

## 피부 화상으로 유도된 간 손상에서 Allopurinol의 효과

조현국\*, 윤종국<sup>1</sup>, 박원학<sup>2</sup>

경운대학교 안경광학과, <sup>1</sup>계명대학교 공중보건학과, <sup>2</sup>영남대학교 생물학과

### Allopurinol Decreases Liver Damage Induced by Dermal Scald Burn Injury

Hyun Gug Cho\*, Chong-Guk Yoon<sup>1</sup> and Won-Hark Park<sup>2</sup>

Department of Visual Optics, Kyungwoon University, Kyungbuk 730-852, Korea

<sup>1</sup>Department of Public Health, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

<sup>2</sup>Department of Biology, Yeungnam University, Kyungbuk 712-749, Korea

(Received January 22, 2001)

#### ABSTRACT

In order to investigate a pathogenesis of liver damage induced by skin burn, thermal injury was induced by scald burn on entirely dorsal surface in rats (total burn surface area 20~25%) except for inhaled injury. At 5 and 24 h after scald burn, biochemical assay and morphological changes in serum and liver tissue were examined.

Skin burn increased liver weight (% of body weight,  $p < 0.05$ ) and the activity of serum aniline amino-transferase (ALT,  $p < 0.05$ ), in addition, the activity of xanthine oxidase (XO), an enzyme of oxygen free radical generating system, was elevated ( $p < 0.01$ ) in serum, but not in skin and in liver. Postburn treatment of allopurinol intraperitoneally decreased liver weight, serum ALT activity and serum XO activity. Scald burn induced ultrastructurally swelling of endoplasmic reticulum, ribosome detachment, accumulation of lipid, dilatation of bile canaliculi and intercellular space, neutrophil infiltration, activation of Kupffer's cells and degeneration of hepatocytic microvilli. Furthermore, thermal injury decreased not only the protein concentration in plasma but also the number of intravascular leukocytes, that indicates induction of edema formation with protein exudation and inflammation by neutrophil infiltration into the internal organs. However allopurinol injection after burn inhibited post burn ultrastructural changes.

These data suggest that acute dermal scald burn injury leads to liver damage, that is related to elevation of xanthine oxidase activity in serum. Xanthine oxidase may be a key role in the pathogenesis of liver damage induced by skin burn.

**Key words** : Scald burn, Liver, Xanthine oxidase

\* Correspondence should be addressed to Dr. Hyun Gug Cho, Dept. Visual Optics, Kyungwoon University, 55 Induk-ri, Sandong-myun, Kum Kyungbuk 730-852, Korea. Ph.: 054-479-1333, E-mail: hgcho@kyungwoon.ac.kr  
Copyright © 2001 Korean Society of Electron Microscopy

## 서 론

화상은 오래 전부터 세계적으로 사고로 인한 사망률에 대단히 큰 영향을 미쳐 왔던 손상으로 지금까지도 재난 시 환자의 수용문제와 비싼 치료비로 인해 많은 어려움을 안고 있다. 최근 화상 환자의 임상 결과에 대한 통계적 분석을 보면 화상 환자의 28.1%가 multiple organ dysfunction syndrome (MODS) 증상을 보이며, MODS 환자의 78~98%가 사망에 이른다 고 하였다(Huang et al., 1998). 이렇듯 MODS는 화상 연구에 있어서 매우 중요한 관건으로 떠오르고 있지만 아직까지 MODS의 발병을 예방·치료하는데 많은 어려움을 겪고 있는 실정이다. 특히 지난 20년 동안 화상으로 유도된 MODS는 환자의 사망률을 높이는 데 가장 중요한 원인의 하나가 되어 왔다(Aikawa, 1996; Barie & Hyde, 1996).

심한 화상은 보호장벽인 피부층의 붕괴가 곧 높은 감염의 원인이 되고, 이것으로 인한 많은 장기들의 기능 부전으로 말미암아 죽음에 이르게 된다(Hansbrough et al., 1984). 이러한 결과에 대한 추론은 20여 년 전부터 최근까지 면역학적 상호반응, 그리고 pro-inflammation과 antiinflammation 반응의 불균형으로 초래되는 손상 때문에 쇼크와 장기부전이 발생된다고 하였다(Shorr et al., 1984; Faist et al., 1996). 화상과 관련된 면역물질들을 살펴보면, interleukin-2는 다양한 장기의 부종을 야기시키는 인자로 작용하고 특히, 호중구의 침윤을 유도할 뿐만 아니라 혈관 투과성에 변화를 초래하는 platelet을 활성화 시킨다고 하였다. 그리고 화상 환자의 대부분이 interleukin-1, complement, platelet 그리고 혈관 내피세포의 활성화가 관찰된다고 하였으며, 이것은 곧 이러한 물질들과 혈관 내피세포들간의 양성한 상호작용을 통해 혈관 투과성의 활성화에 영향을 미친다는 것을 의미하는 것이다(Kowel et al., 1997). 하지만 이러한 면역반응을 주도하는 매개체는 어떤 경로를 통해 생성·촉진되는지에 대한 해답은 주지 못하고 있다. 이런 문제들은 오래 전부터 연구되어져 왔는데 그 주류를 이루고 있는 것이 바로 산화적 손상 메카니즘이다. 산화적 손상에 대한 경로는 크게 두가지로 설명되고 있으나,

