

# 만삭전 조기양막파열 임부에서 amoxicillin와 erythromycin 병합 및 3세대 cephalosporin계와 metronidazole 병합 투여 후 정맥혈장내 지질과산화도, 단백질산화도 및 interleukin-6의 변화

전남대학교 의과대학 산부인과학교실<sup>1</sup>, 서남대학교 의과대학 산부인과학교실<sup>2</sup>

김윤하<sup>1</sup> · 김종운<sup>1</sup> · 김철홍<sup>1</sup> · 조문경<sup>1</sup> · 조혜연<sup>1</sup> · 주우철<sup>1</sup> · 강우대<sup>1</sup> · 김석모<sup>1</sup> · 이기호<sup>2</sup> · 송태복<sup>1</sup>

## Changes of Lipid Peroxidation, Protein Oxidation, and Interleukin-6 Levels after Treatment with Amoxicillin Plus Erythromycin and Third Generation Cephalosporin Plus Metronidazole in the Maternal Venous Plasma of Preterm Premature Rupture of Membranes

Yoon Ha Kim, M.D.<sup>1</sup>, Jong Woon Kim, M.D.<sup>1</sup>, Chul Hong Kim, M.D.<sup>1</sup>, Moon Kyoung Cho, M.D.<sup>1</sup>,  
Hye Yon Cho, M.D.<sup>1</sup>, U Chul Ju, M.D.<sup>1</sup>, Woo Dae Kang, M.D.<sup>1</sup>, Seok Mo Kim, M.D.<sup>1</sup>,  
Ki Ho Lee, M.D.<sup>2</sup>, Tae-Bok Song, M.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Chonnam National University Medical School, Gwangju,

<sup>2</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Seonam University College of Medicine, Namwon, Korea

**Objectives:** Objectives: This study was performed to compare changes of the lipid peroxide, the protein carbonyl groups, and interleukin (IL)-6 levels in the maternal venous plasma of preterm premature rupture of membranes (PPROM) after treatment with amoxicillin plus erythromycin and 3<sup>rd</sup> generation cephalosporin plus metronidazole.

**Methods:** Thirty patients with PPROM between 25 and 32 weeks of gestation were chosen for this study. Fifteen patients in group I were treated with amoxicillin plus erythromycin for 7 day period and the other 15 patients in group II were treated with 3<sup>rd</sup> generation cephalosporin plus metronidazole for the same period. Maternal blood was obtained before the antibiotics administration, day 3 and day 7 after the antibiotics administration. Each lipid peroxide levels, protein carbonyl groups, and IL-6 were measured by thiobarbituric acid reaction, 2,4-dinitrophenylhydrazine method, and ELISA kit. The levels of lipid peroxide and protein carbonyl in venous plasma of 20 normal pregnant women from 25 weeks to 32 weeks of gestation were measured.

**Results:** Lipid peroxide levels and protein carbonyl formation in the venous plasma of patients with PPROM was significantly higher than those of normal pregnant women ( $4.41 \pm 0.29$  vs  $3.57 \pm 0.36$  nmol/mg protein,  $P < 0.01$ ), ( $7.3 \pm 0.20$  vs  $5.66 \pm 0.32$  nmol/mg protein,  $P < 0.01$ ). There was no significant difference in lipid peroxide levels, protein carbonyl formation, and IL-6 of the venous plasma before the antibiotics administration, day 3 and day 7 after the antibiotics administration between group I and II.

**Conclusions:** Our results show that prophylactic antibiotics administration may not effect on the suppression of oxidative modification, especially without clinical inflammation symptoms at PPROM.

**Key words:** Preterm premature rupture of membranes, Maternal venous plasma, Lipid peroxide, Prooxidative stimulating activity, Combined antibiotics therapy

접수일 : 2010. 8. 29.  
주관책임자 : 김윤하  
E-mail : kimyh@chonnam.ac.kr

\* 이 연구는 2008년도 전남대학교병원 임상의학연구소 연구번호 CRI 08026-1 연구비에 의해 지원되었음.

조산은 생리학적으로 다양한 원인에 의해 발생하여 조산 증후군이라는 표현을 하기도 한다.<sup>1</sup> 조산은 여러 가지 다양한 경로 및 단계를 통하여 발생하는데, 자궁근

충과 태아막의 과도한 팽창, 탈락막 출혈, 조발 태아 내 분기계 성숙 및 자궁내 감염으로 구별되는 4가지 경로로 나눌 수 있으며 이것들은 한 가지 이상 나타나며 상호 작용을 할 수 있다.<sup>1-3</sup> 조산의 원인은 복잡하고 다양하지만, 결과적으로 크게 조기 양막파열, 조기분만진통, 모체 혹은 태아의 합병증에 의한 것으로 나뉘고 그 중 조기 양막파열은 조산의 35%를 차지한다.<sup>4-7</sup> 특히 자궁내 감염은 만삭전 조기양막파열의 주요한 원인이다. 그 중 이른 제태 주수에 양막파열된 경우 더 관련이 깊으며 자궁내 감염이 동반된 임신은 자궁수축 억제제의 실패, 조기분만, 임상적 용모양막염, 주산기 사망 및 신생아 이환의 위험도가 더욱 높다고 알려지고 있다.<sup>8</sup> 최근 이와 같은 조기진통 및 조기양막파열의 원인으로서는 자궁내 감염이 중요한 역할을 한다는 생각이 지배적이며 이를 예방하고 치료하기 위한 연구가 활발히 이뤄지고 있다.<sup>9-11</sup> 우리 몸의 염증에 대한 반응은 매우 복잡하지만 조기양막파열을 일으키는 염증성 반응은 염증세포에 의해 체내에서 산소 유리기를 생성하게 되고 지질과산화 반응을 일으키는 것으로 시작하게 된다. 이러한 산화 유리기를 통해 산화적 스트레스가 더욱 심해지며 결과적으로 교원질 분해효소의 생성을 증가시켜 양막에 손상을 준다고 보고되었다.<sup>12</sup>

