

p-Phenylenediamine이 흰쥐의 피부 조직에 미치는 영향

이상희¹ · 조현국² · 이상일^{3*}

¹경북도립 경도대학 뷰티디자인과

²경운대학교 안경광학과

³계명문화대학 식품영양조리과

Effect of *p*-Phenylenediamine to Rat Skin

SangHee Lee¹, HyunGug Cho² and Sang-II Lee^{3*}

¹Dept. of Beauty Design, Kyongdo Provincial College, Gyeongbuk 757-807, Korea

²Dept. of Visual Optics, Kyungwoon University, Gyeongbuk 730-739, Korea

³Dept. of Food Nutrition & Cookery, Keimyung College, Daegu 704-703, Korea

Abstract

Red brownish *p*-phenylenediamine (PPD) has been widely used hair dye for women. The dye was known to cause systemic anaphylaxis, dermatitis and bladder cancer. But the effect of PPD toxicity with oxygen free radical has not been studied. This study investigated the degree of skin injury by PPD. PPD (2.5% PPD in 2% NH₄OH) was applied to the rat skin (25 mg/16.5 cm²) 3 or 5 times every other day. Histopathological findings demonstrated the proliferation of epithelial cells and the increased keratinization by PPD. The activities of glucose 6-phosphatase (G6Pase) was decreased and acid phosphatase (ACP) was increased in PPD-applied rat skin. Groups in which PPD was applied 5 times were more damaged than groups applied 3 times. To examine the relationship between tissue damage and oxygen free radicals, effect of PPD on xanthine oxidase (XO) activity was measured and XO activity was more significantly increased in the group treated with PPD 5 times than 3 times. However, reduced glutathione (GSH) content, and the activities of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione S-transferase (GST) were more decreased in PPD-applied groups than in controls. Even though the activities of XOD was not changed in the group treated with PPD 3 times, the decreased activities of oxygen free radical system and the damaged skin tissue were observed. This result might be caused by the production of toxic PPD metabolites in rat skin. In conclusion, topical PPD application led to skin injury in a dose-dependent manner, probably due to the generation rate of oxygen free radical.

Key words: *p*-phenylenediamine, oxygen free radical, rat skin

서 론

최근 경제성장에 따른 생활수준의 향상으로 아름다움을 추구하고자하는 욕구와 노력이 연령과 성별에 관계없이 행해지고 있으며 이러한 욕구를 충족시킬 목적으로 개발된 여러 종류의 기능성 화장품들뿐만 아니라 모발의 염색과 관련된 제품들의 사용이 날로 증가하고 있어 이들에 의한 부작용 또한 인체의 건강과 관련하여 많은 문제점으로 지적되고 있다. 일반적으로 화장품에 의한 부작용은 단지 피부나 눈에 자극을 일으키는 정도로 인식되어 왔으나, 근래 연구(1,2)에 의하면 화장품 성분 중 일부물질들이 피부질환뿐만 아니라 체내 장기에도 독성을 야기시킨다고 한다. 특히 성별에 관계없이 대부분 연령층에서 사용하고 있는 모발 염색제의 일부 성분들은 실험동물에 만성적으로 도포시 발암 잠재성

이 보고(3)되었으며, 2,5-diaminotoluene, 2,5-diaminoanisole 및 para diaminog를 가진 물질들을 함유하는 두발 염색제는 돌연변이나 최기형을 유발(4,5)하는 것으로 알려져 있다. Goldberg 등(6)은 *p*-phenylenediamine(PPD)이 함유된 염색제를 사용한 여성에서 두피의 통증, 현기증, 시력장애 및 음성장애 등과 같은 즉발성 과민반응이 유발되며, 장기간 사용 시 피부염이나 담마진 및 천식이 나타난다고 하였다(7). 또한 PPD가 함유된 염료제를 취급하는 근로자들 사이에서는 방광암이 유발(8,9)되며, PPD의 patch test에서도 구진, 발진 및 담마진과 같은 즉발성 과민반응이 나타난다고 보고(10,11)된 바 있다. 그러나 실험동물의 피부에 PPD를 도포하였을 때 발암성이 나타나지 않았다는 보고(12)와 알러지 반응이 나타나지 않았다는 보고(13) 등 아직까지 PPD에 대한 안전성이 완전히 확보되지 않은 상태에서 현재에도

*Corresponding author. E-mail: lsi125@km-c.ac.kr
Phone: 82-53-589-7823. Fax: 82-53-589-7821

PPD가 함유되어 있는 적갈색 계열의 두발염색제가 인체에 널리 사용되고 있으며 이와 관련하여 인체의 건강에 많은 문제를 야기할 수 있을 것으로 생각된다.