이 두가지 과정은 결코 독립적으로 존재하는 것이 아니라 상호 밀접한 관계를 가지고 있다는 사실이다. 즉 첫 번째 산화적 손상의 원인은 유해산소를 생성하는 xanthine oxidase (XO)의 증가로 인한다는 것과, 두 번째 염증세포의 축적에 의한 oxidative stress의 증가로 인한다는 것이다. 하지만 이 첫 번째 과정과 두 번째 과정 사이에는 지질과산화와 이로 인한 지질 유도체의 형성이라는 과정이 연결되어 있다. 잘 알려진대로 화상이 유발되면 조직은 허혈로 인해 다양한 형태의 세포 기능이상 발생된다. 허혈은 연속적으로 shock, reperfusion의 단계를 거치는 동안 유해산소가 생성되어 피부조직 피사와 타 장기의 손상을 초래하는 것으로 알려져 왔다(Hatherill et al., 1986; Till et al., 1989; Demling & LaLonde, 1990).

피부 화상으로 유도된 간 조직의 손상에 대한 보고들을 살펴보면, Sabeh et al.(1995)은 30% total burn surface area (TBSA) 유발시간 조직 내 malondialdehyde 함량은 증가되고 glutathione (GSH)의 함량은 감소된다고 하였으며, Youn et al.(1998)은 20% full thickness burn을 유발시킨 후 지질과산화가 증가되고 GSH의 함량과 catalase 활성도가 감소된다고 하였다. 또한 Haycock et al.(1997)은 피부 화상으로 항산화해독능력이 현저히 감소된다고 하여 유해산소로 인해 손상이 유발되었음을 주장하였다. 한편 Gurbuz et al.(1997)은 화상 유발 후 초기에 간 조직 내 호중구의 축적이 나타난다고 하여 급성 염증반응에 의한 산화적 손상이 초래될 것이라고 하였다. 또 다른 간 손상의 원인에 대해 Wang et al.(1986)은 20% TBSA 유발 흰쥐에서 화상 유발 초기에 간 조직 내 사립체의 효소활성이 감소된다고 하여 간 손상이 대사활동의 결여로부터 유도된다고 하였다.

하지만 피부 화상으로 유도되는 간 손상에 대한 연구 보고들은 다른 장기와 비교하여 상대적으로 적고, 국내의 화상 연구는 거의 찾아보기 힘들 뿐만 아니라 아직까지 화상으로 인한 타 장기의 손상기전은 명확히 밝혀지지 않고 있는 실정이다. 따라서 본 실험에서는 상술한 보고들을 근거로 보아 화상으로 인한 손상기전은 유해산소의 생성과 매우 밀접한 연관성이 있을 것으로 예측되어, 흰쥐를 이용하여 피부 화상을 유도한 다음 XO 활성 저해제인 allopurinol을

투여하여 생화학적 정량법과 형태학적 관찰을 통해 간 조직의 손상기전을 검토해 보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물의 화상 유발 및 처치방법

실험동물은 체중 300 g 내외의 외견상 건강한 Sprague-Dawley 종 수컷 흰쥐를 ketamine hydrochloride 로 마취시킨 다음, 등쪽의 털을 깎고 (20~25% of TBSA) 100°C 물로 10초간 데인 후 각각 5시간 후, 24시간 후에 처치하였다. Allopurinol 투여는 화상 유발 직후 100 mg/kg을 복강으로 투여하고, 24시간 후에 처치하여 대조군과 비교하였다.

동물의 처치는 일중 변동을 고려하여 일정시간에 실시하였고, ether 마취 하에 복부 정중선을 따라 개복한 다음 복부 대동맥으로부터 채혈하여 실험사 시킨 후, 4°C 생리식염수로 간 문맥을 통하여 관류시켜 간 내에 남아있던 혈액을 제거한 다음 적출하였다. 적출된 간은 생리식염수를 가능한 모두 제거하고 무게를 측정하였으며, 효소활성도 측정 및 미세구조 관찰에 사용하였다. 채취한 혈액은 실온에 30분간 방치시킨 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하고 혈청을 얻어 생화학적 활성 측정에 사용하였다.

### 2. 효소활성도 측정방법

#### 1) Aniline aminotransferase (ALT) 활성도 측정 방법

혈청 내 ALT의 활성 측정은 Reitman & Frankel (1957)의 방법에 준해 조제된 kit를 사용하였으며, 단위는 혈청 ml 당 Karmen unit로 표시하였다.

#### 2) Xanthine oxidase (XO) 활성도 측정방법

혈청 내 XO의 활성도 측정은 xanthine을 기질로 하여 30°C에서 20분간 반응시켜 생성된 uric acid를 292 nm에서 흡광도를 측정하는 Stripe & Della Corte (1969)의 방법으로 하였다. 효소의 활성도 단위는 효소액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 기질인 xanthine으로부터 생성된 uric acid의 양을 nmole로 표시하였다.

