"이 논문은 1993년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음"

당뇨환자의 치은조직내 Superoxide Dismutase와 Catalase의 활성도에 관한 실험적 연구

조선대학교 치과대학 치주과학교실*
조선대학교 치과대학 구강조직학교실*

김병옥*, 이강진*, 박주철*

Ⅰ. 서 론

산소 유리기가 atherosclerosis, cancer, rheumatoid anthritis, drug-induced toxicity, postischemic reoxygenation injury, parasitic infection, 그리고 viral infection과 같은 특정질환의 병인 발생에 있어서 중요한 역할을 담당한다는 개념이 점차 인정되고 있는데[37], 이러한 유리기는 염증세포와 여러 호기성 세포들의 사립체 호흡사슬에서 생성될 수 있다[24,27,29].

O_2^-, H_2O_2, 그리고 OH^-과 같은 산소 유리기들은 정상적인 세포 대사의 반응산물로서, 최초의 대사물인 O_2^-은 세포 대사에 있어서 전자이동 동안에 NADPH가 $NADP^+$로 산화될 경우에 발생하게 된다(반응식 1).

$$NADPH \longrightarrow 2O_2^- + NADP^+ + H^+$$
(반응식 1)

이 O_2^-은 용액 내에서 superoxide dismutase (SOD)에 의해서 H_2O_2로 전환되며(반응식 2), 이반응이 일어남과 동시에 O_2^-는 또한 H_2O_2와 상호작용하여 hydroxyl radical(OH^-)을 형성할 수 있다(반응식 3).

$$O_2^- + O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$
(반응식 2)

$$H_2O_2 + O_2^- \longrightarrow OH^- + OH^- + O_2$$
(반응식 3)

$$2H_2O_2 \xrightarrow{catalase} 2H_2O + O_2$$
(반응식 4)

따라서 호기성 세포는 O_2^-을 H_2O_2로 바꾸는 금속 함유효소인 SOD와, H_2O_2를 물과 산소로 바꾸는 catalase의 작용에 의해 O_2^-와 H_2O_2로부터 자신을 보호하게 되며, 궁극적으로 가장 강력한 산화제인 OH^-의 생성을 방지하게 되어 자신을 보호하게 된다(반응식 4).

치주조직의 파괴에 관여할 수 있는 한 인자로서 산소유리기 생성에 관한 연구를 살펴보면, 국소 유년형 치주염과 급속 진행형 치주염에 이환된 각각의 환자들의 말초 혈액내 다형핵백혈구에 의한 O_2^-와 H_2O_2의 생성에 관하여 주로 연구되었는데, Charon등(1985)[13]은 치태세균들의 산소대사에 대한 영향을 규명하고자 건강한 사람의 말초 혈액내 중성구와 치은연상치태 또는 치은연하치태를 각각 배양시킨 후 H_2O_2 생성에 관하여 연구한 결과 치은연하치태중 *Bacteroides gingivalis*와 *Actinobacillus actinomycetemcomitans*는 중성구의 산소대사를 억제시킬 수 있음을 보고하였으며, van Dyke등(1986)[38]은 다형핵백혈구의 화학주성에 결함이 있는 국소 유년형 치주염환자에서 말초 혈액내 다형핵백혈구에 의한 O_2^-의 생성은 정상이라고 보고하였으나, Asman등(1988)[8]은 유년형 치주염환자들에서 말초 혈액내 다형핵백혈구에 의한 O_2^-생성이 증가 되었다는 상반된 결과를

보고하였으며, Kimura등(1993)[28]은 성인형 치주염, 국소 및 전신유년형 치주염 환자의 말초혈액내 다형핵백혈구에서의 과산화수소 생성이 증가되었으나 치석제거술, 치근면 활택술에 의한 초기 치료 후 정상으로 회복된 바 치주질환자들에서 다형핵백혈구가 반응성의 산소대사 산물을 생성할 수 있는 능력을 측정하므로써 치은의 염증상태를 평가할 수 있을 것이라고 보고하였다.