일반적으로 체외 이물질(xenobiotics)에 의한 조직세포의 손상은 xenobiotics 자체뿐만 아니라 독성 중간대사산물 및 이들의 대사과정 중에 생성되는 유해산소에 의해 나타난다고 알려져 있다(14,15). 정상적인 조직 세포에서는 cytochrome P450 및 xanthine oxidase 등과 같은 생성계(16,17)에 의해 유해산소가 생성되나 이들은 superoxide dismutase, catalase 및 glutathione peroxidase와 glutathione S-transferase의 존재에 의해 무독화 됨으로서 유해산소에 의한 조직의 손상으로부터 생체를 보호하는 것으로 알려져 있다(18). 그러나 생체가 과잉의 xenobiotics에 노출(19,20)되거나 병적인 상태(21)에서는 유해산소 생성계와 해독계 사이의 불균형에 의해 과잉의 유해산소가 생성되어 조직의 손상이 발생하는 것으로 알려져 있다(22,23). 특히 생체 조직세포에 존재하는 xanthine oxidase(16)는 유해산소의 주요 생성계(17,24)이며, 피부 화상(25)이나 저산소증 상태(26) 등에서 이 효소의 활성이 증가한다고 보고되고 있어 조직의 손상과 관련하여 관심의 대상이 되고 있다.

한편, 시중에서 판매되고 있는 모든 두발 염색제들은 여러 종류의 화학물질들이 혼합되어 있으며 사용 목적상 필연적으로 피부에 접촉될 수밖에 없기 때문에 이들 화학물질에 의한 피부독성 또한 유해산소와 관련되어 나타날 것으로 생각되어지나, 이들 성분에 대한 연구는 피부 allergy 유발과 관련된 것이 대부분이며, 피부조직의 손상을 초래하는 유해산소와 관련된 연구는 미흡한 실정이다.

이에 본 연구실에서는 두발염색제 중 갈색계통의 염색제 성분 중 가장 많이 이용되고 있는 PPD를 실험동물의 피부에 도포하였을 때 독성이 유발되는 것을 확인하고 PPD의 피부 독성이 유해산소와 관련되어 나타날 것으로 생각되어 이를 관찰할 목적으로 실험동물의 피부에 PPD를 도포한 다음, 유해산소 생성계와 해독계 효소들의 활성변동 및 피부조직의 형태학적 변화를 상호 비교 검토하였다.

재료 및 방법

동물 실험

동물은 체중 230 ± 20 g의 외견상 건강한 Sprague-Dawley 종 수컷 흰쥐를 대한실험동물센터(Korea)로부터 구입한 후 사육실(온도: $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 상대습도: $50 \pm 5\%$)에서 1주일 동안 적응시킨 후, 실험동물의 복부 털을 제거하여 실험에 사용하였다. PPD의 피부도포는 Rojanapo 등의 방법(27)에 준하여 2% 암모니아 용액에 녹인 2.5% PPD를 1일 1회 2시간씩, 2일 간격으로 O-ring형의 유리관(내경: 46 mm, 높이: 15 mm) 속에 피부 표면적 16.5 cm^2 당 25 mg이 되게 5회 복부 부위에 도포하였으며, PPD의 휘발을 방지하기 위하여 유리

관의 상부를 봉하였다. 대조군은 PPD가 들어 있지 않은 2% 암모니아 용액을 실험군과 동일하게 적용하였다.

