

피부화상이 간의 유해산소 생성계 및 해독계 효소 활성화에 미치는 영향

대구대학교 물리치료학과

박 래 준

대구보건대학 작업치료과

김 한 수

경북과학대학 작업치료과

배 주 한

경북대학교병원 물리치료실

이 현 기

경북전문대학 물리치료과

최 재 원

경산대학교 보건대학원

이 동 호

Effect of Skin Burn on the Activities of Free Radical Generating and Scavenging Enzymes in Rat Liver

Park, Rae-Jun, Ph.D., P.T.

Dept. of Physical Therapy, Taegu University

Kim, Han-Soo, Ph.D., P.T.

Dept. of Occupational Therapy, Taegu Health College

Bae, Ju-Han, M.P.H., P.T.

Dept. of Occupational Therapy, Kyongbuk Science College

Lee, Hyun-Kee, M.S., P.T.

Dept. of Physical Therapy, Kyongbuk National University Hospital

Choi, Jae-Won, M.S., P.T.

Dept. of Physical Therapy, KyungBuk College

Lee, Dong-Ho, M.P.H., P.T.

Graduate School of Public Health, Kyungsan University

<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 body surface area 30%) except for inhaled injury. At 5 and 24 h after scald burn, biochemical assay in skin tissue, serum and liver tissue were examined. The effects of burn injury on the levels of glutathione, lipid peroxide and on the activities of oxygen free radical generating and scavenging enzymes have been determined in association with observing of histologic and

ultrastructural changes, measuring the protein concentration in plasma, and counting the number of intravascular polymorphonuclear leukocytes.

Post burn 24 h, the content of glutathione was decreased (47.50%), whereas that of lipid peroxide was increased (37.01%), and the activity of superoxide dismutase was diminished ($p < 0.001$). Thus decreasing the capacity of oxygen free radical scavenging enzymes led to oxidative injury in skin tissue.

In liver tissue, at 24 h after scald burn, both the content of glutathione and the activity of catalase were markedly decreased ($p < 0.01$, $p < 0.05$), thus the imbalance between free radical generating and scavenging capacities has been induced.

I. 서론

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 이른다고 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. MODS는 대단히 다양하고 광범위한 원인에 의해 유발되는데 외과적 수술 후, 심한 외상 (trauma), 패혈증 (sepsis), 골절 그리고 화상 등이 대표적인 예이다. 특히 MODS는 지난 20년 동안 화상으로 인한 환자의 사망률을 높인데 가장 중요한 원인의 하나가 되어 왔다 (Barie and Hydo, 1996; Aikawa, 1996). 즉 화상은 일차적 보호장벽으로서의 피부층 (protective skin barrier)을 붕괴시킴으로써 이차적으로 높은 감염율을 유도하는 원인이 되며, 이것으로부터 많은 내부 장기의 부전 (multi organ failure)이 유발되어 사망에까지 이르게 되는 과정을 거치게 된다. (Hansbrough et al., 1984). 오늘날 MODS에 대한 병태생리학적 발병원인을 밝히고자 하나 아직 명확한 발병 기전은 알지 못하고 있는 실정이다.

화상은 크게 피부 접촉과 흡입의 경로를 통해 야기되며 그 임상적 증상과 치료는 서로 달리하고 있다. 하지만 화재와 같은 재난 시는 두 종류의 화상이 복합적으로 나타나게 되어 문제는 더욱 심각하게 된다. 하지만 본 연구는 피부 화상에 국한된 것이어서 흡입 화상에 대해서는 언급하지 않기로 하였다.

피부 화상으로 유도된 간 조직의 손상에 대한 보고들을 살펴보면, Sabeh et al. (1995)은 30%의 total burn surface area (TBSA)가 유발 되었을때 간 조직 내 MDA 함량은 증가되고 glutathione (GSH)의 함량

은 감소된다고 하였으며, Youn et al. (1998)은 20% full thickness burn을 유발시킨 후 지질 과산화화가 증가 되고 GSH의 함량과 catalase 활성도가 감소된다고 하였다. 또한 Haycock et al.(1997)은 피부 화상으로 항산화 해독능력 (antioxidant scavenging capacity)이 현격히 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 mitochondria의 succinic dehydrogenase와 cytochrome b, c+c의 활성이 감소된다고 하여 간 손상이 대사활동의 결여로부터 유도된다고 하였다.

위와 같이 피부 화상으로 유도되는 간 손상에 대한 연구 보고들이 외국에서 발표된 사례가 있으나, 국내의 화상 연구는 거의 찾아보기 힘들뿐만 아니라 아직까지 화상으로 인한 타 장기의 손상기전은 명확히 밝혀지지 않고 있는 실정이다. 따라서 본 실험에서는 상술한 보고들을 근거로 보아 화상으로 인한 손상기전은 유해산소의 생성계 효소와 해독계 효소의 변화가 무엇보다 우선되리라 가정 하에 흰쥐를 이용하여 피부 화상을 유도한 다음 생화학적 정량법을 통해 간 조직의 손상기전을 검토해 보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물의 처치

실험동물은 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐를 대한실험동물사로부터 구입하여 실험동물용 고품사료 (삼양