당뇨병은 췌장의 Langerhans섬의 베타 세포의 기능 결핍이나 기능저하로 인한 고혈당과 뇨로의 당분의 배설을 특징으로 하는 대사성 질환으로서, 비조절성 당뇨병의 경우 구각염과 갈라지는 경향, 작열감, 타액분비의 감소, Candida albicans, Hemolytic Streptococci와 Staphylococci가 우월해지는 구강상주균의 변화, 치아맹출 형태의 변화, 치아의 타진에 대한 미감한 반응, 법랑질 저형성증의 빈도 증가와 치아우식증의 빈도의 증가, 다발성 치주농양, 치은증식및 출혈, 설태, 치주인대 공간의 비후와 같은 소견을 나타낼 수 있다[1,12].

당뇨병과 관련된 산소유리기 및 항산화효소에 관한 연구로서 Matkovic(1977)[32], Crouch등(1978)[15], Grankvist등(1981)[19], Loven등(1983)[31], 그리고 Högglöf등(1983)[23]은 당뇨병시 항산화효소의 활성 변화에 관하여 연구하였으며, 특히 Gandy등(1982)[17]은 당뇨를 발생시킬 수 있는 약물들이 랑거한스섬의 베타세포의 독성을 나타낼 때 O_2가 개제됨과 SOD의 활성이 억제되어 나타남을 보고하면서 이 항산화효소가 베타세포의 기능유지에 관련이 있음을 보고하였으며, Buse등(1983)[11]도 SOD가 당뇨를 발생시킬 수 있는 약물들에 대해 랑거한스섬의 베타세포를 보호한다고 보고하였다.

본 연구는 항산화효소들이 산소유리기를 소거하여 조직손상에 대해 보호 역할을 담당한다는 여러 연구 결과를 토대로, 당뇨에 이환된 치주질환자의 치은조직내에서 SOD와 catalase의 활성 변화, 그리고 혈당치와 항산화효소의 활성변화, 환자의 나이, 그리고 치은염증과 관련이 있는지를 구명하는데 있다.

II. 연구대상 및 방법

1. 연구대상

인슐린 비의존성 당뇨에 이환된 당뇨환자들의 염증성 치은조직내에서 superoxide dismutase (SOD)와 catalase의 활성변화, 혈당치와 항산화효소의 활성변화, 환자의 나이, 그리고 치은염증과 관련이 있는 지를 구명하기 위하여 조선대학교 부속 치과병원 치주과에 내원한 환자들 중 전신건강이 양호하고 최근 1년 이내에 항생제 복용이나 치주치료의 경험이 없으며 Page와 Schroeder의 분류(1982)[36]에 의하여 성인형 치주염에 이환된 환자 20명을 염증군으로 선정하였으며, 내원한 환자들 중에서 당뇨환자의 신체상태변화가 0[3]인 인슐린 비의존성 당뇨에 이환된 당뇨환자 8명을 당뇨군(혈당수치 : 120－160ml/dl, 평균 : 13.567ml/dl)으로 선정하였고, 정상군으로는 치간유두출혈지수가 0 또는 1, 그리고 치은지수가 0 또는 1로 타나난 제 3대구치 발치, 또는 임상적 치관 확장술을 요하는 환자 11명을 선별하였다. 대상 환자의 연령분포는 33세에서 66세(평균 44.62세)였으며, 그 대상은 남자로만 한정하였다.

2. 연구방법

질환군과 당뇨군 공히 치주낭의 깊이(Michigan 0 probe를 이용)가 6mm이상이며, 치은지수가 2이상이며 치간유두출혈지수(Saxer와 Mühleman : PBI)[6]는 3이상인 환자들의 치은조직을 이용하였다.

(1) 치은조직 준비

치은조직은 국소마취하에서 발치나 치주수술도중 낭상피, 접합상피, 그리고 치은 결합조직을 포함한 근심치간유두조직에서 치은조직편을 얻은 후, 생리 식염수에 세척하여 혈액을 제거하고 실험할 때까지 영하 80℃에 냉동보관하였다.

치은조직의 무게를 습중량으로 측정한 다음 그 무게의 20배에 해당하는 무게에 이르도록 50mM인산 완충액(pH 7.0)을 가한 후 homoge-

nizer(ULRRA-TURRAXT 25, Germany)로 균질화하였고, 균질액은 4℃에서 12,000×g로 10분간 원심분리(Micro-centrifuge MH-2, U.S.A.)하여 상청액을 효소 활성을 위한 시료로 사용하였다.