생체는 산화제의 작용에 대항하여 다양한 항산화물질을 포함하고 있다.<sup>13,14</sup> 생체가 받는 산화적 스트레스는 결국 산화제의 발생정도와 이들에 대항하는 항산화제의 활성에 의해 결정된다. 이러한 항산화제들은 항산화제의 종류에 따라 생체 내 분포가 달라지며, 작용기전에 따라 반응하는 산화적 자극의 대상도 다양하다. 이 중 차아염소산(hypochlorous acid)은 여러 산화유리기 중 하나로서, 활성화된 중성구의 과립자에서 산화환원효소를 분비하고, 이것이 과산화수소(hydrogen peroxide,  $H_2O_2$ )와  $Cl^-$ 의 결합을 촉진시킨 후 차아염소산을 형성함으로써 양막과 용모막에서 교원질을 많이 파괴하여 양막파열을 일으킨다.

또한 단백질이 활성 산소종에 노출되면 여러 가지 변화를 일으키는데 특히 lysine, arginine, proline기는 carbonyl기를 형성한다. 단백질의 아미노산 중 단백산화변화의

지표로서 carbonyl기의 형성을 측정하는 것이 산화변화의 정도를 나타내는 명확한 수단으로 제시되었다.<sup>15</sup> 또한 자궁내 감염은 인터류킨(interleukin, IL)-6와 같은 염증성 사이토카인(cytokine)의 생성 및 분비를 촉진시키며, 자궁내 감염이 있는 조기 진통 임신부의 양수에서 IL-6의 증가 소견이 발견되어 조기양막파열 임부에서의 염증 정도를 평가하는 지표로 사용되어 왔다.<sup>11</sup> 한편 cephalosporin계 항생제가 혈장 단백질과 다른 단백질들에 산화적 변화를 잘 일으킨다는 결과가 발표된 바 있다.<sup>16</sup> 최근 만삭전 조기양막파열의 원인은 감염과 관련이 있음이 명백히 대두되어 짐에 따라 이와 연관된 연구 중, 조기양막파열의 임부의 정맥혈장에서 염증과 관련된 지질과산화반응이 증가하였고, 또한 항산화능은 감소하였음이 보고되었다.<sup>17</sup> 이 결과로 만삭전 조기양막파열 임부에서 지질과산화반응 및 단백산화 촉진능의 변화가 예상된다.

만삭전 조기양막파열 임부에 항생제 투여는 신생아와 임부의 이환을 감소시킨다. 현재까지는 cephalosporin, amoxicillin 및 erythromycin계 항생제를 단독 혹은 병합, 정맥주사 혹은 경구 투여가 많이 사용되고 있지만<sup>18</sup> 가장 좋은 약제와 사용기간에 대해서는 아직 논란이 많고 정립된 바가 없다. 따라서 어떤 약제를 어느 정도 사용하는 것이 신생아와 임부에 유익한지에 대해 더 연구가 절실히 필요한 실정이다.

본 연구에서는 만삭전 조기양막파열 임부에게 각기 amoxicillin계와 erythromycin계의 병합 투여 및 3세대 cephalosporin계와 metronidazole 병합 투여 후 정맥혈장내 지질과산화도와 단백산화도 및 IL-6를 비교분석하여 이들이 어떤 변화를 보이며, 어떤 영향을 미치는가에 대하여 밝히고자 하였다.

## 연구 대상 및 방법

### 1. 연구대상

본 연구는 2007년 1월부터 2009년 3월까지 전남대학교 병원에 내원한 환자 중, 임상적 용모양막염, 태아가

형, 진행되는 조기분만 진통 등이 없어 보존적 치료를 하기로 결정한 임신 25주 이상 32주 미만의 만삭전 조기 양막파열 임부 30명을 대상으로 하여 무작위로 배정하여 1군 15명은 amoxicillin (Foxolin<sup>®</sup>, Samjinpharm, Korea)와 erythromycin 항생제를 7일간 병합투여하고, 2군 15명은 3세대 cephalosporin계(cefodizime; Newdizime<sup>®</sup>, Deawoongpharm, Korea and cefditoren; Meiact Tab<sup>®</sup>, Boryung, Korea)와 metronidazole (Trizel<sup>®</sup>, Choongwae, Korea and Furacinil Tab<sup>®</sup>, CJ, Korea) 항생제를 7일간 병합 투여하였다. 각 군에서 투여 전과 투여 후 3일째, 7일째에 팔오금 중간정맥혈을 채취하였다. 25주 이상 32주 미만 정상 임부 20명의 정맥혈을 채취하여 지질과산화물과 단백질의 carbonyl기의 농도를 측정하였으며, 이를 실험군인 만삭전 조기양막 파열 임부 30명의 정맥혈 농도와 비교하였다. 임신주수의 결정은 월경력이 규칙적인 경우 최종 월경 초일을 기준으로 하였고, 월경력이 불규칙하거나 최종월경초일이 확실하지 않은 경우는 임신 초기의 임신반응검사 양성 시기, 임신 제 일삼분기 초음파 소견을 기초로 임신 주수를 예측하여 산정하였다. 만삭전 조기양막파열은 임신 37주 이전에 진통 전에 양막이 파열된 경우로 정의하였다. 양막의 파열은 질강내 양수의 확인과 nitrazine 용지의 반응, 자궁경부점액의 양치화 검사법 (ferning test)을 이용하였다. 본 연구는 전남대학교병원 임상시험센터 (Clinical Trial Center at Chonnam National University Hospital)에서 심의를 받았으며, 각각의 환자로부터 사전 동의를 받았다.