사)와 물을 충분히 공급하면서, 실내온도 $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $60 \pm 5\%$, 그리고 day/night 자동조절 장치가 부착된 사육실에서 1주일간 적응 사육을 시켰다. 화상 유발은 체중 300g 내외의 외견상 건강한 흰쥐를 ketamine hydrochloride로 마취시킨 다음, Spector (1956)의 계산법에 따라 등쪽면의 털을 깎고 (30% of TBSA: total body surface area) 100°C 물로 10초간 데인 후 각각 5시간과 24시간 후에 처치하였다. 대조군은 같은 방법으로 마취 후 등쪽면의 털을 깎고 22°C 물로 10초간 담근 후 각각 5시간 후와 24시간 후에 처치하였다.

실험동물은 처치 24시간 전부터 물만 공급하였으며, 동물의 처치는 일중 변동을 고려하여 일정시간에 실시하였는데, ether 마취 하에 복부 정중선을 따라 개복한 다음 복부 대동맥으로부터 체혈하여 실험사 시킨 후, 피부 조직과 함께 4°C 생리식염수로 간 문맥을 통하여 간을 관류하여 간 내에 남아있던 혈액을 제거한 다음 적출하였다. 피부조직은 화상 중앙부를 6cm^2 크기로 절취하여 각각을 효소활성도 측정에 사용하였다. 채취한 혈액은 실온에 30분간 방치시킨 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하고 혈청을 얻어 생화학적 활성 측정에 사용하였다.

2. GSH와 LPO의 함량 측정

1) GSH의 함량 측정

간과 피부 조직 내 GSH의 함량 측정은 Ellman (1959)의 방법에 준하였다. 조직 마쇄 균질액 일정량에 4% sulfosalicylic acid 0.5ml 를 가하고 원심분리한 후, 상등액 일정량을 0.1mM 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid) 함유 0.1M 인산완충액 (pH 8.0)에 넣고 반응시켜 생성된 p-nitrothiophenol을 측정하였다. GSH 함량은 조직 g 당 μmol 로 표시하였다.

2) LPO 함량 측정

간과 피부 조직 중 과산화지질 함량 (lipid peroxide)은 Ohkawa et al. (1979)의 방법에 준하였다. 즉 효소 시료 속의 과산화지질을 산성 조건 하에서 thiobarbituric acid 용액과 가열 반응시켜 생긴 물질을 532nm 에서 흡광도를 측정하였다. 단위는 조직 1g 당 nmole MDA (malondialdehyde)로 표시하였다.

3. 효소활성도 측정

1) 효소시료의 조제

적출한 간과 피부 조직 일부를 취하여 1g 당 4ml 의 0.25M sucrose 용액을 가한 다음, 빙냉 하에 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. 이 마쇄 균질액을 초원심분리기로 fractionation하여 mitochondria 분획과 cytosol 분획을 얻었다. 이 중 mitochondria 분획은 catalase의 활성도 측정에 사용하였으며, cytosol 분획은 xanthine oxidase, glutathione peroxidase, glutathion S-transferase, 그리고 superoxide dismutase의 활성도 측정에 사용하였다.

2) GPx 활성도 측정

간과 피부 조직 내 GPx의 활성도 측정은 cytosol 분획을 사용하여 Paglia and Valentine (1967)의 방법에 준하였다. Glutathione 기질과 조효소인 NADPH를 시료와 함께 25°C 에서 5분 동안 반응시켜 340nm 에서 흡광도의 변동을 측정하였다. 활성도 단위는 단백질 1mg 이 1분 동안 산화시킨 NADPH 양을 nmole 로 표시하였다.

3) GST 활성도 측정

간과 피부 조직 내 GST의 활성도 측정은 cytosol 분획을 사용하여 Habig et al. (1974)의 방법에 준하였다. 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB)과 glutathione을 기질로 하여 25°C 에서 10분간 반응시키는 동안 생성된 2,4-dinitrobenzene-glutathione conjugate 양을 340nm 에서 측정하였다. 활성도 단위는 효소반응액 중에 함유된 단백질 1mg 이 1분 동안 반응하여 생성시킨 conjugate의 양을 nmole 로 나타내었다.

4) Catalase 활성도 측정

간과 피부 조직 mitochondria 분획의 catalase 활성도 측정은 hydrogen peroxide를 기질로 하여 환원되는 정도를 240nm 에서 흡광도를 읽고 분자흡광계수 ($0.041\text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)를 이용하여 활성을 산출하는 Aebi (1974)의 방법에 준하였다. 활성도 단위는 조직 효소액 중에 함유된 단백질 1mg 이 1분 동안에 반응하여 감소시킨 H_2O_2 양을 nmole 로 표시하였다.

5) SOD 활성도 측정

간과 피부 조직의 cytosol 분획 내 SOD의 활성도는

hematoxylin 자동산화의 억제정도를 관찰하는 Martin et al. (1987)의 방법에 준해 0.1mM EDTA가 함유된 50mM 인산완충액 (pH 7.5)에 10 μ M hematoxylin 및 효소액을 가해 25 $^{\circ}$ C에서 반응시켜 생성된 hematein을 560nm에서 측정하여 효소의 활성을 산정하였다. 활성도 단위는 효소액을 넣지 않고 반응시킨 액 중의 hematoxylin의 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1 unit로 나타내었다.