(2) Superoxide dismutase(SOD) 활성도 측정

SOD 활성도는 Crapo등(1978)[14]의 방법에 따라 측정되었는데, 측정원리는 xanthine이 xanthine oxidase에 의하여 uric acid로 전환될 때 부산물로 생성되는 O_2^-이 cytochrome c를 환원시키는데, SOD가 O_2^-을 소거하여 cytochrome c 환원량이 감소되므로 이 억제된 cytochrome c 환원량으로서 활성을 측정하는 것이다(반응식 1,2,3).

Xanthine + O_2 ---------> Uric acid + O_2^-
(반응식 1)

cytochrome c(oxidized) + O_2^-
$\xrightarrow{\text{xanthine oxidase}}$ cytochrome c(reduced) + O_2 (반응식 2)

$O_2^- + O_2^- + H_2O \xrightarrow{SOD}$
H_2O_2 (반응식 3)

시약

100mM sodium phosphate buffer(pH 7.8)	500ml
0.5mM xanthine solution	10ml
0.1mM cytochrome c solution	10ml
dilted xanthine oxidase solution	5ml
10mM EDTA solution	5ml
2mM KCN solution	10ml

방법

시험관에 0.1mM EDTA와 0.2mM KCN를 함유한 100mM phosphate buffer(pH 7.8) 2.3ml에 0.5mM xanthine 0.3ml와 0.1mM cytochrome c 0.3ml를 넣고 혼합한 후 25℃에서 3분 동안 방치한 후 cuvette으로 옮겨 xanthine oxidase 용액을 가하여 550nm에서 1분간 변화되는 흡광도를 측정하여 흡광도는 증가속도가 매 분당 0.020이 되게 xanthine oxidase 양을 조절하였다. total-SOD의 활성도는 상기 조건에서 시료 0.05ml를 가하여 흡광도 증가의 억제 정도를 측정하였으며, cytochrome c의 환원 속도를 50% 억제하는 효소의 양을 1unit(U)로 표시하였다. Mn-SOD 활성도는 효소 반응액에 KCN을 2mM이 되게 가하여 상기와 같은 방법으로 측정하였다. CuZn-SOD의 활성도는 total-SOD의 활성치에서 Mn-SOD의 활성치를 뺀 값으로 하였다.

(3) Catalase 활성도 측정

Catalase 활성도는 Aebi(1983)[7]의 방법에 따라 측정되었다. 즉 5mM phosphate buffer (pH 7.0) 2.0ml에 100mM H_2O_2용액 0.98ml와, 조효소액 0.02ml를 넣은 후 240nm에서 1분 동안에 변화되는 흡광도를 UV-spectrophotometer(Gilford instrument Lab. U.S.A.)를 이용하여 측정하였으며, 효소의 활성도는 1분 동안에 1uM의 H_2O_2를 분해시키는 효소량을 1 unit로 하였다.

(4) 단백질 정량

단백질 정량은 Lowry등(1951)[31]의 방법에 의하여 측정하였으며, 표준 단백 시료로는 Bovine Serum albumin(1mg/ml)을 이용하였다.

(5) 통계처리

본 연구에서의 통계처리는 통계프로그램인 SPSS/SP+를 이용하였는데, 얻어진 각 집단들의 측정치들에 대해서는 일원변량 분산분석(사후검정은 Scheffe's method)을 하였고, 당뇨와 환자의 나이, 치은지수 그리고 항산화효소들간에는 상관관계분석을 하였다. 통계학적 유의성은 p값이 0.05 미만인 경우를 유의한 것으로 판정하였다.

III. 연구성적

정상군에 대해 염증군과 당뇨군의 CuZn-superoxide dismutase(CuZn-SOD)와 Mn-supe-

Table 1. Comparison of activity of CuZn-SOD, Mn-SOD, and Catalase among normal, inflammatory and diabetic groups(unit : U/mg protein) (mean ± S.D)

group		CuZn-SOD		Mn-SOD	Catalase
normal	(11)@	5.4755± 1.7625	*	2.1200± 0.7000	57.9927± 17.5763
inflammatory	(20)	5.5450± 1.7244		1.5793± 0.3141	64.4571± 16.6734
diabetic	(8)	5.4683± 0.7947		1.7483± 0.1569	66.0400± 23.7510

* : $P<0.05$,
@ : number of samples

Tabe 2. Correlation between blood glucose level and patient's age, gingival index and antioxidants.

