPase 측정에 사용하거나 -20°C에 사용할 때까지 저장하였다.

#### 4) ATPase 활성도 측정

막성와우 homogenate 및 신피질 기저막분획의 ATPase 활성도 측정에는 Jorgensen 및 Skou<sup>11)</sup>의 방법을 이용하였다. 막성와우 homogenate의 경우, 시료 0.1ml(0.025mg protein)를 0.5ml의 전배양용액(preincubation solution)에

넣고 60분간 37°C 항온수조내에서 전배양한 후 0.5ml의 Mg/ATP용액을 가하여 30분간 반응시킨 다음 0.2ml의 perchloric acid를 넣어 반응을 중지시키고 3,500  $\times g$ 로 15분간 원침시켜 상등액내에 유리된 무기인산염(Pi)을 정량하였다. 배양용액의 조성은 전체 ATPase 활성도 (즉 Na-K-ATPase + Mg-ATPase) 측정시에는  $Na^+$  130mM,  $K^+$  20mM, histidine 20mM,  $Mg^{2+}$  1mM, ATP 1mM, pH 7.4였으며 Mg-ATPase 측정시에는  $K^+$ 을 제외시키고 1mM의 ouabain을 첨가하였다. 신피질 기저막의 경우에는 기저막분획 50  $\mu l$ 를 50mM imidazole 및 0.6mg/ml의 deoxycholate가 포함된 용액(pH 7.4) 1ml에 가하여 60분간 37°C에서 전배양한 다음 혼합액을 100  $\mu l$ 씩 취하여 1ml의 배양용액에 넣고 20분간 배양하였다. 배양용액의 조성은 와우각 homogenate의 경우와 동일하였으며, 두 실험에서 모두 gentamicin의 영향을 조사할 때는 전배양액 및 배양용액내에 원하는 농도로 gentamicin을 첨가하였다. 동력학적 분석을 시행할 때는 ATP 농도를 0.5mM에서 3mM 까지 변화시켰는데 이때 Mg/ATP비는 항상 1/1이 되도록 조정하였다. 무기인산염(Pi)의 측정에는 Fiske와 SubbaRow<sup>9)</sup>의 방법을, 그리고 단백질 측정에는 Bradford<sup>10)</sup>의 방법을 사용하였다. ATPase 활성도는 mole Pi/mg protein /hr로 나타내었으며 membrane ATPase인 Na-K-ATPase의 활성도는 전ATPase 활성도(total ATPase activity)에서 Mg-ATPase활성도를 감하여 산출하였다.

## 결 과

#### 1. 막성와우 Na-K-ATPase에 대한 gentamicin의 영향

그림 2는 막성와우 homogenate를 1mM gentamicin이 포함된 용액(GM군)과 포함되지 않은 용액(대조군)에 각기 1시간 동안 전배양한 후 ATP를 가하여 30분간 효소반응을 측정하였다. 대조군의 경우 Na-K-ATPase활성도가 약 5mole Pi/mg protein/hr였으나 gentamicin

### Cochlea

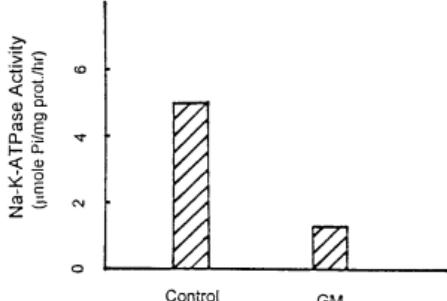


Fig. 2 Effect of gentamicin on the Na-K-ATPase activity of rabbit cochlear homogenate. The homogenate was preincubated for 60 minutes in the presence and absence of 1mM gentamicin and the ATPase activity was determined for 30 minutes at 37°C. Data represent the mean of 2 determinations in each group.

처치군에서는 그 값이 1.3mole Pi/mg protein/hr로서 65% 정도 억제되어 있었다.

### 2. 신피질 기저막의 Na-K-ATPase에 대한 gentamicin의 영향

그림 3은 신피질 기저막분획에서 측정된 Na-K-ATPase에 대한 gentamicin의 영향을 나타내는데, 기저막분획을 여러 농도(0~10 mM)의 gentamicin이 포함된 용액에 1시간 전배양한 후 10분간 효소반응을 측정하였다. Na-K-ATPase 활성도는 gentamicin농도가 증가함에 따라 점차 억제되어 10mM gentamicin 존재 시에는 대조군의 약 60% 수준을 나타내었다.