## 2. 정맥혈장 채취

정맥혈을 채취하여 1/9 용량의 3.8% sodium citrate가 들어 있는 tube에 넣은 다음 3,000×g, 4℃에서 10분간 원심하여 혈장을 분리하였다. 분리된 혈장을 -70℃에 동결보관하였으며 3주 이내에 사용하였다. 혈장 중의 단백질량은 Biuret 법으로 측정하였고 이때 소 혈청 알부민을 표준단백으로 삼았다.

## 3. 지질과산화물 측정

Ohkawa 등<sup>19</sup>이 기술한 방법을 이용하였다. 즉, 혈장 1 mL를 8.1% sodium dodecyl sulfate 0.1 mL, 20% sodium acetate (pH 3.5)에 녹인 0.8% TBA 0.5 mL와 증류수 0.15 mL와 섞고 95℃에서 1시간 가열한 다음 식히고 2.5 mL의 n-butanol/pyridine (15:1, v/v)와 0.5 mL의 증류수를 가하여 진탕한다. 이를 3,000×g에서 10분간 원심한 후 상층을 취하여 532 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 결과는 malondialdehyde (MDA)의 양으로 나타내었으며 이는 분자흡광계수 ( $E_M=1.56 \times 10^5$ )를 이용하여 계산하였다.

## 4. 단백질의 carbonyl기 함량 측정

시료 (단백량, 1 mg)를 각각 두 개의 원추형 원심관에 넣고 동일용량의 20% trichloroacetic acid (TCA)를 가하여 단백질을 침전시켰다. 한 부분의 단백질에는 2 N HCl을 가하고 다른 부분의 단백질에는 0.2% DNPH를 포함하는 2 N HCl을 가한 다음 실온에서 1시간 동안 부치하였다. 부치후 10% (최종농도) TCA로 단백질을 다시 침전시키고 이를 ethanol:ethyl acetate (1:1, v/v)혼합액으로 두 번 씻은 다음 20mM sodium phosphate (pH 6.5)를 포함하는 6 M guanidine-HCl에 녹이고 두 표본의 차스펙트럼 (difference spectrum)을 구하였다. 단백질의 carbonyl기 함량은 nmol/mg protein으로 나타내었으며 파장 360-390 nm 사이에서 나타나는 흡광봉의 지방족 hydrazone화합물들의 평균 분자흡광계수를 21.0/nmol/cm으로 삼아 산출하였다.<sup>20</sup>

## 5. IL-6 측정

IL-6은 혈장에서 cytokine 측정용 ELISA kit (R & D systems, Minneapolis, USA)로 측정하였다. IL-6 항원과 biotinylated polyclonal 항체를 배양하고 씻어낸 후 효소 (streptavidine-peroxidase)를 첨가하여 다시 배양하였다. Unbound enzyme을 씻어낸 후 bound enzyme과 반응하는 substrate enzyme을 가하여 색반응을 일으키고 450 nm파장에서 흡광도를 측정하여 농도를 구하였다.

## 6. 시약류

2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH), 소혈청 albumin, thio-barbituric acid (TBA)는 Sigma사(USA)에서 구입하였다. 증류수는 Barnstead사의 NANO pure cartridge system을 통과시켜 전기저항이 17 megohm/cm 이상 되는 것을 사용하였다.

## 7. 융모양막 조직학적 검사

말은 융모양막 (chorioamnion roll) 1개 절편을 hematoxylin과 eosin으로 염색하였으며, 제작된 모든 슬라이드는 IL-6 등에 대한 사전정보 없이 2명의 병리의사가 판독하였으며, 진단이 일치하지 않은 예는 토론 후 결정하였다. 양막 밑 공간에 백혈구들이 침착되어 있으면 조직학적 융모양막염이라 진단하였다.

## 8. 통계분석

검사수치는 평균±표준오차로 표시하였으며 대조군과, 각각의 항생제 조합을 사용한 만삭전 조기양막파열 임부의 차이에 대한 통계학적 유의성 검증은 Mann-Whitney U test를 사용하였다. *P* 값이 0.05 미만인 경우를 통계학적으로 의의가 있는 것으로 간주하였다.

## 결 과

### 1. 환자의 특성

대상 1군과 2군 간의 임부 나이, 분만력, 입원시 임신 주수, 분만시 임신 주수, 입원후 분만시까지 시간, 입원시 자궁경부길이, 입원시 양수지수, 조직학적 융모양막염, 및 출생 체중은 양군 간에 유의한 차이가 없었다 (Table 1).