	D. M.	G. I.	Mn.	CuZn.	Cat.	Age
D. M.	1.0000					
G. I.	.5103*	1.0000				
Mn.	.0027	-.2964	1.0000			
CuZn.	.0445	.0279	.0273	1.0000		
Cat.	.1237	.1739	.1486	-.1652	1.0000	
Age	.0851	.3494	-.0922	.2340	.2479	1.0000

* $P<0.05$
D. M. : diabetes mellitus. Mn : Mn-SOD. CuZn. : CuZn-SOD. Cat. : catalase

roxide dismutase(Mn-SOD) 그리고 catalase의 활성 차이를 분석하였으며, 혈당치와 치은지수, 환자의 나이 그리고 항산화효소들간의 상관관계를 분석하였다.

(1) 항산화효소의 활성도

각 집단별 CuZn-SOD, Mn-SOD, 그리고 Catalase의 활성이 Table 1과 같이 나타났는데, Mn-SOD의 활성도에서만 집단간의 평균차이는 통계적으로 유의하였으며, 사후검정결과 정상군과 염증군에서만 차이가 있었으며($P<0.05$), 당뇨군에서 항산화효소의 활성은 정상군과 염증군에 비교하여 유의성이 없었다($P>0.05$).

(2) 혈당치와 치은지수, 환자의 나이 그리고 항산화효소들간의 상관관계

혈당치와 환자의 나이, 치은 염증을 평가하는 치은지수, 그리고 항산화효소와의 상관관계는 Table 2와 같다. 치은지수와 당뇨환자의 혈당치간에만 상관관계가 있었으며($P<0.05$), 항산화효소의 활성도는 나이에 따른 변화가 없었다($P>0.05$). 그리고 당뇨환자의 신체상태변화가 0인 당뇨 환자들의 염증성 치은조직내 항산화효소의 활성변화와 혈당치간에서도 상관관계가 없었다($P>0.05$).

Ⅳ. 총괄 및 고안

산소 유리기의 생성은 일산의 호기성 대사의 일부이지만 이 물질들은 고도로 반응성이며 조직내에 많이 존재할 경우 collagen, hyaluronic acid 그리고 proteoglycan과 같은 세포외 기질 성분의 depolymerization에 영향을 끼칠 뿐만 아니라, 세포의 단백질, 핵산 그리고 막지질의 파괴에 활성을 나타낼 수 있다[10,20,21]. 따라서 숙주세포 뿐만 아니라 세균들은 호기성

환경에서 생존하기 위해서 이 산소 유리기를 제거할 수 있는 정교한 효소체계를 갖추어야만 한다[11].

Superoxide dismutase(SOD)는 O_2^-가 과산화수소와 산소로 전환되는 것을 촉진하는 금속함유 효소로 진핵세포의 세포질내에 존재하는 CuZn-SOD, 그리고 영장류의 세포질내와 사립체의 내강내에 국한되어 존재하는 Mn-SOD 두 종류가 있으며[23,37], 세포질내에 존재하는 catalase는 하나의 막으로 둘러싸인 세포소기관인 peroxisome내에서 과산화수소를 물과 산소로 분해하는 효소로, 포유동물과 cytochrome system을 가진 호기성 세포에 광범위하게 분포되어 있는데 포유동물의 간세포나 적혈구내에 고농도로 존재하여 과산화수소에 의한 산화적 손상으로 부터 세포를 보호해주는 중요한 역할을 한다[5].

당뇨는 일반적으로 치은염이나 치주낭을 형성하지는 않으나 치주질환에 이환된 경우 국속적인 자극인자와 교합력에 대한 치주조직의 반응을 변화시켜 골소실을 촉진시킨다는 이론이 받아들여지고 있으나, 혈당치 정도와 치주조직상태에 관하여서는 이론이 분분한 상태이다[9,16,22].