4. 통계처리

각 실험군 간의 비교를 위한 통계처리는 유의수준 0.05로 하는 Student-Newman-Keuls multiple comparison test를 실시하였다.

III. 결 과

1. 피부조직의 변화

1) GSH와 LPO의 함량변동

유해산소 해독계 효소인 GPx의 기질인 GSH의 함량과 유해산소에 의한 지질과산화산물인 LPO의 함량변동을 측정된 결과는 Table 1, Fig 1에 나타내었다. GSH의 함량은 화상 유발 24시간 후 대조군과 비교하여 0.541 ± 0.244 에서 0.284 ± 0.020 으로 47.50%로 급격한 감소를 나타내었고, LPO의 함량은 화상 유발 24시간 후 대조군의 함량과 비교하여 볼 때 6.939 ± 1.101 에서 9.509 ± 2.694 로 37.01% 증가되었으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

Table 1. Changes of dermal GSH and LPO contents in dermal scald burn-injured rats

Parameters	Normal (n=7)	24h	
		Control (n=6)	Burn (n=7)
GSH ¹⁾	0.577 ± 0.151	0.541 ± 0.244	0.284 ± 0.020
LPO ²⁾	5.719 ± 0.538	6.939 ± 1.101	9.507 ± 2.694

Each value represents the mean \pm S.E.

Unit : 1) μ moles/g of tissue, 2) nmole MDA/g of tissue

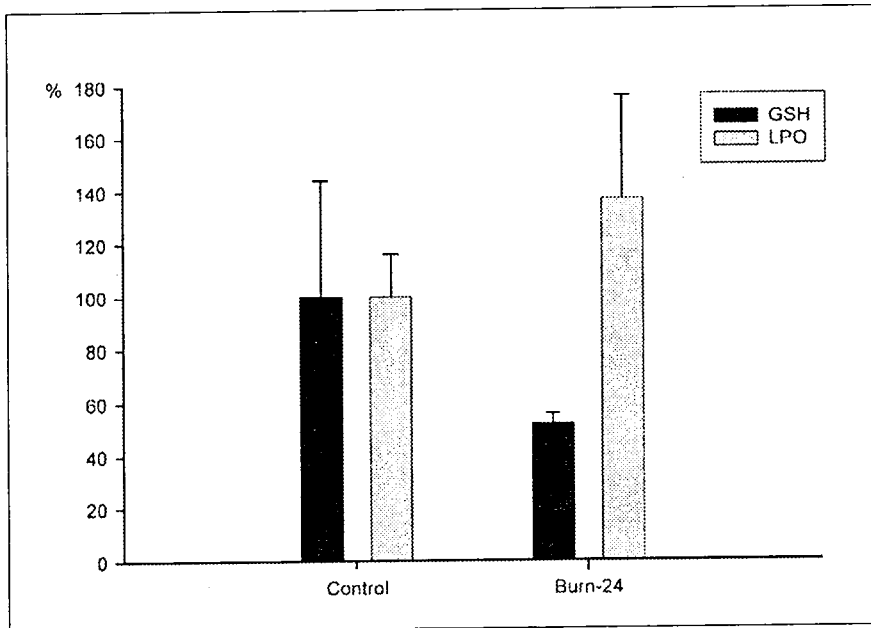


Fig 1. Changes of dermal GSH and LPO contents in dermal scald burn-injured rats
Each bar represents the mean \pm S.E. and indicates relative percents to the control.

2) 유해산소 생성계 및 해독계 효소의 활성변동
 화상 유발 24시간 후 피부 조직 중에 유해산소로 인한 산화적 손상이 초래되었는지를 검토하기 위해 유해산소 생성계 효소인 XO와 해독계 효소인 SOD, catalase, GPx, 그리고 GST의 활성 변동은 Table 2, Fig 2와 같다. XO의 활성은 1.609 ± 0.074 에서 0.621 ± 0.084 로 61.40% ($p < 0.001$) 감소되었고, SOD와 GST 활성 또

한 각각 0.025 ± 0.001 에서 0.016 ± 0.001 로 36.55% ($p < 0.001$), 32.388 ± 1.539 에서 15.557 ± 1.376 으로 51.97% ($p < 0.001$) 감소되었다. 반면 catalase 활성은 3.766 ± 0.952 에서 24.620 ± 6.629 로 5.53배 ($p < 0.05$), GPx 활성은 7.479 ± 0.559 에서 8.329 ± 1.869 로 1.12배 증가되었다.