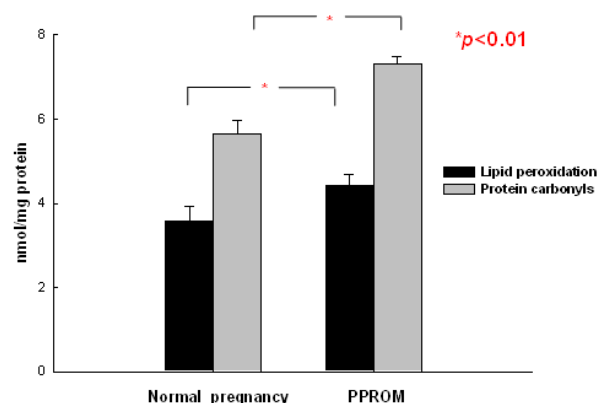


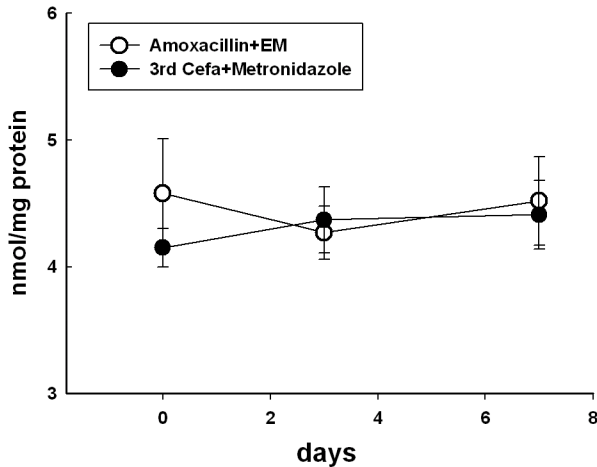
Fig. 1. Levels of lipid peroxide and protein carbonyl in the maternal venous plasma of normal pregnancy and preterm premature rupture of membranes. Values are expressed by mean±standard error.

Table 1. Characteristics of patients

	Amoxicillin erythromycin	3rd cephalosporin metronidazole	<i>P</i> value
Maternal age (years)	30.38±1.14	30.26±1.34	NS
Parity (number)	0.71±0.17	0.83±0.31	NS
Gestational age at admission (weeks)	29.71±0.71	28.94±1.07	NS
Gestational age at delivery (weeks)	32.62±1.01	32.74±2.01	NS
Time to delivery (days)	18.33±1.01	20.78±1.60	NS
CL at admission (mm)	28.16±2.15	22.84±1.30	NS
AFI at admission	13.51±1.08	12.18±1.18	NS
Histologic Chorioamnionitis (number)	9 (60%)	7 (46.6%)	NS
Birth weight (g)	1970±113	1946±128	NS

Data are expressed as mean±standard deviation or number (%).

CL: cervix length, AFI: amniotic fluid index.



**Fig. 2.** Levels of lipid peroxide in the maternal venous plasma during antibiotics therapy of preterm premature rupture of membranes. Values are expressed by mean  $\pm$  standard error.

## 2. 정상과 만삭전 조기양막파열 임부군의 정맥혈장내 지질과산화물과 단백질 carbonyl기 농도

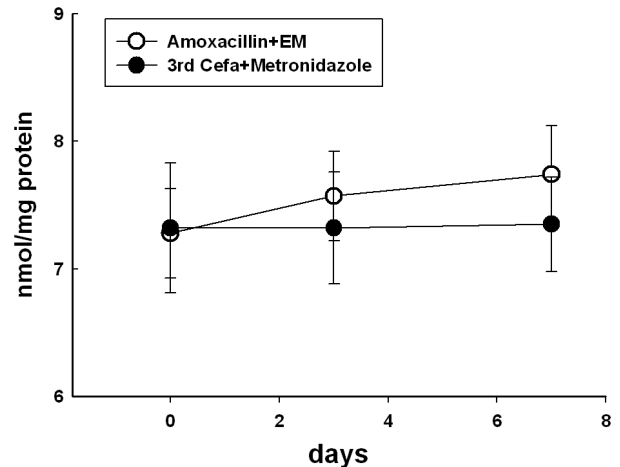
만삭전 조기양막파열 임부군 (30명)의 정맥혈장내 지질과산화물과 단백질 carbonyl기 농도는  $4.41 \pm 0.29$ ,  $7.3 \pm 0.20$  nmol/mg protein으로 정상 임부군 (20명)의  $3.57 \pm 0.22$ ,  $5.66 \pm 0.30$  nmol/mg protein보다 모두 유의하게 높았다 ( $P < 0.01$ ), ( $P < 0.01$ ), (Fig. 1).

## 3. 정맥혈장 지질과산화물 농도

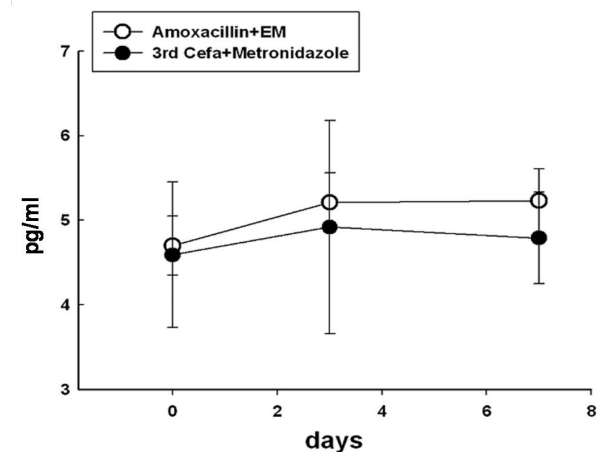
1군의 투여 전, 투여 3일째, 7일째 정맥혈장내 지질과산화물 농도는  $4.58 \pm 0.43$ ,  $4.27 \pm 0.21$ ,  $4.52 \pm 0.38$  nmol/mg protein으로 유의한 차이는 없었다. 2군의 투여 전, 투여 3일째, 7일째 정맥혈장내 지질과산화물 농도는  $4.25 \pm 0.15$ ,  $4.27 \pm 0.26$ ,  $4.41 \pm 0.27$  nmol/mg protein으로 유의한 차이는 없었다 (Fig. 2).

## 4. 정맥혈장 carbonyl기 함량

1군의 투여 전, 투여 3일째, 7일째 정맥혈장내 단백질의 carbonyl기 함량은  $7.28 \pm 0.35$ ,  $7.57 \pm 0.35$ ,  $7.74 \pm 0.38$



**Fig. 3.** Levels of protein carbonyl in the maternal venous plasma during antibiotics therapy of preterm premature rupture of membranes. Values are expressed by mean  $\pm$  standard error.