본 연구에서의 당뇨환자들은 뇨당검사에서 (++)이면서 혈당치가 180mg/dl 이하인 남자들만 선택하여 치은조직내 항산화효소의 활성도를 측정한 바, Mn-SOD의 활성도만이 정상군과 염증군에서 차이가 있었으며, 당뇨군은 정상군에 비하여 활성도가 감소되었으나 유의성이 발견되지 않았다.

Ohno등(1991)[35]은 당뇨에 이환된 환자들의 혈청내에서 CuZn-SOD의 농도가 감소되었으며, 갑상선 기능항진증이나 뇌하수체 기능 부전증인 경우에서는 Mn-SOD의 농도가 감소되었음을 보고하면서 조직내의 효소 농도도 감소될 것임을 제시하였으며, 김(1994)[2]도 치은염 및 염증성 치주질환의 치은조직내에서 Mn-SOD의 활성이 질환의 심도에 따라 감소되었음을 보고하였고, 황(1995)[4]은 치주염 환자의 혈장에서 SOD의 활성이, 그리고 적혈구내에서는 catalase의 활성이 정상군에 비하여 유의성있게 감소함을 보고하였다. 본 연구에서는 당뇨환자의 염증성 치은조직내 항산화효소의 활성의 변화가 나타나지 않았다.

혈당치와 항산화효소에 관하여, 염증성 치은조직내 항산화효소 활성이 당뇨군에서 정상군에 비교하여 감소하는 되었으나 유의성이 없었던 것과 염증성 치은조직내 항산화효소의 활성도가 혈당치에 의해 크게 영향을 받지 못한 점 등을 고려해 보면 당뇨환자의 신체 상태변화가 0인 경우에 염증성 치은조직내 항산화효소의 활성도는 혈당치간에는 상관관계가 있었는데, 이것은 혈당치의 증가에 따라 치주조직상태가 유의성있게 변한다는 Finestone(1967)[16], 김등(1993)[1]의 연구와 일치하였는데, Barnett등(1984)[9]은 혈당량이 증가하면 비후된 혈관벽 때문에 영양공급이 충분히 이루어지지 않아 저항력 및 대사성의 감소때문에 치주질환이 증가할 수 있다고 하였다.

또한 항산화효소의 활성변화와 연령에 관한 연구로 Glass와 Gershon(1981)[18], 그리고 Im과 Hoopes(1984)[25]는 SOD의 활성이 연령에 따라 감소된다고 보고하였고, Niwa등(1989, 1990)[33,35]은 연령에 따라 효소 활성 변화가 없는 것으로 보고하였는데, 본 연구에서도 항산화효소의 활성변화와 연령간에 상관관계가 없었다.

그러나 혈당치가 높을수록 치은지수가 높은 상관관계를 나타낸 것과, 염증성 치은조직내 항산화효소 활성이 당뇨군에서 정상군에 비교하여 감소는 되었으나 유의성이 없었던 점, 그리고 염증성 치은조직내 항산화효소의 활성도가 혈당치에 의해 크게 영향을 받지 못한점 등은 당뇨나 염증이 있을 때 항산화효소의 활성이 감소되었다는 여러 연구의 결과와 상반된 결과이나 본 연구만으로는 그 이유를 설명할 수 없으므로 다른 요인들이 관여하는지에 관하여 연구되어야 할 것으로 사료된다.

본 연구는 통상의 치과처치를 받을 수 있는 당뇨환자의 신체상태변화가 0인 경우만을 선택된 제한된 실험으로, 혈당치가 치은조직내 항산화효소의 활성 변화에 영향을 끼치지 못함을 밝혀으나, 향후 당뇨환자의 신체상태변

화가 1이상인 환자에서의 치은조직내에서 항산화효소의 활성 변화, 산소 유리기에 의한 손상으로부터 자신을 보호할 수 있는 glutathione, asocrbic acid, sulfhydryl group, uric acid, vitamine A, vitamine E 및 bilirubie등과 같은 비효소계 항산화물질들[38]의 치은조직의 병리발생에 있어서의 역할, 그리고 염증성 치은조직내에서 활성 변화가 나타난 Mn-SOD에 대해서 보다 폭넓은 연구가 있어야 하리라 사료된다.