Table 2. Changes of activities of dermal oxygen free radical generating and scavenging enzymes induced by dermal scald burn injury

Parameters	Normal (n=7)	24h	
		Control (n=6)	Burn (n=7)
XO ¹⁾	1.446 ± 0.070	1.609 ± 0.074	$0.621 \pm 0.084^{***}$
SOD ²⁾	0.024 ± 0.001	0.025 ± 0.001	$0.016 \pm 0.001^{***}$
CAT ³⁾	5.292 ± 0.530	3.766 ± 0.952	$24.620 \pm 6.629^*$
GPx ⁴⁾	7.717 ± 0.735	7.479 ± 0.559	8.392 ± 1.869
GST ⁵⁾	29.695 ± 2.169	32.388 ± 1.539	$15.557 \pm 1.376^{***}$

Each value represents the mean \pm S.E.

* : Significantly different from control group ($p < 0.05$)

*** : Significantly different from control group ($p < 0.001$)

Unit : 1) nmoles uric acid formed/mg protein/min

2) unit^g/mg protein (g : 50% inhibition of autoxidation of hematoxylin),

3) nmoles H₂O₂ reduced/mg protein/min,

4) NADPH oxidized nmoles/mg protein/min,

5) 2,4-dinitrobenzene-glutathione conjugate nmoles/mg protein/min

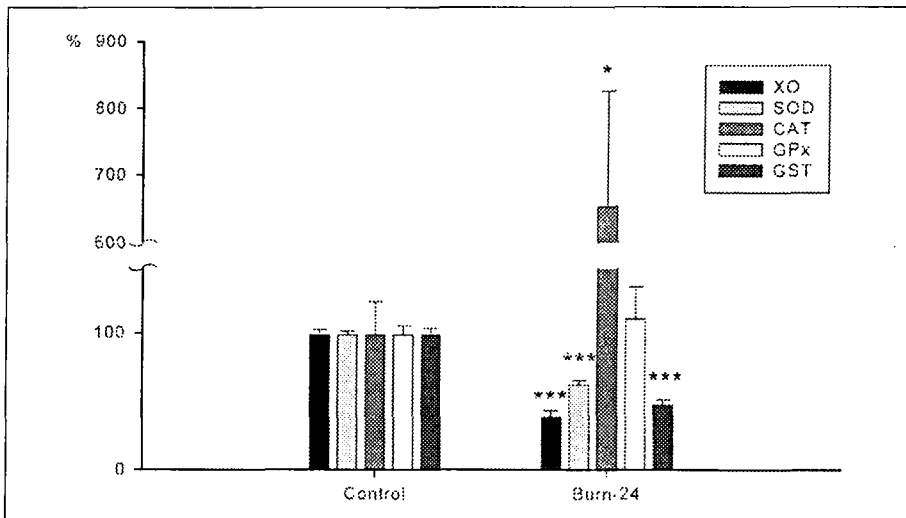


Fig 2. Changes of activities of dermal oxygen free radical generating and scavenging enzymes induced by dermal scald burn injury

Each bar represents the mean \pm S.E. and indicates relative percents to the control.

* ; Significantly different from control group ($p < 0.05$)

*** ; Significantly different from control group ($p < 0.001$)

2. 간조직의 변화

1) GSH와 LPO 함량변동

화상으로 인한 간조직 내 유해산소 conjugator인 GSH의 함량과 지질과산화물의 생성양상을 알아보기 위해, 간 조직 중의 GSH와 LPO의 함량 변동을 측정 한 결과는 Table 3, Fig 3과 같다. 간 조직 중의 GSH와 LPO는 모두 화상후 5시간군에서 감소되었다가 24시간

군에서 증가되는 양상을 보였는데, GSH는 5시간군이 0.112 ± 0.01 에서 0.044 ± 0.01 로 60.71% ($p < 0.01$) 감소되었고, 24시간군은 0.105 ± 0.01 에서 0.061 ± 0.01 로 41.90% ($p < 0.01$)로 감소되었다. LPO는 5시간군에서 대조군과 비교하여 0.015 ± 0.001 에서 0.013 ± 0.001 로 13.33% 감소되었고 24시간군에서는 0.016 ± 0.001 에서 0.017 ± 0.001 로 5.88% 증가되었으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

Table 3. Changes of hepatic GSH and LPO contents in dermal scald burn-injured rats

Parameters	Normal (n=7)	5 h		24 h	
		Control (n=6)	Burn (n=7)	Control (n=6)	Burn (n=7)
GSH ¹⁾	0.109 ± 0.011	0.112 ± 0.010	$0.044 \pm 0.002^{**}$	0.105 ± 0.008	$0.061 \pm 0.002^{**}$
LPO ²⁾	0.011 ± 0.001	0.015 ± 0.001	0.0133 ± 0.001	0.016 ± 0.001	0.0167 ± 0.001

Each value represents the mean \pm S.E.