### 3. 미세구조 관찰방법

간 조직의 미세구조를 관찰하기 위하여 조직 적출 즉시 2.5% glutaraldehyde에 전고정 시킨 후 0.1M phosphate buffer (pH 7.4)로 수세하였다. 수세한 조직을 1% osmium tetroxide에 후고정 시킨 다음 동일 buffer로 수세하고, alcohol의 농도를 순차적으로 증가시키며 탈수시켰다. 탈수시킨 조직을 epoxy resin에 포매하여 열중합시킨 다음 블록을 제작하였다. 블록은 ultramicrotome (Reichert Supernova, Austria)을 이용하여 60~70 nm 두께로 박절한 다음, uranyl acetate와 lead citrate로 염색하고 투과전자현미경 (Hitachi H-600, Japan)으로 관찰하였다.

### 4. 혈장 단백질 함량측정과 혈액 중 다형핵 백혈구 산정방법

혈액 중 다형핵 백혈구의 수를 산정하기 위하여 실험동물을 ether로 흡입 마취시킨 후, 복부 정중선을 따라 개복하고 복부 대동맥으로부터 채혈하였다. 혈액을 heparin으로 처리한 다음 Turk's solution으로 염색하여 hemocytometer를 사용하여 현미경 하에서 계수하였다. 그리고 혈액을 3,000 rpm으로 15분간 원심분리한 후 혈장을 채취하여 bicinconinic acid를 이용한 Brown et al. (1989)의 방법에 따라 정량하였다.

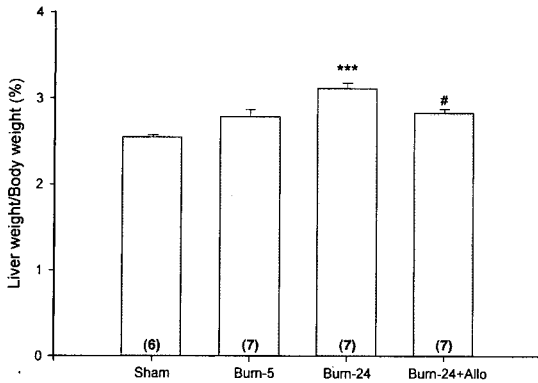
### 5. 통계처리방법

각 실험군 간의 비교를 위한 통계처리는 SPSSWIN을 이용하여 유의수준 0.05로 하는 ANOVA test를 실시하였다.

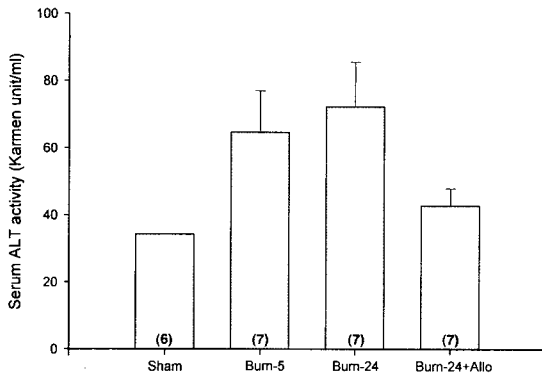
## 결 과

### 1. 간 중량 변화와 혈청 내 aniline aminotransferase의 활성 변동

피부 화상의 결과, 간의 중량과 혈청 중 ALT의 활성 변동 결과는 Fig. 1, 2와 같다. 화상 후 체중 당 간 무게의 비율은 5시간군과 24시간군 모두 정상군과 비교하여 점진적으로 증가되었다. 화상 후 5시간군에서 4.77%, 24시간군에서 14.95% ( $p < 0.01$ ) 증가되었



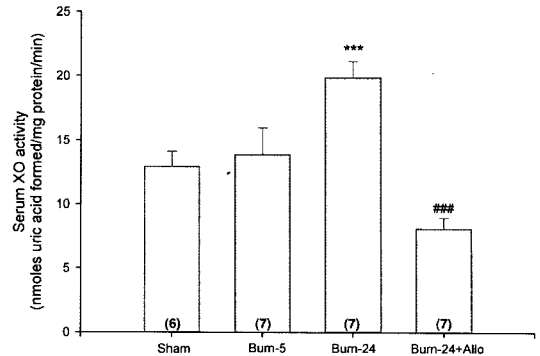
**Fig. 1.** Changes of liver weight per body weight (%) in scald burn and in postburn treatment of allopurinol. Each bar represents the mean  $\pm$  S.E. The number of determinations is in the parentheses. \*\*\* $p < 0.001$ ; sham vs. burn-24, # $p < 0.05$ ; burn-24 vs. burn-24+allo



**Fig. 2.** Changes of serum ALT activities in scald burn and in postburn treatment of allopurinol. Each bar represents the mean  $\pm$  S.E. The number of determinations is in the parentheses.

다. 화상 후 allopurinol 투여군은 화상 후 24시간군과 비교하여 간 중량의 유의한 ( $p < 0.05$ ) 감소현상을 보였다.

혈청 중 ALT의 활성 변화는 화상 후 5시간군과 24시간군이 정상군과 비교하여 각각 89%, 112%의 활성 증가를 보였고, allopurinol의 투여로 화상 후 24시간군보다 41% 감소되어 나타났다.