**Fig. 4.** Levels of IL-6 in the maternal venous plasma of preterm premature rupture of membranes. Values are expressed by mean  $\pm$  standard error.

nmol/mg protein으로 유의한 차이는 없었다.

2군의 투여 전, 투여 3일째, 7일째 정맥혈장내 단백질의 carbonyl기 함량은  $7.32 \pm 0.06$ ,  $7.32 \pm 0.06$ ,  $7.35 \pm 0.11$  nmol/mg protein으로 유의한 차이가 없었다 (Fig. 3).

## 5. IL-6 농도

1군의 투여 전과 3일째, 7일째 정맥혈장내 IL-6 농도는

4.70±0.35, 5.21±0.35, 5.23±0.38 pg/mL으로 유의한 차이는 없었다. 2군의 투여 전과 3일, 7일째 정맥혈장내 IL-6 농도는 4.59±0.86, 4.92±1.26, 4.79±0.54 pg/mL으로 유의한 차이는 없었다 (Fig. 4).

## 고 찰

조기양막파열 (premature rupture of membranes, PROM) 이란, 만삭이나 조산의 경우에 자연적인 진통이 있기 전에 태아 양막이 파열되는 경우를 말하고, 만삭전 조기양막파열 (preterm premature rupture of membranes, PPRM) 은 임신 37주 이전에 태아 양막이 파열되는 경우로 정의하고 있다.<sup>21</sup> 만삭 때 양막 파열은 반복된 자궁수축으로 인한 전단력과 생리적 변화에 의한 양막의 약화로 자연히 파열이 된다.<sup>4,6</sup>

만삭전 조기양막파열은 낮은 사회 경제적 위치, 임신 2-3분기 출혈, 19.8 미만의 체질량지수, 구리와 아스코르빈산의 영양결핍, 결체조직질환 (Ehlers-Danlos syndrome 등), 흡연, 자궁경부 원추절제술이나 봉축술을 시행한 경우, 임신 중 호흡기 질환, 자궁의 과팽창, 양수천자를 시행한 경우에 위험이 증가한다고 알려져 있었으며<sup>22-25</sup>, 그 재발 위험성은 16-32%로 특히, 조기양막파열로 인한 조산의 기왕력이 있는 경우, 임신 2분기에 자궁경부 길이가 25mm 미만으로 짧은 경우, 조기분만진통이 있는 경우나 임신 중 산모가 느낄 수 있을 정도의 자궁수축이 반복되는 경우 위험성이 증가한다.<sup>23,26</sup> 최근에는 자궁내 감염이나 염증성 반응이 조기양막파열의 중요한 원인으로 여겨지고 있으나 많은 수에서 명확한 근거가 없는 경우가 많기 때문에 예방보다는 양막파열 후 치료를 어떻게 할 것인지에 대한 연구가 더 중요하게 여겨지고 있다.

교원질은 태아막의 구성 성분으로서 강도를 유지시키는 역할을 한다. 사람의 몸에는 12종류 이상의 교원질이 있으며, 최소한 5종류의 교원질이 태아막의 탄성도와 강도를 유지하는 데 관련되어있다. Types I, III, V 및 VI은 세 가지 알파 사슬 (alpha chains)로 구성된 3중 나선구조로 이루어져 있다. 기저막에 있는 Type IV 교원질은 그물 망사 구조를 이루는 구 형태로 되어 있다. 교원질의

치밀층과 섬유층은 Type I, III, V, VI으로 구성되어 있고 태아막의 강도는 일차적으로 Type I에 의한다. 해면층과 그물층은 Type I, III, IV, V, VI로 구성되고 용모기저막은 Type IV만으로 구성되어 있다.<sup>27</sup> 교원질의 합성은 섬유모세포 (fibroblast)에서 이루어지며, 교원질의 분해는 matrix metalloproteinases (MMP)에 의해서 분해되며 MMP의 활성화는 MMP의 특이조직반응억제제 (specific tissue inhibitors)의 조절로 활성화된다. 태아막의 정상적인 유지는 섬유모세포에서의 교원질합성과 교원질 분해활성의 균형이 중요하며, 이 균형이 깨짐으로 인해 조기양막파열이 초래될 것으로 생각되고 있다.<sup>28</sup> 감염 또한 조기분만진통과 조기양막파열의 중요한 원인으로 널리 알려져 있다. 특히 *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacteroides melaninogenicus* 같은 metalloproteinase 생성 세균이 양막 교원질에 손상을 주어 양막파열의 원인이 되며 실험관 연구에서도 양막 탄력성이 손상되어 양막파열이 생겨남이 확인되었다. *Staphylococcus aureus*에 의해 활성화된 호중성백혈구 역시 양막을 약화시킨다고 하였는데 clindamycin이나 erythromycin을 투여하였을 경우 고농도 일수록 세균밀도와 단백분해효소가 감소되어 양막을 보호할 수 있다고 하였다.<sup>29</sup>

정상세포에서 지질막은 산소유리기에 의해 지질과산화반응이 일어날 수 있다. 지질과산화는 산화적 스트레스에 의한 반응으로 산소유리기에 의한 세포막이나 지질단백에 존재하는 다불포화 지방산 (polyunsaturated fatty acid)의 변화를 말한다. 산화제가 불포화 지질과 반응하여 연속적인 반응들이 나타나는데 생성된 지질유리기 (lipid radical)는 산소와 반응하여 과산화유리기 (peroxyl radical)를 거쳐 또 다른 불포화 지질과 반응하여 지질과산화수소 (lipid hydroperoxide)를 형성하고 이는 또 다른 지질과산화 반응이 연속되게 한다.<sup>30</sup> 흡연은 과잉산소 (superoxide), 과산화수소 (hydrogen peroxide), 수산화이온 (hydroxyl ion), 산화질소 (nitric oxide) 등이 포함되어 교원질을 손상시키고 항산화 방어기능을 소모시키고 항단백 분해능이 억제된다. 출혈은 적혈구 분해과정에서 생기는 유리이온 분비로 양막파열을 일으킬 수 있고 용모양막의 혈액이 무증상 세균증식의 배지 역할을 하기도 한