그림 4는 Na-K-ATPase에 대한 gentamicin의 영향을 동력학적으로 분석한 결과이다. 대조군에서나 gentamicin(5mM) 처치군에서나 모두 ATP 농도가 증가함에 따라 Na-K-ATPase활성도가 곡선적으로 증가하여 포화되는 경향을 보였으나 같은 ATP농도에서 비교할 때 gentamicin군의 효소활성도가 대조군에 비해 현저히 억제되어 있었다. 그림 5는 같은 성적을 Li-

### Renal BLM

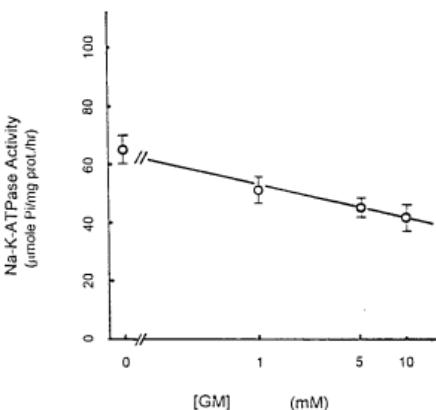


Fig. 3 Effect of gentamicin on the Na-K-ATPase activity of the rabbit renal cortical basolateral membrane. Membrane fractions were preincubated for 60 minutes in the absence and presence of gentamicin(1, 5 or 10mM) and the enzyme activity was determined for 20 minutes at 37°C. Data represent mean+SE of 3 determinations in each group.

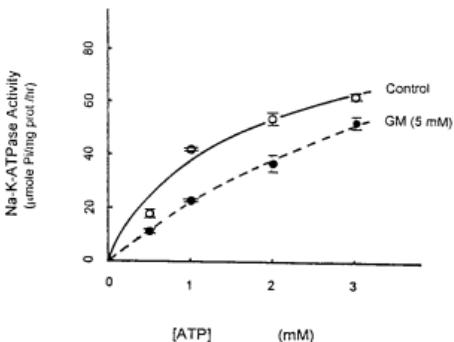


Fig. 4 Effect of gentamicin on the kinetics of Na-K-ATPase of rabbit renal cortical basolateral membrane. Membrane fractions were preincubated for 60 minutes in the absence and presence of gentamicin (5mM) and the enzyme activity was determined as a function of ATP concentration for 20 min.

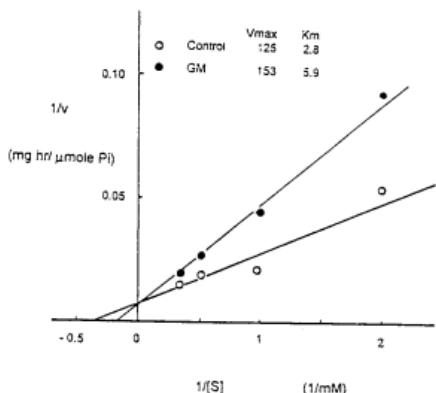


Fig. 5 Lineweaver-Burk plot of the gentamicin effect on the Na-K-ATPase activity of rabbit renal cortical basolateral membrane (Data based on Fig. 3). The unit for Vmax and Km is mole Pi/mg protein/hr and mM, respectively.

neweaver-Burk plot로 나타낸 것인데, 양군에서 모두 효소반응율의 역수와 기질농도의 역수간에 직선적인 상관성을 보여 Michaelis-Menten식<sup>31)</sup>을 따름을 보여주었다. 즉

$$v = \frac{V_{max}[s]}{K_m[s]} \text{ 또는 } \frac{1}{v} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{[s]}$$

(단, v는 효소반응율, [s]는 ATP농도, V<sub>max</sub>는 최대 반응율, K<sub>m</sub>은 Michaelis 항수)

따라서 상기 수식에 의거 동력학적 항수를 산출한 바, V<sub>max</sub>는 대조군에서 120mole Pi/mg protein/hr, gentamicin군에서 153mole Pi/mg protein/hr로 큰 차가 없었으나 K<sub>m</sub>은 대조군의 2.8mM에 비해 gentamicin군에서는 5.9mM로 2배 가량 증가되어 있었다. 이러한 성적은 gentamicin에 의해 Na-K-ATPase의 기질친화력이 감소되었음을 의미한다.