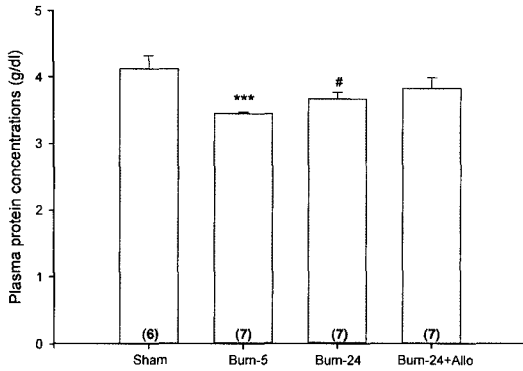
**Fig. 3.** Changes of serum XO activities in scald burn and in postburn treatment of allopurinol. Each bar represents the mean  $\pm$  S.E. The number of determinations is in the parentheses. \*\*\* $p < 0.001$ ; sham vs. burn-24, ### $p < 0.001$ ; burn-24 vs. burn-24+allo

## 2. 혈청 중 xanthine oxidase의 활성 변동

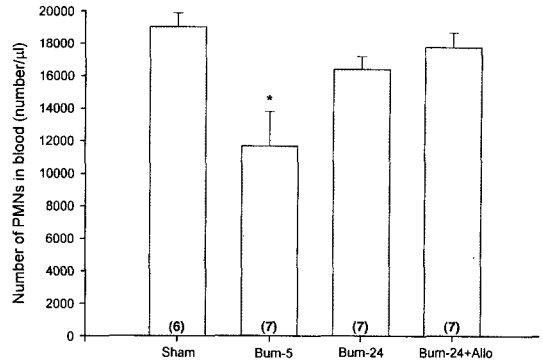
화상 유발 후에 변화된 혈청 중의 XO 활성 변동을 비교한 것이 Fig. 3이다. 화상 유발 후 혈청 중의 XO 활성은 화상 후 24시간군이 정상군과 비교하여 약 1.5배 증가되었고 ( $p < 0.001$ ), allopurinol 투여로 혈청 중 XO의 활성은 현저히 ( $p < 0.001$ ) 감소되어 나타났다.

## 3. 간 미세구조의 변화

피부 화상으로 유도된 간 조직의 미세구조는 전반적으로 가역적 손상으로 나타났다. 화상 유발 24시간 후 세포종창이 뚜렷이 관찰되었는데 특히 핵막강과 소포체 내강이 심한 종창현상을 보였으며, 핵막은 굴곡이 진 불규칙한 형태였다. 이러한 종창이 발생한 소포체에서는 조면소포체 막으로부터 리보솜 입자가 탈락되는 현상이 관찰되었다 (Fig. 7). 또한 간 세포 내에서는 지방소적들의 축적된 모습이 관찰되었는데, 지방소적들은 다양한 변성을 일으키고 있는 모습으로 관찰되었다. 지방소적은 중등도의 전자밀도를 가지는 것이 대부분이었으며, 지방소적 내 공포성 변화와 층상 구조물의 형성을 이루고 있는 모습이 보였다 (Fig. 8). 간 세포의 세포종창과 함께 담모세관과 세포간질의 확장이 동반되어 관찰되었으며, 세포간질



**Fig. 4.** Changes of plasma protein concentration in scald burn and in postburn treatment of allopurinol. Each bar represents the mean  $\pm$  S.E. The number of determinations is in the parentheses. \*\*\* $p < 0.001$ ; sham vs. burn-5, # $p < 0.05$ ; sham vs. burn-24



**Fig. 5.** Changes of number of blood PMNs in scald burn and in postburn treatment of allopurinol. Each bar represents the mean  $\pm$  S.E. The number of determinations is in the parentheses. \* $p < 0.05$ ; sham vs. burn-5

이 확장된 곳에는 부착반점이 다소 소실되어 있음이 관찰되었다 (Fig. 8). 동양혈관이 확장된 부분의 혈관 내피세포는 그 정렬이 붕괴되고, 쿠퍼세포가 활성화된 형태로 관찰되었다. 또한 동굴주위공간 (perisinusoidal space)을 형성하는 간 세포의 미세용모 구조들이 응축되고 소실된 모습이었다 (Fig. 9). 그리고 동굴주위공간 내로 호중구의 출현이 증가되어 관찰되었다 (Fig. 10). Allopurinol을 투여한 화상 후 24시간군은 큰 손상 소견없이 세포 내 구조가 잘 보존되어 있었다 (Fig. 11).

**4. 혈장 단백질의 함량 변화와 혈액 중 다형핵 백혈구의 수적 변화**

혈액 중 단백질의 함량 변화와 백혈구의 수적 변화에 대한 결과는 Fig. 4, 5와 같다. 혈장 단백질의 함량은 화상 유발 5시간 후 ( $p < 0.001$ ), 24시간 후 ( $p < 0.05$ ) 모두 정상군과 비교하여 현저히 감소되었다. 또한 혈액 중 다형핵 백혈구의 수도 정상군과 비교하여 볼 때 화상 유발 5시간 후에 38.19% 감소되었고, 24시간 후에는 13.25% 감소되어 나타났다. Allopurinol을 투여한 화상 후 24시간군은 백혈구의 수적 감소와 혈장 단백질의 감소폭은 화상 후 24시간군과 비교하여 매우 작게 나타났다.