다.<sup>31</sup> 이와 같은 유리기의 공격은 효소 항산화제들 (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase)과 비효소 항산화제들 (예, vitamin C, E 등)에 의해 방어되는데 이러한 공격과 방어의 불균형은 불포화 지방산인 아라키돈산으로부터 프로스타글란딘, 프로스타사이클린, 트롬복산 및 류코트리엔 등을 생성시킨다고 하였다.<sup>32</sup> 산화제와 항산화제의 불균형은 유리산소에 의해 지질과산화물 합성 유도에 관여함으로써 교원질을 분해하는 효소의 생성과 관련이 있을 것으로 생각되고 있으며, 활성산소기의 지질과산화물 생성에 의한 조직손상이 만삭전조기양막파열의 병태생리에 관여한다고 본다.<sup>33</sup>

조직 내의 산화적 스트레스를 평가하는 데 하나의 지표로 단백질산화 촉진능을 사용할 수 있고, 어떤 경우에는 단백질의 산화적 변화가 지질과산화보다 산화적 스트레스 정도를 나타내는 데 더 유용한 지표가 될 수 있다. 각각의 산화제에 따라 우리 몸의 산화적 변화에 대한 민감성이 다르므로 산화적 스트레스를 평가하는 데 어떤 한 가지 물질의 산화적 변화만으로 판단하는 것은 좋지 않다.<sup>34</sup> 본 연구에서 만삭전 조기양막파열 임부군의 단백질의 carbonyl기 함량이 정상 임부군에 비해 증가되어 있음을 확인 할 수 있었으며, 이는 만삭전 조기양막파열 시에 단백질의 산화적 손상이 증가되어 있음을 보여주고 있다.

정 등<sup>16</sup>은 cephalosporin계 항생제가 생체 내에서 (in vivo) 뿐만 아니라 시험관 내에서 (in vitro) 혈장 단백질의 carbonyl기를 형성함을 보고하였다. Moxalactam과 cefotaxime을 투여 받은 환자에서 정상 대조군에 비해 혈장 단백질의 carbonyl기의 수치가 크게 증가하였으며, ampicillin이나 chloramphenicol을 투여 받은 경우에는 혈장 단백질의 carbonyl기의 수치에 큰 변화는 없었다고 했다. 이는 cephalosporin에 공통적으로 존재하는 아직 정확히 규명되지는 않은 특정 화학 구조 때문일 것이라 생각되나 아직 명확하게 밝혀진 바는 없다.<sup>35</sup> Moxalactam은 무슨 이유인지 밝혀지진 않았지만 사용 시 부작용으로 지금은 임상적 사용되지 않고 있다. 본 연구결과에서는 cephalosporin계와 ampicillin을 사용한 두 군의 단백질의 carbonyl기 형성 차이는 없었다. 이는 향후 추가적인 연구를 기

반으로 하여 만삭전 조기양막파열의 처치를 위한 항생제를 선택함에 있어 cephalosporin계 항생제의 사용의 타당성을 기대해 볼 수 있을 것이다. 32주 이전의 만삭전 조기양막파열의 경우 상행감염을 예방하여 임신을 유지함으로써 신생아 감염과 이른 제태주수에 의한 이환율을 감소시킬 수 있다는 연구는 많다.<sup>36</sup> NICHD-MFMU Research Network이 24주에서 32주 사이의 조기양막파열 임부를 대상으로 한 연구 결과 48시간 동안 ampicillin과 erythromycin을 병합하여 정맥주사 후 5일간 amoxicillin과 erythromycin 병합경구투여가 용모양막염을 감소시키고 분만을 3주까지 지연시켜 신생아 이환율을 향상시킬 수 있다고 하였다.<sup>37,38</sup> 또 다른 연구에서는 37주 이전에 만삭전 조기양막파열 후 erythromycin, amoxicillin-clavulanic acid, 혹은 두 가지 모두를 10일간 경구 항생제투여하여 유용성을 시험하였다. 결과는 erythromycin 경구투여가 7일 이내의 분만을 지연시켰고 부가적인 산소투여의 필요성을 감소시켰으며 사망, 만성 폐질환, 초음파상 주요한 뇌이상 등의 향상 없이 혈액배양의 빈도를 감소시켰다. 경구 amoxicillin-clavulanic acid는 7일 이내의 분만을 감소시켰고 부가적인 산소투여에 대한 필요성을 감소시켰지만, 다른 신생아의 병적인 상태는 감소시키지 못하면서 괴사성 장염의 위험을 증가시켰다. 따라서 amoxicillin-clavulanic acid는 신생아의 감염성 대장균의 위험을 증가시키기 때문에 피해야 한다고 하였다. 뿐만 아니라 분만 시까지 장기간 항생제를 투여하는 경우는 임부에 게 candidiasis, diarrhea, pseudomembranous colitis 및 항생제 내성균의 자궁내 감염을 초래할 수 있다고 하였다.<sup>39,40</sup> 본 연구에서는 3세대 cephalosporin계과 metronidazole 병합투여 요법을 했는데 이는 산부인과 감염의 주요한 역할을 하는 혐기성을 포함한 광범위 군주 예방치료를 기대했기 때문이다. 이와 같이 만삭전 조기양막파열에서 사용할 수 있는 항생제에 대한 연구 결과는 많으나 아직까지 가장 좋은 약제와 사용기간에 대해서는 논란이 많다.