## 고 츠

Na-K-ATPase는 내이의 막전압형성 및 내립프생성에 중요한 역할을 담당하며<sup>11</sup>, 신장에서

는 사구체에서 여과된 Na<sup>+</sup>의 재흡수 뿐만아니라 각종 무기물 및 유기물의 재흡수와 분비를 위한 원동력을 마련하고, 삼투질 농도조절, 산-염기 조절에 관여하는 등 실로 신장기능의 종추적 역할을 수행한다<sup>39)</sup>. 본 연구에서 막성 와우 및 신피질조직의 Na-K-ATPase가 모두 gentamicin에 의해 억제되었는데(그림 1, 2) 이는 항생제 사용에 따른 이독성 및 신독성 발생의 중요한 기전 중의 하나가 Na-K-ATPase의 기능저해임을 시사한다.

Na-K-ATPase에 대한 aminoglycoside 항생제의 영향은 내이조직에서는 연구된 바 없지만 신장조직에서는 이미 보고되어 있다. 즉 Williams 등<sup>41)</sup>은 적출된 쥐신장의 관류 실험에서 관류액내에 gentamicin을 포함시킬 경우 신피질 기저막에 gentamicin이 결합되면서 Na-K-ATPase활성도가 감소되며, gentamicin 결합역제인 spermine을 쓸 경우 gentamicin의 억제효과가 소실됨을 관찰하였다. 또 Cronin 등<sup>5)</sup>은 gentamicin을 15mg/kg용량으로 1일 2회씩 4~7일간 근육주사 받은 개에서 신피질조직의 K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup> 및 PO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 함량이 감소되고 특히 저K<sup>+</sup>식이를 섭취한 동물에서는 Na-K-ATPase 활성도가 심하게 감소됨을 관찰하였다. 그 외에도 Lipsky와 Lietman<sup>21)</sup>은 정제된 개 신장 Na-K-ATPase를 이용하여 neomycin의 억제효과를 관찰한 바 있다. 그러나 이상의 연구에서 aminoglycoside 항생제에 의해 Na-K-ATPase의 기능 저해가 명확히 제시되진 하였지만 그 저해기전은 밝혀지지 않았다. 본 연구에서 gentamicin에 의해 Na-K-ATPase의 V<sub>max</sub>는 크게 변화되지 않았으나 K<sub>m</sub>은 현저히 증가되었다(그림 5). 이러한 성적은 gentamicin이 효소분자에 결합하여 마치 경쟁적 억제 물질과 같이 효소분자의 기질친화력(substrate affinity)을 감소시킴을 시사한다. 이러한 변화가 어떻게 유발되는지 명확히 알 수 없으나 아마도 세포막 지방질 조성에 이상이 초래된 결과 이차적으로 나타난 현상이 아닌가 추측된다. 이러한 추측은 다음과 같은 사실에 의해 뒷받침된다. 1) Na-K-ATPase는 세포막에 결합된 integral protein으로서 그 기능은 세포막의 인

지질(phospholipid)조성에 따라 크게 달라진다<sup>7,21</sup>. 2) In vitro에서 Na-K-ATPase에 대한 neomycin의 억제효과는 배양용액내에 phosphatidyl inositol을 포함시킬 경우 방지된다<sup>21</sup>.

3) 다가양이온인 aminoglycoside 항생제들은 신장 및 내이세포막의 산성인지질(특히 polyphosphoinositides, phosphatidyl inositol, phosphatidic acid)과 결합한다<sup>22,23,30</sup>.

이러한 사실들을 종합해 볼 때 aminoglycoside 항생제는 세포막의 산성인지질에 결합하여 세포막의 지방질 조성을 변화시키므로서 여러가지 membrane-bound protein의 기능을 변화시키는 것으로 사료되지만 세포막 지방질 조성 변화가 어떠한 기전으로 Na-K-ATPase의 기질친화력을 감소시키는지는 추후 연구를 통해 밝혀져야 할 것이다.

## 요 약

Gentamicin의 이독성 및 신독성 기전을 밝히기 위하여 토끼 내이의 막성와우 및 신피질의 Na-K-ATPase 활성도에 대한 gentamicin의 영향을 연구하였다. 막성와우의 효소활성도는 조직 homogenate에서, 그리고 신피질의 효소활성도는 순수분리된 기저막 분획에서 측정하였는데, 양 경우 모두 조직표본을 ATP가 포함된 용액내에 배양할 때 ATP로부터 유리되어 나오는 무기인산염의 양으로부터 효소활성도를 측정하였다. Gentamicin의 영향은 전배양(60분) 및 배양(신장에서 20분, 와우에서는 30분) 용액내에 gentamicin 존재시와 부재시의 효소활성도를 비교함으로써 결정하였다. 막성와우의 Na-K-ATPase 활성도는 1mM gentamicin에 의해 65% 정도 억제되었다. 신장의 Na-K-ATPase 역시 1~10mM의 gentamicin에 의해 의의있게 억제되었는데 그 억제 정도는 gentamicin농도에 비례하였다. 동력학적 분석결과 신장의 Na-K-ATPase 활성도 억제는 Vmax는 변화없이 Km이 증가하기 때문인 것으로 나타났다.