** : Significantly different from control group ($p < 0.01$)

Unit : 1) μ moles/g of tissue, 2) nmole MDA/g of tissue

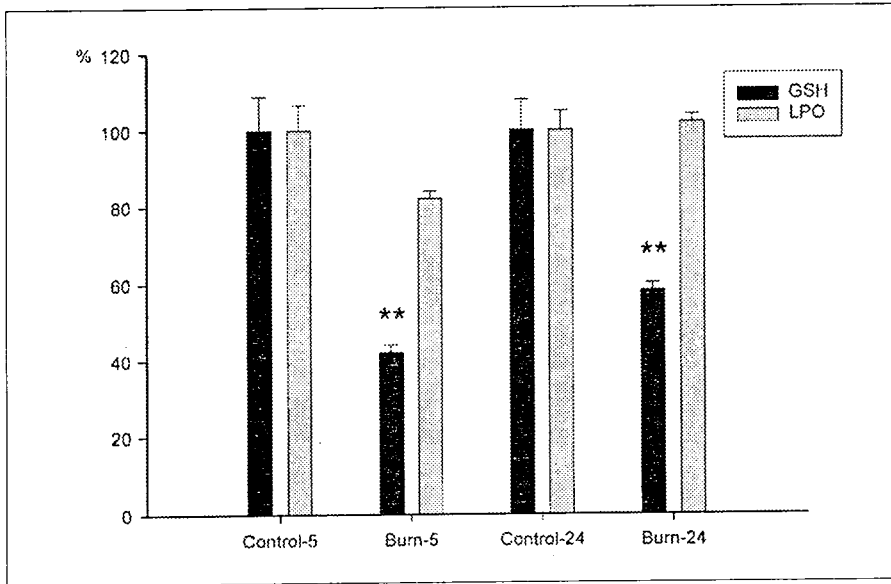


Fig 3. Changes of hepatic GSH and LPO contents in dermal scald burn-injured rats
Each bar represents the mean \pm S.E. and indicates relative percents to the control.
** ; Significantly different from control group ($p < 0.01$)

2) 유해산소 생성계 및 해독계 효소의 활성 변동
화상으로 인해 간조직 내 유해산소 생성계 효소와 해독계 효소의 불균형이 야기되었는지를 알아볼 목적으로

간 조직 중 유해산소 생성계 효소인 XO와 해독계 효소인 SOD, catalase, GPx, 그리고 GST의 활성변동을 측정 한 결과를 Table 4, Fig 4에 표시하였다. XO의 활성은

대조군과 비교하여 5시간군에서 1.76 ± 0.13 에서 0.86 ± 0.37 로 51.14% 감소되었다가 24시간군에서 1.59 ± 0.13 으로 대조군의 85.34% 수준까지 증가되었다.

하지만 각 군간의 유의한 차이는 보이지 않았다. SOD의 경우 화상 후 24시간군에서 27.82 ± 2.65 에서 31.04 ± 2.43 으로 11.57% 증가되었고, catalase는 5시간군에서 70.15 ± 3.99 에서 65.15 ± 5.38 로 7.13%, 24시간

군에서는 70.14 ± 6.01 에서 52.79 ± 1.49 로 24.74% ($p < 0.05$) 감소되었다. GPx의 활성은 각 군간의 활성 차이는 거의 보이지 않은 반면 GST의 경우 약간의 변화를 보였는데, 대조군과 비교하여 화상 후 5시간군에서는 488.50 ± 45.51 에서 562.75 ± 25.22 로 15.20% 증가되었으나 24시간군에서는 오히려 0.59% 감소되어 나타났다.

Table 4. Changes of activities of hepatic oxygen free radical generating and scavenging enzymes induced by dermal scald burn injury

Parameters	Normal (n=7)	5 h		24 h	
		Control (n=6)	Burn (n=7)	Control (n=6)	Burn (n=7)
XO ¹⁾	1.79 ± 0.21	1.76 ± 0.13	0.86 ± 0.37	1.86 ± 0.24	1.59 ± 0.13
SOD ²⁾	28.01 ± 2.88	26.05 ± 2.10	27.22 ± 2.65	27.82 ± 2.65	31.04 ± 2.43
CAT ³⁾	69.79 ± 7.71	70.15 ± 3.99	65.15 ± 5.38	70.14 ± 6.01	$52.79 \pm 1.49^*$
GPx ⁴⁾	22.91 ± 1.23	23.89 ± 0.92	24.55 ± 1.78	24.47 ± 0.93	23.46 ± 0.60
GST ⁵⁾	469.12 ± 13.94	488.50 ± 45.51	562.75 ± 25.22	482.29 ± 47.50	479.46 ± 35.32

Each value represents the mean \pm S.E.

* : Significantly different from control group ($p < 0.05$)