실험동물의 처치는 효소 활성도의 일 중 변동을 고려하여 일정시간에 실시할 수 있도록 시간을 조절하였으며, ether 마취 하에 복부를 개복한 후 복부대동맥으로부터 채혈하여 실험시시켰다. 피부는 O-ring형 유리관의 내부 면적에 해당하는 부분을 둥글게 적출한 후 생리식염수로 세척하여 효소 활성도 측정 및 조직학적 검사에 사용하였다.

효소원의 조제

일정량의 적출 피부조직에 4배량의 0.25 M sucrose 용액을 넣고 glass teflon homogenizer를 이용하여 20%(w/v) 마쇄균질액을 만들었다. 이 균질액을 $600 \times \text{g}$ 에서 10분, $10,000 \times \text{g}$ 에서 20분간 원심분리하여 mitochondria 분획을 얻고, 상정액을 다시 $105,000 \times \text{g}$ 에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosol 분획과 microsome 분획을 얻어 이하의 실험에 사용하였다.

효소활성 측정

Acid phosphatase(ACP)의 활성은 Bessey-Lowry-Brock의 방법(28), Glucose 6-phosphatase(G6Pase)의 활성은 Hasmura 등의 방법(29)에 따라 유리되는 inorganic phosphorus를 측정하는 Fiske와 Subbarow의 방법(30)에 준하였다. Xanthine oxidase(XO)의 활성은 Yoon의 방법(31), superoxide dismutase(SOD)의 활성은 Martin 등의 방법(32), catalase(CAT)의 활성은 Aebi의 방법(33) 및 glutathione S-transferase(GST)의 활성은 Habig 등의 방법(34)에 준하였다.

환원형 glutathione(GSH) 함량 분석

조직 중 환원형 GSH 함량은 Ellman의 방법(35)에 준하였다.

단백질 정량

조직 중 단백질 함량은 Lowry 등의 방법(36)에 준하였고, 실험 결과의 통계처리는 Student's *t*-test(37)로 유의수준은 0.05 이하로 하였다.

결 과

PPD 피부도포에 의한 피부조직 손상

두발 염색제의 성분으로 사용되는 PPD를 피부 도포한 후 나타나는 피부조직의 구조적 변화를 관찰한 결과, 정상군은 바닥세포(basal cell)와 일부 가지세포(spinous cell)의 핵이 뚜렷이 관찰되었으나, 과립세포(granular cell) 층의 핵은 거의 관찰되지 않았다(Fig. 1. 1a 및 2a). 3회 PPD 도포군에서는 표피층 상피세포들의 세포체적은 증가되고 바닥세포와 가지세포 및 과립세포의 핵이 뚜렷할 뿐만 아니라 세포층 수가 증가되어 중층의 상피는 비후된 모습이었다(Fig. 1. 1b). 5회 PPD 도포군에서는 세포체적의 증가와 더불어 과립