이러한 결과는 gentamicin이 와우와 신세뇨관세포에서 Na-K-ATPase활성을 억제함으로써

세포막을 통한 Na<sup>+</sup>과 K<sup>+</sup>의 능동적 이동기능을 저해하고 그 결과 내이 및 신장기능에 이상이 초래됨을 시사한다.

## 참 고 문 헌

- Bonting SL : Sodium-potassium activated adenosinetriphosphatase and cation transport. In : Membranes and Ion Transport. edited by Bittar EE. Vol.1, John Wiley & Sons, London, p257, 1970
- Bosher SK : The effect of inhibition of the strial Na-K-activated ATPase by perilymphatic ouabain in the quinea pig. Acta Oto Laryngol 90 : 219~229, 1980
- Bosher SK, Warren RL : A study of the electrochemistry and osmotic relationship of the cochlear fluids in the neonatal rat at the time of the development of the endocochlear potential. J Physiol (Lond) 212 : 739~761, 1971
- Bradford MM : A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 72 : 248~254, 1976
- Cronin RE, Bulger RE, Southern P, et al : Natural history of aminoglycoside nephrotoxicity in the dog. J Lab Clin Med 95 : 463~474, 1980
- Cummings CW : Otolaryngology-head and neck surgery. Mosby-Year Book Inc. St. Louis, Missouri, 1992
- Dahl JL, Hokin LE : The sodium-potassium adenosine triphosphatase. Ann Rev Biochem 44 : 327~356, 1974
- Davis H : Biophysics and physiology of the inner ear. Physiol Rev 37 : 1~49, 1957
- Fiske CH, SubbaRow YJ : The calorimetric determination of phosphorous. J

- Biol Chem 66 : 375, 1925
- 10) Humes HD, O'Connor RP : Aminoglycoside nephrotoxicity In : Diseases of the Kidney (Edited by Schrier RW, Gottschalk CG), Vol II, 4th ed, Little, Brown and Co. Boston/Toronto, p1229, 1988
  - 11) Jorgensen PL, Skou JC : Purification and characterization of Na-K-ATPase in preparations from the outer medulla of rabbit kidney. Biochim Biophys Acta 233 : 366~388, 1971
  - 12) Kerr TP, Ross MD, Ernst SA : Cellular localization of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase in the mammalian cochlear duct : significance for cochlear fluid balance. Am J Otolaryngol 3 : 332~338, 1982
  - 13) Kim KR, Lee HY, Kim CK : Alteration of renal amino acid transport system in cadmium-intoxicated rats. Toxicol Appl Pharmacol 106 : 102~111, 1990
  - 14) Kinsella JL, Holohan PD, Pessah NI, et al : isolation of luminal and antiluminal membranes from dog kidney cortex. Biochim Biophys Acta 552 : 468~477, 1979
  - 15) Konishi T, Mendelsohn M : Effect of ouabain on cochlear potentials and endolymph composition in guinea pigs. Acta Oto-Laryngol 69 : 192~199, 1970
  - 16) Kuijpers W : Na-K-ATPase activity in the cochlea of the rat during development. Acta Oto-Laryngol 78 : 341~344, 1974
  - 17) Kuijpers W, Bonting SL : Studies on (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)-activated ATPase : localization and properties of ATPase in the inner ear of the guinea pig. Biochim Biophys Acta 173 : 477~485, 1969
  - 18) Kuijpers W, Bonting SL : The cochlear potentials. I. The effect of ouabain on the cochlear potentials. II. The effect of ouabain on the cochlear endolymphatic resting potential. Pfluegers Arch 320 : 348~358, 1970
  - 19) Lee HY, Kim KR, Park YS : Transport kinetics of glucose and alanine in renal brush-border membrane vesicles of cadmium-intoxicated rabbits. Pharmacol & Toxicol 691 : 390~395, 1991
  - 20) Lee HY, Kim KR, Woo JS, et al : Transport of organic compounds in renal plasma membrane vesicles of cadmium intoxicated rats. Kidney Int 37 : 727~735, 1990
  - 21) Lipsky JJ, Lietman PS : Neomycin inhibition of adenosine triphosphatase : Evidence for neomycin-phospholipid interaction. Antimicrob Agents Chemother 18 : 532~535, 1980
  - 22) Marcus DC, Marcus NY, Thalmann R : Changes in cation contents of stria vascularis with ouabain and potassium-free perfusion. Hear Res 4 : 146~160, 1981
  - 23) Mees K : Ultrastructural localization of K<sup>+</sup>-dependent, ouabain-sensitive ATPase (Na-K-ATPase) in the guinea pig inner ear. Acta Oto-Laryngol 195 : 277~289, 1983
  - 24) Misrahy GA, Hildreth KM, Shinabarger EW : Electrical properties of wall of endolymphatic space of the cochlear(guinea pig). Am J Physiol 194 : 396~402, 1958
  - 25) Mizukoshi F : Localization of ouabain binding sites in the cochlea. A multi-disciplinary study. Ear Res Jpn 17(suppl) 1 : 44~51, 1986
  - 26) Nakai Y, Hilding DA : Electron microscopic studies of adenosine triphosphate activity in the stria vascularis and the spiral ligament. Acta Oto-Laryngol 62 : 411~428, 1966
  - 27) Orsulkova H, Stockhorst E, Schacht J : Effect of neomicin on phosphoinositide