**고 찰**

Multiple organ dysfunction syndrome (MODS)은 매우 다양한 원인으로부터 발생되지만 그 발병기전은 아직까지 밝혀지고 있지 않다. 특히 MODS의 발병에 대한 예방책이 뚜렷이 없고 화상시 야기되는 MODS로 인해 그 치료에 심각한 장애가 초래됨으로 볼 때, 화상시 타 장기에 미치는 원인을 파악하는 것은 시급히 해결해야 할 문제로 받아들여지고 있다. 이에 본 실험에서는 흰쥐를 이용하여 화상을 유발시킨 다음, 이러한 변화가 가져오는 간 조직의 형태학적 변화들을 관찰하였다.

화상은 제일 먼저 순환계의 변화를 초래하는데, 혈관 투과성이 증가되고 (Arturson & Mellander, 1964; Lund et al., 1989; Till et al., 1989) 산화 적혈구의 양이 감소되어 (Herndon & Traber, 1990), 허혈성 손상이 유도된다고 하였다 (Hatherill et al., 1986; Till et al., 1989; Demling & LaLonde, 1990; Huang et al., 1998). 본 실험에서 화상 후 나타난 혈장 내 단백질의 함량 감소는 화상으로 인한 순환계 모세혈관 내피세포가 손상되었음을 의미하는 것이다. 체중 당 간 무게와 간 손상의 지표인 혈청 내 ALT 활성 변화를 관찰한 결과, 화상 후 5시간, 24시간 후 모두 정상군에 비해 체중 당 간 무게가 증가되었으며, 혈청 내 ALT의 활성 또

한 증가되어 간 손상이 유도되었음을 확인하였다. 또한 간 조직의 미세구조 변화에서 핵막의 변형, 소포체의 증창, 그리고 세포간질이 확장된 것은 간 세포 자체의 산화적 손상이 야기되어 세포막의 물질 투과 장벽에 손상이 일어나(Youn et al., 1998) 간 조직 내 물의 함유량이 증가되었음을(Huang et al., 1998) 강력히 시사하고 있다. 생화학적 정량법으로는 알 수 없으나 미세구조의 변화에서 나타난 조면 소포체로부터 리보솜의 탈락, 지방소적들의 세포질 내 축적, 그리고 담모세관의 확장은 간 세포의 기능에 이상이 있음을 직접적으로 보여주는 것으로(Wang et al., 1986), 피부 화상시 혈 중 단백질과 빌리루빈의 함량이 감소된다는 사실(Haycock et al., 1997)과도 서로 일치하고 있음을 보여 주는 것이다. 본 실험에서도 화상 유발 5시간 후, 24시간 후 모두 혈장 단백질의 함량이 정상군과 비교하여 볼 때 현저히 감소되어 간 기능의 부전이 유발되었음을 알 수 있었다. 보다 중요한 사실은 화상 유발 24시간 후에는 화상 유발 5시간 후보다 혈장 단백질의 함량이 증가되었으나 증가 비율은 의미가 없는 정도여서 화상 유발 24시간 후까지도 간 기능은 회복되지 않았음을 알 수 있었다.

결국 화상으로부터 간 손상이 유도되는 주목할 만한 사실은 화상 유발 후 혈청 내 XO 활성이 현저히 증가되었다는 결과이다. XO는 이미 세포상해에 관련된 유해산소 생성체 효소로 잘 알려져 있으며, 염증 반응시 XO는 type D로부터 type O로 전환되며(Parks et al., 1988; Phan et al., 1989; Weinbroum et al., 1995; Nielsen et al., 1996), 허혈 시에도 XO의 활성도는 증가되고 type O로의 전환이 이루어진다고 한다(Yokoyama et al., 1990; Adachi et al., 1993). XO의 활성 증가와 이에 수반된 type 전환은 유해산소 대사물의 생성과 촉진으로 미세혈관 내피세포에 직접적인 손상이 가해지리라는 것을 짐작케 하고(Till et al., 1989), 또한 tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-1, 그리고 interleukin-6와 같은 염증 매개체들의 생성이 유도됨을 의미한다(Drost et al., 1993; Malloy et al., 1993; Rodriguez et al., 1993; Ogle et al., 1994; Mandrup-Poulson et al., 1995; Faunce et al., 1998). 따라서 본 실험에서 나타난 type O XO의 혈청 내 활성 증가는 간