Unit : 1) nmoles uric acid formed/mg protein/min,

2) unit/mg protein (* : 50% inhibition of autoxidation of hematoxylin),

3) nmoles H₂O₂ reduced/mg protein/min, 4) NADPH oxidized nmoles/mg protein/min,

5) 2,4-dinitrobenzene-glutathione conjugate nmoles/mg protein/min

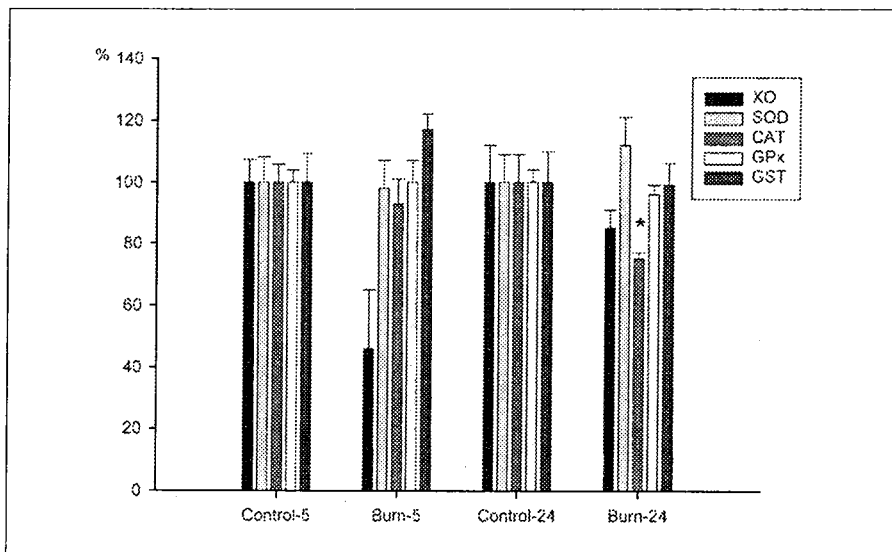


Fig 4. Changes of activities of hepatic oxygen free radical generating and scavenging enzymes induced by dermal scald burn injury

Each bar represents the mean \pm S.E. and indicates relative percents to the control.

* ; Significantly different from control group ($p < 0.05$)

IV. 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 화상 시 야기되는 MODS로 인해 그 치료에 심각한 장애가 초래됨을 볼 때, 화상 시 타 장기에 미치는 원인을 파악하는 것은 시급히 해결해야 할 문제로 받아들여지고 있다. 이에 본 실험에서는 원위를 이용하여 화상을 유발 (30% TBSA)시킨 다음, 피부 조직 자체의 손상 변화를 유해산소 생성계 및 해독계 효소의 활성변화를 통하여 알아보고자 하였다. 그리고 피부화상으로 인한 간 조직의 손상을 유도하는 원인을 알아보기 위해, 간 조직 내 유해산소 생성계 효소와 해독계 효소의 활성변화를 관찰하였다.

본 실험은 MODS가 매우 짧은 시간 내에 진행되므로 유발인자를 검출하기 위해서는 화상의 초기변화를 대상으로 하여야 한다. 따라서 24시간 내의 변화만을 분석하였으며, 다양한 원인인자들간의 차이는 있지만 화상 후 5시간 후부터 내부 장기에 뚜렷한 염증성 손상 변화가 나타나기 때문 분석의 지표로 화상 유발 후 5시간, 24시간으로 하였다.

화상 손상을 받은 피부 조직에서 나타난 GSH와 LPO 함량변화를 살펴보면, GSH의 함량은 47.50% 감소되었으나 지질과산화물의 함량은 대조군과 비교하여 1.37배 증가되어 나타났다. 유해산소 생성계 효소와 해독계 효소의 활성변화에서는 생성계 효소인 XO의 활성이 화상 24시간 후 61.40%의 현저히 감소 ($p < 0.001$)되어 나타났다. 해독계 효소들의 변화를 살펴보면 대조군과 비교하여 볼 때 SOD는 36.55% ($p < 0.001$), GST는 51.97% ($p < 0.001$)의 활성 감소를 보였고, catalase 활성도는 대조군과 비교하여 5.53배 ($p < 0.05$) 증가되어 나타났다. 화상에 의한 이러한 변화는 언급된 바 없으나, 화상에 의한 직접적인 단백질의 변성과 상피조직의 손상으로 인한 결과로 여겨지며, 피부 조직 내 산화-항산화 작용의 불균형이 야기되었음을 알 수 있었다.

본 실험에서 그 활성을 측정된 XO는 정상조직 내에서 xanthine dehydrogenase의 형태로 존재하다가 산화형으로 전환되어 superoxide와 hydrogen peroxide를 생성하는 효소이며 (Halliwell and Gutteridge, 1989), 해독계 효소인 SOD는 superoxide를 hydrogen peroxide로 전환시키고, catalase는 hydrogen

peroxide를 산소와 물로 분해하는 효소이다. 그리고 GPx는 GSH를 기질로 이용하여 hydrogen peroxide와 hydroxyl radical을 물로 변환시키는 효소이며, GST는 GSH의 conjugation 형성에 작용하는 효소이다 (Cotran et al., 1994). 따라서 일반적으로 이와 같은 유해산소 생성계 및 해독계 효소들의 불균형은 조직 내 유해산소의 축적의 결과를 초래하여 조직 손상을 일으키는 것으로 알려져 있다 (Leibovitz and Siegel, 1980; Freemann and Crapo, 1982). 본 실험에서 유해산소 해독에 관여하는 효소 및 생리활성 물질을 측정된 결과, 화상 유발 24시간 후에 피부 조직 내 GSH의 함량은 감소되었고 LPO의 함량은 증가되었다. 이러한 결과는 화상에 의해 유해산소인 superoxide, hydrogen peroxide 및 hydroxyl radical이 조직 내 축적된 것으로 생각되며, 더욱이 SOD와 GST의 활성이 감소된 것은 유해산소의 축적과 함께 해독계 효소기능의 저하로 지질 과산화 반응이 가중되었기 때문으로 생각된다.