- labeling and calcium binding in guinea-pig inner ear tissue in vivo and in vitro. *J Neurochem* 26 : 285~290, 1976
- 28) Sastrasinh M, Knauss TC, Weinberg JM : Identification of the aminoglycoside binding site in rat renal brush border membranes. *J Pharmacol Exp Ther* 222 : 350~358, 1982
- 29) Scalera V, Huang YK, Hildmann B : Simple isolation method for basal-lateral plasma membranes from rat kidney cortex. *Membr Biochem* 4 : 49~61, 1981
- 30) Schacht J : Isolation of aminoglycoside receptor from guinea pig inner ear tissues and kidney. *Arch Otorhinolaryngol* 224 : 129~134, 1979
- 31) Segel IH : Biochemical Calculations. 2nd ed. John Wiley & Sons, New York, 1968.
- 32) Sterkers O, Ferrary E, Amiel C : Production of inner ear fluids. *Physiol Rev* 68 : 1083~1128, 1988
- 33) Sterkers O, Ferrary E, Amiel C : Inter and intracompartmental osmotic gradient within the rat cochlea. *Am J Physiol* 247 (Renal Fluid Electrolyte Physiol) : F 602~606, 1984
- 34) Sterkers O, Ferrary E, Saumon G, et al : Na and nonelectrolyte entry into inner ear fluids of the rat. *Am J Physiol* 253 (Renal Fluid Electrolyte Physiol) : F 50~F58, 1987
- 35) Sterkers O, Saumon G, Tran Ba Huy P, et al : K, Cl, and H<sub>2</sub>O entry in endolymph, perilymph, and cerebrospinal fluid of the rat. *Am J Physiol* 243 (Renal Fluid Electrolyte Physiol) : F173~180, 1982
- 36) Sterkers O, Saumon G, Tran Ba Huy P, et al : Electrochemical heterogeneity of the cochlear endolymph : effect of acetazolamide. *Am J Physiol* 246 (Renal Fluid Electrolyte Physiol) : F47~53, 1984
- 37) Syka J, Melichar I, Ulehlova L : Longitudinal distribution of cochlear potentials and the K<sup>+</sup> concentration in the endolymph after acoustic trauma. *Hear Res* 4 : 287~298, 1981
- 38) Tasaki Y : Hearing. *Ann Rev Physiol* 19 : 417~438, 1957.
- 39) Valtin H : Renal Function : Mechanisms preserving fluid and solute balance in health. 1st ed. Little, Brown and Co., 1973
- 40) Von Bekesy G : DC resting potential inside the cochlear partition. *J Acous Soc Am* 24 : 72~87, 1952
- 41) Williams PD, Trimble ME, Crespo L, et al : Inhibition of renal Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-adenosine Triphosphatase by gentamicin. *J Pharmacol Exp Ther* 231 : 248~253, 1984
- 42) Woolf NK, Ryan AF, Harris JP : Development of mammalian endocochlear potential : normal ontogeny and effects of anoxia. *Am J Physiol* 250 (Regulatory Integrative Comp Physiol) : R493~498, 1986