조직의 미세구조적 변화에서 나타난 호중구의 출현 증가, 쿠퍼세포의 활성화, 그리고 동양혈관 내피세포의 손상과 동굴주위공간의 손상과 매우 밀접한 관계가 있음을 단적으로 보여주는 것이다. 결국 화상으로 인한 순환계 허혈이 초래됨으로써 XO 효소 단백질의 합성과 함께 이 효소의 type 전환으로 유해산소 생성율이 증가되고, 그 결과 혈 중 염증 매개체의 생성 촉진으로 염증반응에 의한 간 조직 손상이 발생된 것으로 생각된다. 이러한 사실들은 혈청 내 tumor necrosis factor- $\alpha$ 의 증가(Sheeran et al., 1998), granulocyte colony-stimulating factor의 증가(Shoup et al., 1998), 그리고 thromboxane B<sub>2</sub>, prostaglandin E<sub>2</sub> 등의 증가(Huang et al., 1998)로 인한 염증반응의 결과에서 잘 말해 주고 있다. 이처럼 화상에 의한 염증반응이 내부 장기의 손상을 유발시키는지의 여부를 검토한 목적으로 혈 중 다형핵 백혈구의 수를 산정하고 비교해 본 결과, 화상 유발 5시간 후에 그 수는 현저히 감소되어 혈 중의 다형핵 백혈구가 피부는 물론 내부 장기에 침윤되었을 가능성을 간접적으로 확인하였다. 그리고 화상 유발 24시간 후 또한 정상군과 비교하여 다형핵 백혈구의 수는 감소되었으나, 화상 유발 5시간 후보다 40.35% 증가되어 화상에 의한 염증반응은 초기에 형성된다는 사실을 알 수 있었다. 이러한 결과에 기초하여 화상 직후 XO 활성 저해제인 allopurinol을 복용으로 투여한 결과 화상군과 비교하여 간 중량과 혈청 내 ALT 활성이 감소되어 간 손상이 방지되었으며, 혈 중 단백질의 함량과 호중구의 수도 allopurinol 미처리 화상군과 비교하여 볼 때 더 높게 나타나 혈관 내피세포의 상해를 차단하였으며, 미세구조적으로도 간 세포의 형태는 큰 변화를 나타내지 않은 것으로 나타나 XO가 피부 화상으로 인한 MODS 발병에 중요한 역할을 담당하는 것으로 나타났다.

본 실험결과들을 고찰해 볼 때, 화상 자극은 급성 염증반응을 유도하게 되어 혈관의 충혈과 히스타민과 같은 혈관 투과성 증대물질의 유리로 혈관 투과성은 증대되어 체액과 혈중 단백질이 간질로 유입되게 되며 아울러 체액의 소실과 산화 적혈구의 용혈 현상으로 순환계 내 허혈현상이 초래되어 XO 활성이 증가되게 된다(Till et al., 1989; Burton et al., 1995).

XO의 활성 증가는 순환계 내 유해산소의 축적을 야기하고, 지질 과산화물 생성 증가와 더불어 미세혈관 내피세포에 손상을 가하게 되고, 이것과 함께 순환계 내 염증 매개체들의 생성이 촉진되어 호중구의 침윤을 유도하게 된다. 따라서 미세순환계의 붕괴는 간 조직의 세포막 투과장벽의 이상을 초래하게 되어 간 세포 대사이상에 의한 유해산소 생성계와 해독계 효소의 불균형, 염증반응으로 인한 oxidative stress 형성을 촉진시켜 간 세포에 손상을 가하게 되는 것으로 요약할 수 있다. 하지만 화상은 면역억제 (Peter et al., 1999)와 조혈작용의 변화를 초래하여 MODS를 심화시키는 (Faunce et al., 1999) 등 실로 다양하고 복잡한 경로를 통해 이루어지고 있는 것이 사실이다. 그러나 본 실험 결과를 통해서 볼 때, 피부 화상에 의한 간 손상의 원인으로 혈 중 XO의 활성 증가가 매우 중요한 역할을 담당하는 것으로 나타났으며, 이러한 변화는 화상 초기에 염증반응의 형성과 밀접한 연관성이 있을 것으로 판단되었다.

### 참 고 문 헌

Adachi T, Fukushima T, Usami Y, Hirano K: Binding of human xanthine oxidase to sulphated glycosaminoglycans on the endothelial-cell surface. *Biochem* 289 : 523-527, 1993.

Aikawa N: Cytokine storm in the pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome associated with surgical insults. *J Jpn Surg Soc*, 97 : 771-777, 1996.

Arturson G, Mellander S: Acute changes in capillary filtration and diffusion in experimental burn injury. *Acta Physiol Scand* 62 : 4577-5463, 1964.

Barie PS, Hyde LJ: Influence of multiple organ dysfunction syndrome on duration of critical illness and hospitalization. *Arch Surg* 131 : 1318-1324, 1996.

Brown RE, Jarvis KL, Hyland KJ: Protein measurement using bicinconinic acid: Elimination of interfering substances. *Anal Biochem* 180 : 136-139, 1989.

Burton LK, Belasco SE, Patt A, Terada LS et al.: Xanthine oxidase contributes to lung leak in rats subjected to skin burn. *Inflammation* 19(1) : 31-38, 1995.

Demling RH, LaLonde C: Early postburn lipid peroxidation: effect of ibuprofen and allopurinol. *Surgery* 107 : 85-93,

1990.

Drost AC, Burlison DG, Cioffi WG, Mason AD, Pruitt BA: Plasma cytokines after thermal injury and their relationship to infection. *Ann Surgery* 218 : 74-78, 1993.

Faist E, Schinkel C, Zimmer S: Update on the mechanisms of immune suppression of injury and immune modulation. *World J Surg* 20 : 454-459, 1996.