V. 결 론

인슐린 비의존성 당뇨에 이환된 당뇨환자들의 염증성 치은조직내에서 superoxide dismutase (SOD)와 catalase의 활성변화, 혈당치와 항산화효소의 활성변화, 환자의 나이, 그리고 치은염증과 관련이 있는지를 구명하기 위하여 조선대학교 부속 치과병원 치주과에 내원한 환자들 중 전신건강이 양호하고 최근 1년 이내에 항생제 복용이나 치주치료의 경험이 없는 성인형 치주염에 이환된 환자 20명을 염증군으로 선정하였으며, 내원한 환자들 중에서 당뇨환자의 신체상태변화가 0인 인슐린 비의존성 당뇨에 이환된 당뇨환자 8명을 당뇨군(혈당수치 : 120－160ml/dl, 평균 : 135.67mldl)으로 선정하였고, 정상군으로는 치간유두출혈지수가 0 또는 1, 그리고 치은지수가 0 또는 1로 나타난 환자 11명을 선별하였다. 대상 환자의 연령분포는 33세에서 66세(평균 44.62세)였으며, 그 대상은 남자로만 한정하였다. 치은조직내 항산화효소중 SOD(CuZn-SOD는 Crapo등의 방법에 따라, catalase는 Aebi의 방법에 따라 각각 활성변화를 UV-spectrophotometer로 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 항산화효소의 활성도는 정상군에 비하여 염증군에서 Mn-SOD의 활성이 유의성 있게 낮게 나타났으며($P<0.05$), 당뇨군에서 항산화효소의 활성은 정상군과 염증군에 비하여 유의성이 없었다($P>0.05$).
2. 항산화효소의 활성도는 나이에 따른 변화가 없었다($P>0.05$).
3. 혈당치가 높을수록 치은지수도 높았다($P<0.05$).
4. 당뇨환자들의 염증성 치은조직내 항산화효소의 활성변화와 혈당치간에는 상관관계가 없었다($P>0.05$)

이상의 제한된 실험내에서의 결과들은 항산화효소중 Mn-SOD의 활성도가 치은조직의 염증상태를 반영할 수 있다는 것과, 당뇨환자의 신체상태변화가 0인 당뇨 환자들의 염증성 치은조직내 항산화효소의 활성변화와 혈당치간에는 상관관계가 없음을 시사하였다.

참고문헌

1. 김현섭, 김병옥, 한경윤 : "당뇨병 환자의 치주건강 상태에 대한 임상적 연구", 「대한치주과학회지」 23 : 27－36, 1993.
2. 김병옥 : "치주질환 심도에 따른 치은조직내 superoxide dismutase와 catalase의 활성변화에 관한 연구", 치의학 박사학위 논문, 경희대학교, 1994.
3. 정상창, 이승우, 김영구 : 「구강내과학」 고문사, 129－137, 1984.
4. 황승환 : "치주염 환자의 혈장과 적혈구내 Superoxide dismutase와 Catalase 활성도에 관한 연구", 치의학 석사학위 논문, 조선대학교, 1995.
5. 박동기 : Lehninger 생화학, 유한문화사, 33－64, 505－549, 1986.
6. 치주과학교수협의회 : 「치주과학」, 지영문화사, 개정판, 96－114, 370－380, 1992.
8. Asman, B. : "Peripheral PMN cells on juvenile periodontitis". J. Clin. Periodontol., 15 : 360－364, 1988.
9. Barnett, M. L., Baker, R. L., Yancey, J. M., MacMillian, D. R., and Kotoyan, M : "Absence of periodontitis in a population of insulin-dependence diabetes(IDDM) patients", J. Periodontol., 55 : 402－405, 1984.