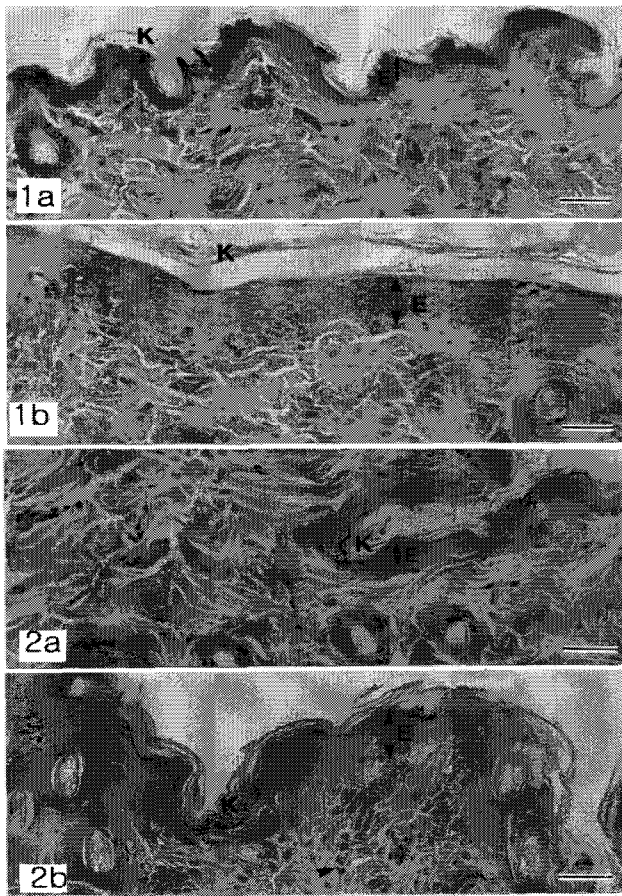


Fig. 1. Micrographs of skin tissue treated with topical PPD 3 or 5 times, stained with H & E stain. Bar=50 μ m. 1a) control; The tissue structure is intact. K: keratin. E: epidermis. 1b) PPD-applied group (3 times); The cell layer of stratified squamous epithelium. (E) is increased compared with control. K: keratin. E: epidermis. 2a) control; The tissue structure is intact. K: keratin. E: epidermis. 2b) PPD-applied group (5 times); Epidermal epithelium (E) is thickened with increased keratinization (K), and fibroblasts (arrow head) are increased in dermis. K: keratin. E: epidermis.

세포의 수가 증가하여 상피층이 비후되었고, 케라틴 형성증가와 함께 진피층 내 섬유모세포의 수적 증가가 관찰되었다 (Fig. 1. 2b).

한편, PPD를 실험동물의 피부에 3회 또는 5회 도포시킨 후 피부조직 중의 ACP 및 G6Pase 변동을 관찰한 결과 (Table 1), ACP의 활성은 3회 PPD 도포군에서는 별다른 변동이 없었으나, 5회 PPD 도포군은 대조군에 비해 약 18% 증가하는 경향이 나타났다. 그리고 G6Pase 활성은 3회 PPD 도포군과 5회 PPD 도포군에서는 대조군에 비해 각각 약 52% ($p < 0.01$) 및 51% ($p < 0.01$) 유의하게 감소하였다.

피부조직의 XO 활성

PPD를 실험동물의 피부에 3회 또는 5회 도포시킨 후 피부조직 중의 XO 활성 변동을 나타낸 것이 Fig. 2이다. 3회 PPD 도포군에서는 별다른 변동을 보이지 않았으나 5회 PPD 도

Table 1. Effect of topical application with PPD on dermal ACP and G6Pase activities

Enzymes		ACP ¹⁾	G6Pase ²⁾
Groups			
Three times	Control	1.58 \pm 0.21	4.41 \pm 0.63
	PPD	1.62 \pm 0.18	2.10 \pm 0.02**
Five times	Control	1.20 \pm 0.15	4.12 \pm 0.32
	PPD	1.41 \pm 0.41	2.01 \pm 0.43**

Each value represents the mean \pm SE (n=6). The assay procedure was described in the experimental methods. Unit: ¹⁾ μ M/hr/mg protein. ²⁾nmoles Pi formed/20 min/mg protein. Significantly different from each control group (** $p < 0.01$).

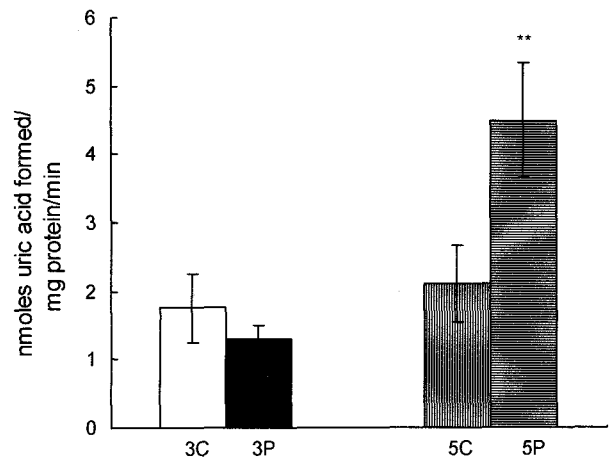


Fig. 2. Effect of topical application with PPD on dermal XO activities.

Each value represents the mean \pm SE (n=6). Asterisk indicates significant difference between control and PPD-applied group (** $p < 0.01$). C: control, 3P: PPD treated group (3 times), 5P: PPD treated group (5 times).