Faunce DE, Gregory MS, Kovacs EJ: Acute alcohol exposure prior to thermal injury results in decreased T-cells responses mediated in part by increased production of interleukin-6. *Shock* 10 : 135-140, 1998.

Faunce DE, Llanas JN, Patel PJ, Gregory MS, Duffner LA, Kovacs EJ: Neutrophil chemokine production in the skin following scald injury. *Burns* 25 : 403-410, 1999.

Gurbuz V, Corak A, Yegen BC, Kurtel H, Alican I: Oxidative organ damage in a rat model of thermal injury: the effect of cyclosporin A. *Burns* 23(1) : 37-42, 1997.

Hansbrough J, Zapata-Sirvent R, Peterson V, Wang X, Bender E, Claman HN, Boswick J: Characterization of the immunosuppressive effect of burned tissue in an animal model. *J Surg Res* 37 : 383-393, 1984.

Hatherill JR, Till GO, Bruner LH, Ward PA: Thermal injury, intravascular hemolysis, and toxic oxygen products. *J Clin Invest* 78 : 629-636, 1986.

Haycock JW, Ralston DR, Morris B, Freedlander E, MacNeil S: Oxidative damage to protein and alterations to antioxidant levels in human cutaneous thermal injury. *Burns* 23(7) : 533-540, 1997.

Herndon DN, Traber DL: Pulmonary circulation and burns and trauma. *J Trauma* 12 : S41-S44, 1990.

Huang Y-S, Yang Z-C, Liu X-S et al.: Serial experimental and clinical studies on the pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome (MODS) in severe burns. *Burns* 24 : 706-716, 1998.

Kowel Vern A, Walenga JN, Pucci Sharp M, Hoppensteadt D, Gamelli RL: Postburn edema and related changes in interleukin-2, leukocytes, platelet activation, endothelin-1, and C1 esterase inhibitor. *J Burn Care Rehabil.* 18(2) : 99-103, 1997.

Lund T, Onarheim H, Wiig H: Mechanisms behind increased dermal inhibition pressure in acute burn edema. *Am Physiol Soc* 256 : H940-H948, 1989.

Malloy R, O'Riordan M, Holzheimer R, Nestor M, Collins K, Mannick JA, Roderick ML: Mechanism of increased tumor

- necrosis factor production after thermal injury altered sensitivity to PGE<sub>2</sub> and immunomodulation with indomethacin. *J Immunol* 151: 2142-2149, 1993.
- Mandrup-Poulsen T, Vogensen LD, Jensen M, Svensson P, Nilsson P, Emdal T, Molvig J, Dinarello CA, Nerup J: Circulating interleukin-1 receptor antagonist concentrations are increased in adult patients with thermal injury. *Critical Care Med* 23: 26-33, 1995.
- Nielsen VG, Tan S, Weinbroum A, McCammon AT, Samuelson PN, Gelman S, Parks DA: Lung injury after hepatoenteric ischemia-reperfusion: Role of xanthine oxidase. *Am J Respir Crit Care Med* 154: 1364-1369, 1996.
- Ogle CK, Mao J, Wu J, Ogle JD, Alexander JW: The production of tumor necrosis factor, interleukin-1, interleukin-6, and prostaglandin E<sub>2</sub> by isolated enterocytes and gut macrophages: Effect of lipopolysaccharide and thermal injury. *J Burn Care Rehabil* 15: 470-477, 1994.
- Parks DA, Williams TK, Beckman JS: Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *Am J Physiol* 245(5): G768-G774, 1988.
- Peter FW, Schuschke DA, Barker JH et al.: The effect of severe burn injury on proinflammatory cytokines and leukocyte behavior: its modulation with granulocyte colony-stimulating factor. *Burns* 25: 477-486, 1999.
- Phan SH, Gannon DE, Varani J, Ryan US, Ward PA: Xanthine oxidase activity in rat pulmonary artery endothelial cells and its alteration by activated neutrophils. *Am J Pathol* 134(6): 1201-1211, 1989.
- Reitman S, Frankel S: A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am J Clin Pathol* 28: 8, 1957.
- Rodriguez JL, Miller CG, Garner WL, Till GO, Guerrero P, Moore NP, Corridore M, Normolle DP, Smith DJ, Remick DG: Correlation of the local and systemic cytokine response with critical outcome following thermal injury. *J Trauma* 34: 684-695, 1993.
- Sabeh F, Baxter CR, Norton SJ: Skin burn injury and oxidative stress in liver and lung tissues of rabbit models. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 33(6): 323-328, 1995.
- Sheeran PW, Maass DL, White DJ, Turbeville TD, Giroir BP, Horton JW: Aspiration pneumonia-induced sepsis increases cardiac function after burn trauma. *J Surg Res* 76(2): 192-199, 1998.
- Shorr RM, Ershler WB, Gamelli RL: Immunoglobulin production in burned patients. *J Trauma* 24: 319-322, 1984.
- Shoup M, Weisenberger JM, Wang JL, Pyle JM, Gamelli RL, Shankar R: Mechanisms of neutropenia involving myeloid maturation arrest in burn sepsis. *Ann Surg* 228(1): 112-122, 1998.
- Stripe F, Della Corte E: The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J Biol Chem* 244(14): 855-863, 1969.
- Till GO, Guilds LS, Mahrougui M, Friedl HP, Trentz O, Ward PA: Role of xanthine oxidase in thermal injury of skin. *Am J Pathol* 135(1): 195-202, 1989.
- Wang XM, Chen KM, Wang Y, Shi SP: Functional changes in rat-liver mitochondria during the early phase of burn injury. *Burns Incl Therm Inj* 12(7): 461-464, 1986.
- Weinbroum A, Nielsen VG, Tan S, Gelman S, Matalon S, Skinner KA, Bradley E Jr, Parks DA: Liver ischemia-reperfusion increases pulmonary permeability in rat: role of circulating xanthine oxidase. *Am J Physiol* 268(6): G988-G996, 1995.
- Yokoyama Y, Beckman JS, Beckman TK, Wheat JK, Cash TG, Freeman BA, Parks DA: Circulating xanthine oxidase: potential mediator of ischemic injury. *Am J Physiol* 258(4): G564-G570, 1990.
- Youn YK, Suh GJ, Jung SE et al.: Recombinant human growth hormone decreases lung and liver tissue lipid peroxidation and increases antioxidant activity after thermal injury in rats. *J Burn Care Rehabil* 19(6): 542-548, 1998.