10. Bartold, P. M., Wiebkin O. W., and Thonard J. C. : "The effect of oxygen-drived free radicals on gingival proteoglycans and hyaluronic acid". J. Periodontal Res., 19 : 390−400, 1984.
11. Buse, M. G., Gandy, S. E., and Crouch, R. K. : SOD protects B-cells against diabetogenic drgus in rats and in isolated caine islets.(in Oxy Radicals and Their scavenger systems, Vol. II : Cellular and Medical Aspects), Elsevier Science Pub. Co., Inc. 119−124, 1983.
12. Carranza, F. A. : Glickman's Clinical Periodontology, 7th ed. Saunders, 342−372, 446−450, 1990.
13. Charon, J., Suzuki, B., Collison, B., and Capron, A. : "Influence of bacterial preparation on PM oxygen metabolism measured by chemiluminescence". J Dent Res. Abst(1810), 1985.
14. Crapo, C. H., McCord, J. M., and Fridovich, I. : Preperation ans assay of superoxide dismutase. Methods in enzymology, eds fleischer, S. and packer, L. Academic press, New York., 53 : 382−389, 1978.
15. Crouch, R. G., Kimsey, D. G., Sarda, P. A., and buse, M. g. : "Effect of streptozotocin on erythrocyte and retinal superoxide dismutase". Diabetologia, 15 : 53−57, 19 78.
16. finestone, A. J., and Boorujy, S. R. : "Diabetes mellitus and periodontal disease", Diabetes, 16 : 363−340, 1967.
17. Gandy, S. E., Buse, M. G., and Crouch, R. K : "Protective role of superoxide dismutase against diabetogenic drugs", J. Clin. Invest., 70 : 650−658, 1982.
18. Glass, G. A., and Gershon, D : "Enzymatic changes in rat erythrocytes with increasing cell and donor age : Lose of superoxide dismutase activity associated with increase in catalytically defective forms", Biochem Biophys Res Commun 103 : 1245, 1981.
19. Grankist, K., Marklund, S. L., and Taljedal, I. B. : "CuZn-superoxide dismutase, Mn-superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in pancreatic islets and other tissuess in the mouse". J. Biochem., 199 : 393−398, 1981.
20. Greenwald, R. A., Moy, W. W. and Lazarus, D. : "Degradation of cartilage proteoglycans and collagen by superoxide radical". Arthritis and Rheumatism, 19 : 799, 1976.
21. Greenwald, R. A. and Moy, W. W. : "Inhibition of collagen gelation by action of the superoxide radical". Arthritis and Rheumatism, 22 : 251−1979.
22. Gusberti, F. A., Syed, S. A., Bacon, G., Grossman, N., and Loesche, W. J. : "Puberty gingivitis in insulin-dependent diabetic children", CuZn superoxide dismutase, Mn superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in lymphocytes and erythrocytes in insulin-dependent diabetic children", J. Periodotol., 54 : 714−720, 1983.
23. Hägglöf, B., Marklund, S. L. and Holmgren : "CuZn superoxide dismutase, Mn superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in lymphocytes and erythrocytes in insulin-dependent diabetic children". Acta Endocrinologica., 102 : 235−239, 1983.
24. Hinkel. P. C., Butow, R. A., Racker, E., and Chance, B. : "Partial resolution of the enzymes catalyzing oxidative phosphorylation". J. Biochem., 242 : 5169, 1967.
25. Im, M. J., and Hoopes, J. E. : "Age-dependent decreases in superoxide dismutase activity in rat skin", J Invest Dermatol., 82 : 437(A), 1984.
26. Jan Lindhe : Textbook of Clinical Perio-