간 조직 내 GSH 함량은 대조군과 비교하여 화상 후 5시간군이 60.71% ($p < 0.01$), 24시간군은 41.90% ($p < 0.01$) 감소되었고, LPO의 함량은 변화가 없었다. 유해산소 생성계 효소와 해독계 효소의 활성은 간 조직 내 유해산소 생성계 효소인 XO의 활성은 화상 유발 5시간 후 51.14%, 24시간 후 14.66%의 감소율을 보였다.

해독계 효소의 경우, H_2O_2 의 해독에 관여하는 GPx의 활성도는 변화가 없었으나 catalase의 활성도는 5시간군에서 7.13%, 24시간군에서 24.74% ($p < 0.05$)의 현저한 감소율을 나타내었다.

간 조직 내 GSH 함량은 감소 (Youn et al., 1998; Sabeh et al., 1995)되었으나 LPO의 함량은 큰 변화를 보이지 않았다. Popper and Schaffner (1986)에 의하면 간세포 내 GSH의 소실은 GSH conjugate의 형성이 증가된 것으로 GSH의 산화가 증가됨을 의미하지만, 본 실험에서 LPO의 함량변화 없이 GSH의 양이 감소된 것은 순환계 내 유해산소의 생성증가에 따라 GSH가 간 세포로부터 순환계로 유출된 결과로 여겨진다 (Adamson and Billings, 1994). 그리고 유해산소 해독계 효소들의 활성 변화에서 피부 조직과는 달리 SOD의 활성은 약간 증가되었으나 catalase의 활성이 현저히 감소 (Youn et al., 1998)되었다. 이와 같은 변화결과는 유해산소 해독기능의 저하로 말미암아 간 조직 내 유해산소 생성계와 해독계의 불균형이 초래되어 H_2O_2 분해능의 현저한 감소로 인해 간 손상이 유발된 것 (Chow and

Tappel, 1974; Leibovitz and Siegel, 1980)으로 보여진다. Youn et al. (1998)도 20% full thickness burn의 결과, 화상 48시간 후에 GSH 함량과 catalase의 활성이 유의하게 감소되었다고 하였으며, Sabeh et al. (1995)도 30% TBSA의 피부화상은 간조직 내GSH 함량을 29% 감소시킨다고 하여 본 실험의 결과와 일치하고 있다. 하지만 Youn et al. (1998)은 LPO의 함량이 화상 후 통계적으로 유의한 변화는 없으나 증가된다고 하여 본 실험과는 상이한 결과를 보였다.

결론적으로 본 실험과 다른 연구자들의 보고들로부터 유추해 볼 수 있는 가설은 유해산소 해독계 효소인 SOD의 활성을 저하시켜 피부 조직 내 유해산소의 축적을 유도하고 지질 과산화물의 생성을 증가시키게 된다 (Cetikale et al., 1997). 화상 자극은 급성 염증반응을 유도하게 되어 혈관의 충혈과 histamine과 같은 혈관 투과성 증대물질의 유리 (Till et al., 1989)로 혈관 투과성은 증대되어 체액과 혈 중 단백질이 간질로 유입되게 된다. 아울러 체액의 소실과 산화 적혈구의 용혈현상으로 순환계 내 허혈현상이 초래되고 (Burton et al., 1995; Till et al., 1989; Demling and LaLonde, 1990; Hatherill et al., 1986) XO 활성이 증가되게 된다(Burton et al., 1995; Till et al., 1989). XO의 활성은 순환계 내 유해산소의 축적을 야기하고, 지질 과산화물 생성 증가와 더불어 미세혈관 내피세포에 손상을 가하게 된다. 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 조절작용의 변화 (Faunce et al., 1999)를 초래하여 MODS를 심화시키는 등 실로 다양하고 복잡한 경로를 통해 이루어지고 있는 것이 사실이지만 본 실험 결과를 통해서 볼 때, 간 조직 자체에서도 산화적 손상이 유발되는데 그것은 GSH의 함량감소와 catalase의 활성 저하에 의한 유해산소 생성계와 해독계의 불균형 때문인 것으로 나타났다.

V. 결 론

화상에 의한 피부 손상이 간에 미치는 영향을 알아보기 위하여 흰쥐를 이용하여 피부 화상을 유도한 다음 각각 5시간, 24시간 후 생화학적 정량법을 통해 간 조직 손상의 발병기전을 검토해 보고자 하였다. 흰쥐의 화상 유발은 등쪽면의 털을 깎고 (total body surface area 30%) 100℃ 물로 10초간 흡입손상 없이 피부 화상만을 가하였다. 생화학적 정량으로는 피부 조직, 혈청, 간 조직 내 유해산소 생성계 효소와 해독계 효소의 활성 변화를 측정하였다.

실험 결과, 화상 후 피부 조직 내 glutathione의 함량은 감소 (47.50%)된 반면 지질 과산화물 함량은 증가 (37.01%)되었다. 그리고 superoxide dismutase의 활성이 감소 (p(0.001)되어 유해산소 해독계 기능의 감소로 피부 조직의 산화적 손상이 유도되었음을 알 수 있었다. 간 조직의 경우 화상 유발 후 glutathione의 함량이 감소 (p(0.01)되고 catalase의 활성 역시 감소 (p(0.05)되어, 유해산소 해독계 효소의 활성 감소에 의한 유해 산소 생성계와 해독계 효소 사이의 불균형이 초래된 것으로 나타났다.