본 연구에서는 만삭전 조기양막파열 시 정맥혈장에서 지질과산화와 단백질의 산화적 변화가 정상임신보다 증가되어 있음을 확인하였다. 그러나 만삭전 조기양막파열 시 보존적 요법으로 amoxicillin과 erythromycin의 병합

투여 및 3세대 cephalosporin계과 metronidazole 병합 투여를 했을 때 정맥혈장내 지질과산화물, 단백질의 carboxyl기, IL-6 함량의 변화에 대한 차이는 없었다. 이는 임상적으로 염증소견이 없는 경우에 만삭전 조기양막파열 임부에서 예방적 항생제 투여는 염증성 반응으로 발생되는 활성산소를 억제시키는 효과를 나타내지 못한 것으로 해석 할 수 있으며, 본 연구를 기반으로 한 추가적인 연구를 통해 만삭전 조기양막파열 임부에게 cost-effective하면서 주산기 사망률과 이환율을 줄일 수 있는 적절한 항생제를 선택하는 데 이바지 할 수 있을 것으로 사료된다.

## 참고문헌

- Romero R, Mazor M, Munoz H, Gomez R, Galasso M, Sherer DM. The preterm labor syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 734: 414-29.
- Smith R. Parturition. *N Engl J Med* 2007; 356: 271-83.
- Lockwood CJ, Kuczynski E. Risk stratification and pathological mechanisms in preterm delivery. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2001; 15 Suppl 2: 78-89.
- McLaren J, Taylor DJ, Bell SC. Increased incidence of apoptosis in on-labour-affected cytotrophoblast cells in term fetal membranes overlying the cervix. *Hum Reprod* 1999; 14: 2895-900.
- El Khwad M, Stetzer B, Moore RM, Kumar D, Mercer B, Arikat S, et al. Term human fetal membranes have a weak zone overlying the lower uterine pole and cervix before onset of labor. *Biol Reprod* 2005; 72: 720-6.
- Moore RM, Mansour JM, Redline RW, Mercer BM, Moore JJ. The physiology of fetal membrane rupture: insight gained from the determination of physical properties. *Placenta* 2006; 27: 1037-51.
- Grant J, Keirse MJNC editors. In *Effective Care in Pregnancy and Childbirth*. Oxford: Oxford University; 1989.
- Yoon BH, Romero R, Park JS, Kim CJ, Kim SH, Choi JH, et al. Fetal exposure to an intra-amniotic inflammation and the development of cerebral palsy at the age of three years. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 675-81.
- Romero R, Avila C, Brekus CA, Morotti R. The role of systemic and intrauterine infection in preterm parturition. *Ann NY Acad Sci* 1991; 622: 355-75.
- Yoon BH, Romero R, Kim CJ, Jun JK, Gomez R, Choi JH, et al. Amniotic fluid interleukin-6: a sensitive test for antenatal diagnosis of acute inflammatory lesions of preterm placenta and prediction of perinatal morbidity. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172: 960-70.
- Romero R, Sirtori M, Oyarzun E, Avila C, Mazor M, Callahan R, et al. Infection and labor. V. Prevalence, microbiology, and clinical significance of intraamniotic infection in women with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161: 817-24.
- Connors N, Merrill D. Antioxidants for prevention of preterm delivery. *Clin Obstet Gynecol* 2004; 47: 822-32.
- Cand F, Verdetti J. Superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase, and lipid peroxidation in the major organs of the aging rats. *Free Radic Biol Med* 1989; 7: 59-63.
- Frei B, England L, Ames BN. Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 6377-81.
- Levine RL, Williams JA, Stadtman ER, Shacter E. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 1994; 233: 346-57.
- Jung Y, Chay K, Song D, Yang S, Lee M, Ahn B. Protein carbonyl formation in blood plasma by cephalosporins. *Arch Biochem Biophys* 1997; 345: 311-7.
- Kim YH, Ahn BW, Yang SY, Kim CH, Cho MK, Lee KS, et al. Lipid peroxidation, Total Peroxyl Radical-Trapping Ability, and Antioxidant Vitamin Levels in Maternal Venous Plasma of Preterm Premature Rupture of Membranes. *Korean Journal of Obstetrics and Gynecology* 2004; 47: 342-8.
- Ha JA, Kim YH, Kim SM, Kim CH, Cho MK, Kim JW, et al. Changes in lipid peroxidation and protein oxidation by antibiotic therapy in the maternal venous plasma of preterm premature rupture of membranes. *Korean Journal of Obstetrics and Gynecology* 2009; 52: 707-16.
- Ohkawa H, Ohsishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-8.
- Oliver CN, Ahn B, Moerman EJ, Goldstein S, Stadtman ER. Age-related changes in oxidized proteins. *J Biol Chem* 1987; 262: 5488-91.
- Merenstein GB, Weisman LE. Premature rupture of membranes: Neonatal consequences. *Sem Perinatol* 1996; 20: 375-80.
- Harger JH, Hsing AW, Tuomala RE, Gibbs RS, Mead PB, Eschenbach DA, et al. Risk factors for preterm premature rupture of fetal membranes: a multicenter case-control study. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 130-7.
- Mercer BM, Goldenberg RL, Meis PJ, Moawad AH, Shellhaas C, Das A, et al. The Preterm Prediction Study: prediction of preterm premature rupture of membranes using clinical findings and ancillary testing. The National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: 738-45.
- Hadley CB, Main DM, Gabbe SG. Risk factors for preterm premature rupture of the fetal membranes. *Am J Perinatol* 1990; 7: 374-9.
- Gold RB, Goyert GL, Schwartz DB, Evans MI, Seabolt LA. Conservative management of second-trimester postamniocentesis fluid leakage. *Obstet Gynecol* 1989; 74: 745-7.
- Guinn DA, Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW, Thom E, Romero R. Risk factors for the development of preterm premature rupture of the membranes after arrest of preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 1310-5.
- Fortunato SJ, Menon R, Lombardi SJ. Collagenolytic enzymes (gelatinases) and their inhibitors in human amniochorionic membrane. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177: 731-41.
- Athayde N, Edwin SS, Romero R, Gomez R, Maymon E, Pacora P, et al. A role for matrix metalloproteinase-9 in spontaneous rupture of the fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 1248-53.
- McGregor JA, Schoonmaker JN, Lunt BD, Lawellin DW. Antibiotic inhibition of bacterially induced fetal membrane weakening. *Obstet Gynecol* 1990; 76: 124-8.
- Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991; 11: 81-128.