포군은 대조군에 비해 2.1배 ($p < 0.01$) 현저하게 증가하였다.

Oxygen free radical 해독계 효소 활성 및 환원형 glutathione(GSH) 함량

PPD를 실험동물의 피부에 3회 또는 5회 도포시킨 후 피부조직 중 SOD, CAT 및 GST의 활성 변동과 GSH의 함량변동을 관찰한 성적이 Table 2 및 Fig. 3이다.

Table 2. Effect of topical application with PPD on the activities of dermal oxygen free radical scavenging enzymes

Enzymes		SOD ¹⁾	CAT ²⁾	GST ³⁾
Groups				
Three times	Control	20.75 \pm 6.32	15.00 \pm 1.00	28.82 \pm 4.21
	PPD	14.42 \pm 1.02**	13.7 \pm 3.94	15.22 \pm 2.87*
Five times	Control	18.80 \pm 0.97	14.71 \pm 0.50	29.62 \pm 1.18
	PPD	14.84 \pm 1.10**	7.49 \pm 1.03**	15.65 \pm 1.85***

Each value represents the mean \pm SE (n=6). Unit: ¹⁾50% inhibition of autoxidation of hematoxylin/mg protein. ²⁾reduced H₂O₂ nmoles/mg protein/min. ³⁾nmoles thioether/mg protein/min. Significantly different from each control group (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

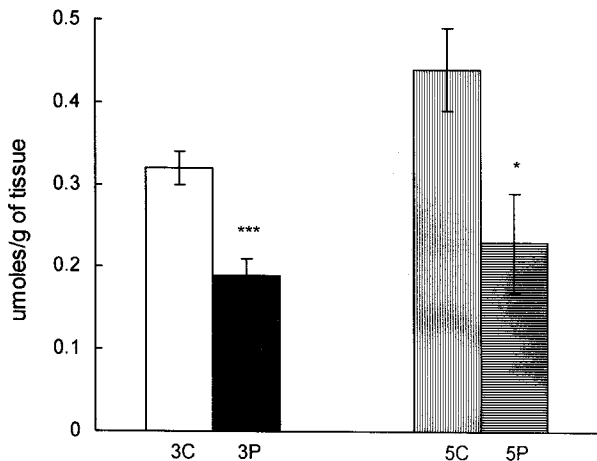


Fig. 3. Effect of topical application with PPD on dermal GSH contents.

Each value represents the mean \pm SE (n=6). Asterisk indicates significant difference between control and PPD-applied group (* p <0.05, *** p <0.001). C: control, 3P: PPD treated group (3 times), 5P: PPD treated group (5 times).

SOD의 활성도는 3회 및 5회 PPD 도포군에서 대조군에 비해 약 31% 및 21%(p <0.01) 유의하게 감소하였고, CAT의 활성은 5회 PPD 도포군이 대조군에 비해 49%(p <0.01) 정도 감소하였다. GST의 활성은 3회 및 5회 PPD 도포군에서 대조군에 비해 약 47%(p <0.05) 및 47%(p <0.001) 유의하게 감소하였다. 그리고 oxygen free radical의 비단백성 해독 물질인 GSH 함량 변동(Fig. 3)은 3회 및 5회 PPD 도포군에서 대조군에 비해 약 41%(p <0.001) 및 48%(p <0.05)의 유의한 감소를 나타내었다.

고 찰

생체의 이물질(xenobiotics)이 피부로 흡수될 경우 피부 조직에 직접적인 손상을 야기한다는 보고(38)와 화학물질로 이루어진 화장품을 피부에 사용할 때 이들 성분에 의해 염증성 피부 질환이 발생하는 사례가 있어 화장품에 의한 피부손상은 관심의 대상이 되고 있다. 일반적으로 xenobiotics에 의한 조직 손상은 반응성 중간대사산물인 친전자성 물질 뿐만 아니라 내·외인적 요인에 의해 대사과정 중에 생성된 free radical에 의해 여러 가지 독성현상이 유발(39,40)된다는 사실과 조직세포의 손상 원인은 유해산소와 상당한 관련성이 있다는 보고(17,24)가 있다. 그러나 두발염색제 성분인 PPD는 두발염색 시 피부에 접촉될 수밖에 없는 화학물질이지만 이에 의한 피부조직 손상과 유해산소와의 관련성은 아직까지 보고된 바 없다. 그러므로 본 실험에서는 PPD에 의한 피부조직의 손상 정도와 유해산소와의 관련성을 검토할 목적으로 피부의 형태학적 변화를 유해산소 생성계와 해독계의 변동과 상호 비교 검토하였다.