< 참 고 문 헌 >

- Adamson, G.M. and R.E. Billings : The role of xanthine oxidase in oxidative damage caused by cytokines in cultured mouse hepatocytes. *Life Sci.*, 55(22), 1701-1709, 1994.
- Aebi, H : Catalase in 'Methods of Enzymatic Analysis' (H.U. Bergmeyer, eds.). Academic Press, New York, 2, 673-684, 1974.
- Aikawa, N : Cytokine storm in the pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome associated with surgical insults. *J. Jpn. Surg. Soc.*, 97, 771-777, 1996.
- Barie, P.S. and L.J. Hydo : Influence of multiple organ dysfunction syndrome on duration of critical illness and hospitalization. *Arch. Surg.*, 131, 1318-1324, 1996.
- Burton, L.K., S.E. Belasco, A. Patt, L.S. Terada, et al : Xanthine oxidase contributes to lung

- leak in rats subjected to skin burn. *Inflammation*, 19(1), 31-38, 1995.
- Cetinkale, O., A. Belco, D. Konukoglu, C. Senyuva, M.K. Gumustas M.K. and T. Tas : Evaluation of lipid peroxidation and total antioxidant status in plasma of rats following thermal injury. *Burns*, 23(1), 37-42, 1997.
- Chow, C.K. and A.L. Tappel : Response of glutathione peroxidase to dietary selenium in rats. *J. Nutri.*, 104, 444-451, 1974.
- Cotran, R.S., V. Kumar and S.L. Robbins : *Pathologic basis of disease*. 5th ed., W.B. Saunders Company, 9-14, 1994.
- Demling, R.H. and C. LaLonde : Early postburn lipid peroxidation: effect of ibuprofen and allopurinol. *Surgery*, 107, 85-93, 1990.
- Ellman, G.L. : Tissue sulfhydryl group. *Arch. Biochem. Biophys.*, 82, 70-77, 1959.
- Faunce, D.E., J.N. Llanas, P.J. Patel, M.S. Gregory, L.A. Duffner and E.J. Kovacs : Neutrophil chemokine production in the skin following scald injury. *Burns*, 25, 403-410, 1999.
- Freeman, B.A., and J.D. Crapo : Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.*, 47(5), 412-426, 1982.
- Gurbuz, V., A. Corak, B.C. Yegen, H. Kurtel and I. Alican : Oxidative organ damage in a rat model of thermal injury: the effect of cyclosporin A. *Burns*, 23(1), 37-42, 1997.
- Habig, W.H., M.J. Pabist and W.B. Jakoby : Glutathione S-transferase: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, 249, 7130-7139, 1974.
- Hatherill, J.R., G.O. Till, L.H. Bruner and P.A. Ward : Thermal injury, intravascular hemolysis, and toxic oxygen products. *J. Clin. Invest.*, 78, 629-636, 1986.
- Haycock, J.W., D.R. Ralston, B. Morris, E. Freedlander and S. MacNeil : Oxidative damage to protein and alterations to antioxidant levels in human cutaneous thermal injury. *Burns*, 23(7), 533-540, 1997.
- Huang, Y.-S., Z.-C. Yang, X.-S. Liu, et al : Serial experimental and clinical studies on the pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome (MODS) in severe burns. *Burns*, 24, 706-716, 1998.
- Leibovits, B.E. and B.V. Siegel : Aspects of free radical reaction in biological system: Aging. *J. Gerontol.*, 35, 45-56, 1980.
- Martin, J.P., M. Dailey and E. Sugarman : Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autooxidation. *Arch. Biochem. Biophys.*, 255(2), 329-336, 1987.
- Ohkawa, H., N. Ohishi and K. Yagi : Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, 95, 351-355, 1979.
- Paglia, E.D. and W.N. Valentine : Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.*, 70, 158-169, 1967.
- Peter, F.W., D.A. Schuschke, J.H. Barker, 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.
- Popper, F. and F. Schaffner : *Progress in Liver Disease: Networks of Interacting Mechanisms of Hepatocellular Degeneration and Death*. Popper, H. and Keppler, D., Volume VIII, 209-236, 1986.
- Sabeh, F., C.R. Baxter and S.J. Norton : 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.
- Spector, W.S : In: *Handbook of Biological Data* Philadelphia: PA Saunders, 157, 1956.
- Till, G.O., L.S. Guilds, M. Mahrougui, H.P. Friedl, O. Trentz and P.A. Ward : Role of xanthine oxidase in thermal injury of skin. *Am.*

J. Pathol., 135(1), 195-202, 1989.

Wang, X.M., K.M. Chen, Y. Wang and S.P. Shi :

Functional changes in rat-liver mitochondria during the early phase of burn injury. Burns Incl. Therm. Inj., 12(7), 461-464, 1986.

Youn, Y.K., G.J.Suh, S.E. Jung, 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.