### < 국문 초록 >

화상에 의한 피부 손상이 간에 미치는 영향을 알아보기 위하여 흰쥐를 이용하여 피부 화상을 유도한 다음 각각 5시간, 24시간 후 생화학적 정량법과 형태학적 관찰을 통해 간 조직 손상의 발병기전을 검토해 보고자 하였다. 흰쥐의 화상 유발은 등쪽면의 털을 깎고 (total burn surface area 20~25%) 100°C 물로 10초간 흡입손상 없이 피부 화상만을 가하였다. 생화학적 정량으로는 혈청 내 xanthine oxidase (XO)와 aniline aminotransferase (ALT)의 활성변화, 그리고 혈장 단백질 함량 변화를 측정하였고, 형태학적 관찰은 혈액 중 다형핵 백혈구 수의 산정과 간 세포의 미세구조 변화를 관찰하였다.

실험 결과, 화상 후 혈청 내 XO의 활성 증가 ( $P < 0.01$ )와 함께 체중 당 간 무게 ( $p < 0.05$ )와 혈청 내 ALT의 활성이 증가되었다. 화상 직후 allopurinol의 복용부



여로 XO 활성, 간 무게, 그리고 ALT의 활성은 모두 감소되었다. 화상 손상에 의한 간 조직의 미세구조적 변화로는 소포체 종창, 리보솜 탈락, 지방소적의 축적, 그리고 담모세관과 세포간질의 확장이 관찰되었다. 뿐만 아니라 염증세포인 호중구의 침윤과 함께 혈관 내피세포의 손상, 쿠퍼세포의 활성화, 그리고 미세용모의 손상들이 관찰되었다. 또한 혈 중 다형핵 백혈구의 수적인 변화에서

화상 유발 5시간 후에 현저히 감소되어 내부 장기에 호중구 침윤의 가능성을 알 수 있었다. 하지만 allopurinol의 투여로 이러한 미세구조의 변화를 예방할 수 있는 것으로 나타났다.

이러한 결과들을 종합해 볼 때, 피부 화상으로부터 간 손상을 유발하는데 있어서 혈 중 XO의 활성증가가 매우 핵심적인 역할을 담당하는 것으로 사료되었다.

## FIGURE LEGENDS

**Fig. 6.** Electron micrograph of normal hepatocytes in rat, uranyl acetate and lead citrate stain.

The structure of cellular organelles and inclusions was intact.

**Fig. 7.** Electron micrograph of hepatocytes at 24 h after scald burn injury in rat, uranyl acetate and lead citrate stain.

In the place of swelling, membrane bounded-ribosomes were detached from the membrane of endoplasmic reticulum (arrows).

**Fig. 8.** Electron micrograph of hepatocytes at 24 h after scald burn injury in rat, uranyl acetate and lead citrate stain.

Luminal cavity of bile canaliculi as well as intercellular space (arrow) was dilated, and cell-to-cell desmosomes were rarely found. Accumulation of lipid droplets (L) was found in the cytoplasm of hepatocytes.

**Fig. 9.** Electron micrograph of hepatocytes at 24 h after scald burn injury in rat, uranyl acetate and lead citrate stain.

Arrangement of sinusoidal endothelial cells (arrows) was irregular, and Kupffer's cell (KC) in the dilated sinusoid was activated. There were degradation and loss of microvilli which protruded into the perisinusoidal space.

**Fig. 10.** Electron micrograph of hepatocytes at 24 h after scald burn injury in rat, uranyl acetate and lead citrate stain.

The number of neutrophils (Np) was increased in the perisinusoidal space.

**Fig. 11.** Electron micrograph of hepatocytes at 24 h after scald burn injury with allopurinol injection intraperitoneally in rat, uranyl acetate and lead citrate stain.

Intracellular structure was preserved well.