dontology, 2nd ed. Munksgarrd, 129－192, 1989.
27. Jesen, P. K. : "Antimycin-insensitive oxidation of succinate and reduced nicotinamide adenine dinucleotide in electron transport particle". Biochim. Biophysi. Acta., 122 : 157, 1966.
28. Kimura S., Yonemura T., and Kaya H. : "Increased oxidative product formation by peripheral blood polymorphonuclear leukocytes in human periodontal diseases". J. Periodontal Res., 28 : 197－203, 1993.
29. Loschen, G., Flohe, L., and Chance, B. : Respiratory chain-linked H_2O_2 production in pigeon heart mitochondria. FEBS, Lett., 18 : 261, 1971.
30. Loven, D., Oberley, L., Schel, H., and Wilson, H. : Superoxide dismutase activities in jejunum and kidney of diabetic rats treated with insulin and glutathione.(In Oxygen Radicals and Their Scavenger Systems, II Cellular and Medical Aspect) Elsevier Science Pulishing Co., Inc., 17－21, 1983.
31. Lowry, O. H., Rosenbroough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : "Protein measurement with folin the phenol reagent". J. Biol. Chem., 193 : 256－277, 1951.
32. Matkovics, B. : Superoxide and Superoxide Dismutasse, Michelson, A. M., McCord, J. M., and Fridovich, I. ed., Academic Press, New York, 501－523, 1977.
33. Niwa, Y., Kasama, T., Miyachi, Y., Kanoh, T. : "Neutrophil chemotaxis, phagocytosis and parameters of reactive oxygen species in human aging : Cross-sectional and longitudinal studies". Life Sci., 44 : 1655, 1989.
34. Niwa, Y., Ishimoto, K., and Kanoh, T : "Induction of Superoxide Dismutase in Leukocytes by Paraquate : Correlation with Age and Possible Predictor of Longevity, Blood, 76(4) : 835－841, 1990.
35. Ohno, H., Matsuura, N., Ishikawa, M., Sato, Y., Endo, Y., and Taniguchi, N. : "Serum manganese-superoxide dismutase in patients with diabetes mellitus and thyroid dyfunction as judged by and ELISA". Horm. metabe. Res., 23 : 449－451, 1991.
36. Page, R. C. and Schroeder, H. E. : Periodontitis in man and other animals : A comparative review. Karger, 45 : 47, 19 82.
37. Stocker, R., and Frei, B. : Endogenous antioxidant defences in human blood plasma(in Oxidative Stress and Antioxidants), Academic Press Ltd., 213－242, 19 91.
38. Va Dyke, T. E., Zinney, W., Winkel, K., Taufiq, A., Offenbacher, S., and Arnold, R. R. : "Neutrophil function in localized juvenile periodontitis, phagocytosis, superoxide production and specific granule relese", J. Periodontol., 57 : 703－707, 1986.

AN EXPERIMENTAL STUDY ON SUPEROXIDE DISMUTASE- AND CATALASE- ACTIVITY IN GINGIVAL TISSUES IN DIABETIC PATIENTS

Byung Ok Kim*, D.D.S., M.S.D., Ph.D., Kang Jin Lee*, D.D.S., M,S.D.,
Joo Cheol Park**, D.D.S.,M.S.D.

** Dept. of Periodontology, School of Dentistry, Chosun University*
***Dept. of Oral Histology, School of Dentistry, Chosun University*

Oxygen derived radicals(O_2^-, H_2O_2, and OH^-) are thought to play a role in a lot of human diseases. And it has been believed that antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD) and catalase could protect the tissues from damage resulting from the oxygen derived free radicals.

The purpose of this study was performed to investigate the activity of the SOD(CuZn- and Mn-SOD) and catalase in inflammatory gingival tissues and the correlation between boold glucose level and antioxidants and age in non-insulin dependent diabetes mellitus(NIDDM) patients.

For this study, the patients were classified into normal, inflammatory, and diabetic, and ten their papillary bleeding index(PBI) and gingival index were checked. Subjects consisted of 11 healthy patients with no inflammatroy gingiva, 20 adult periodontitis patients, and 8 diabetic patients, aged 33 to 66(average : 44.62). The blood glucose level of diabetic group was ranged from 120ml/dl to 160ml/dl(physical status 0 : averge : 135.67ml/dl).

Gingival tissues were surgically obtained from the patients during periodontal surgery, extraction, and clinical corwn lenghening procedure. The activity of CuZn and Mn- SOD and catalase in the gingival tissues was measured by using UV-spectrophotometer by the same methods that Crapo et al. and Aebi did, respectively.

The results were as follows :

1. The Mn-SOD activity was significantly lower in inflammatory group in comparison to normal group($P<0.05$), and the activities of antioxidants in diabetic group were not significant in comparison to normal inflammatory group($P>0.05$).
2. The activities of antioxidants showed little variation among individuals of different ages ($P>0.05$).
3. The higher blood glucose level was, the higher gingival index was($P<0.05$).
4. There was no correlation between blood glucoe level and activity of antioxidant in inflammatory gingival tissues of NIDDM patients($P>0.05$).

In conclusion, these results, within the limits of the present experiment, suggest that the activity of Mn-SOD might reflect the inflammatory status of gingival tissue, and the activity of antioxidants was independent of blood glucose level of diabetic patients in physical status 0.