31. Woods JR Jr. Reactive oxygen species and preterm premature rupture of membranes-a review. *Placenta* 2001; 22 Suppl A: S38-44.
32. Clavel JP, Emerit J, Thuillier A. Lipid peroxidation and free radicals. Role in cellular biology and pathology. *Pathol Biol (Paris)* 1985; 33: 61-9.
33. Geesin JC, Gordon JS, Berg RA. Retinoids affect collagen synthesis through inhibition of ascorbic-induced lipid peroxidation in cultured human dermal fibroblasts. *Arch Biochem Biophys* 1990; 278: 350-5.
34. Halliwell B, Gutteridge JMC. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 1990; 280: 1-8.
35. Uchida K, Kato Y, Kawakishi S. A novel mechanism for oxidative damage of prolyl peptides induced by hydroxyl radicals. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 169: 165-71.
36. Egarter C, Leitich H, Karas H, Wieser F, Husslein P, Kaider A, et al. Antibiotic treatment in premature rupture of membranes and neonatal morbidity: a metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 589-97.
37. Mercer BM, Miodovnik M, Thurnau GR, Goldenberg RL, Das AF, Ramsey RD, et al. Antibiotic therapy for reduction of infant morbidity after preterm premature rupture of the membranes. *JAMA* 1997; 278: 989-95.
38. Kenyon SL, Taylor DJ, Tarnow-Mordi W. Broad spectrum antibiotics for preterm, prelabor rupture of fetal membranes: the ORACLE I randomized trial. ORACLE Collaborative Group. *Lancet* 2001; 357: 979-88.
39. Owen J, Groome LJ, Hauth JC. Randomized trial of prophylactic antibiotic therapy after preterm amnion rupture. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 976-81.
40. Johnston MM, Sanchez-Ramos L, Vaughn AJ, Todd MW, Benrubi GI. Antibiotic therapy in preterm premature rupture of membranes: A randomized, prospective, double-blind trial. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 743-7.

## 「국문초록」

**목적:** 만삭전 조기양막파열 임부에게 각기 amoxicillin계와 erythromycin계의 병합 투여 및 3세대 cephalosporin계와 metronidazole 병합 투여 후 정맥혈장내 지질과산화도와 단백질산화도 및 interleukin (IL)-6를 비교분석하여 이들이 어떤 영향을 미치는 가에 대하여 밝히고자 하였다.

**연구방법:** 보존적 치료 적응증이 되는 임신 25주 이상 32주 미만의 만삭전 조기양막파열 임부 30명을 대상으로 하여 1군 15명은 amoxicillin계와 erythromycin계 항생제를 7일간 병합 투여하고, 2군 15명은 3세대 cephalosporin계 (cefodixine, cefditoren)와 metronidazole계 항생제를 7일간 병합 투여하였다. 각 군에서 투여 전과 투여 후 3일째, 7일째 팔오금 중간정맥혈을 채취하고 원심분리 하여 혈장을 얻었다. 지질과산화물 농도와 단백질의 carbonyl기 함량 및 IL-6을 측정하였다. 25주이상 32주 미만 정상 임부 20명의 정맥혈을 채취하여 지질과산화물과 단백질의 carbonyl기의 농도를 측정하였으며, 이를 실험군인 만삭전 조기양막파열 임부 30명의 정맥혈 농도와 비교하였다.

**결과:** 만삭전 조기양막파열 임부군 (30명)의 정맥혈장내 지질과산화물 농도와 단백질의 carbonyl기 함량은  $4.41 \pm 0.29$ ,  $7.3 \pm 0.20$  nmol/mg protein으로, 정상 임부 (20명)  $3.57 \pm 0.22$ ,  $5.66 \pm 0.32$  nmol/mg protein보다 모두 유의하게 높았다 ( $P < 0.01$ ), ( $P < 0.01$ ). 대상 1군 및 2군의 투여 전, 투여 3일째, 7일째 정맥혈장내 지질과산화물 농도, 단백질의 carbonyl기 함량 및 IL-6 농도는 유의한 차이가 없었다.

**결론:** 만삭전 조기양막파열 시 정맥혈장에서 지질과산화와 단백질의 산화적 변화가 증가되어 있었다. 그러나 amoxicillin과 erythromycin의 병합투여 및 3세대 cephalosporin계과 metronidazole 병합 투여 요법으로 정맥혈장내 지질과산화물, 단백질의 camonyl기 함량 및 IL-6의 변화에 대한 차이는 없었다. 임상적으로 염증소견이 없는 경우 만삭전 조기양막파열 임부에서 예방적 항생제 투여는 염증성 반응으로 발생하는 활성산소를 억제시키는 효과를 나타내지 못한 것으로 사료된다.

**중심 단어:** 만삭전 조기양막파열, 임부정맥혈장, 지질과산화물, 단백질산화 촉진능, 항생제 병합요법