본 실험에서 세포상해의 지표로 이용되는 microsomal

G6Pase 활성(29)은 PPD 3회 및 5회 도포군에서 대조군에 비해 감소하였고, 감소의 정도는 PPD 도포 횟수에 비례하였다. 또한 피부조직 손상시 그 활성이 증가된다는 ACP의 활성(41)은 5회 PPD 도포군에서 높게 나타나는 경향을 보였고, XO 활성 변동은 대조군에 비해 5회 PPD 도포군에서 2.1배 정도 현저하게 증가하였다. 그리고 PPD를 도포한 다음 병리조직학적 측면에서 피부조직을 상호 비교하였을 때, 3회 및 5회 PPD 도포군 모두 대조군에 비하여 상피세포의 체적증가와 증식으로 인한 표피층의 비후가 관찰되었고, 특히 5회 도포군에서는 과립세포의 증식에 따른 케라틴 형성이 증가되었다. 이러한 결과로 보아, PPD 도포에 의한 피부조직의 손상이 유발됨을 알 수 있으며, 도포횟수가 증가됨에 따라 손상정도가 심화됨을 암시해 주고 있다.

조직의 손상은 유해 산소의 생성계와 해독계 사이의 불균형에 의해 야기(22,23)된다고 알려져 있을 뿐만 아니라 유해 산소가 피부질환과도 관련성이 있다는 보고(42,43) 및 유해 산소에 의해 유해산소 해독계 활성이 억제(44)된다는 보고가 있다.

PPD의 피부 도포에 의한 피부조직의 손상이 유해산소에 기인되어 나타나는지를 검토하고자 유해산소의 함량에 직접적인 연관을 가지고 있는 유해산소생성계와 해독계의 활성변동을 관찰하였을 때, 유해산소생성계 효소의 일종인 XO의 활성은 PPD 3회 도포군에서는 유의한 변동이 없었으나, 5회 도포군에서는 대조군에 비해 현저하게 증가하였다. 그러나 유해산소 해독계인 SOD, CAT 및 GST 활성은 각 대조군에 비해 모든 PPD 도포군에서 억제되었고, 친전자성 물질에 의한 세포 상해 시 그 함량이 감소되는 것으로 알려져 있는 GSH 함량(45)은 대조군에 비해 모든 PPD 도포군에서 유의하게 감소하였다.

본 실험의 결과와 문헌상의 결과들을 종합해 볼 때, PPD의 피부 도포에 의한 피부조직의 손상은 XO의 활성이 증가되어 과잉으로 생성된 유해산소가 해독계 활성을 저해함으로써 제거되지 못하고 이들에 의해 조직의 손상이 나타난 것으로 사료된다. 그러나 PPD 3회 도포군에서는 XO의 활성 변동이 유도되지 않았음에도 불구하고 유해산소해독계의 활성이 감소함과 동시에 조직의 손상이 나타난 것은 PPD가 피부조직에서 대사되는 동안 생성된 PPD의 독성 중간대사산물에 의해 나타난 것으로 생각되나 이점에 대해서는 추후 지속적인 연구검토가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

붉은 갈색계통 염색제 성분 중의 하나인 p-phenylenediamine(PPD)는 일반적으로 여성들이 사용하는 염색제의 주요 성분으로 시야 흐림 및 구토와 같은 전신적 아나필락시스, 피부염 또는 방광암 등이 유발된다고 한다. 그러나 PPD의 피부 독성과 유해산소와 관련된 연구는 아직까지 미흡한

실정이다. 본 실험에서는 체중 230 ± 20 g의 Sprague-Dawley 종의 흰쥐의 피부에 PPD를 도포하였을 때 조직의 손상정도를 상호비교하고 조직의 손상 원인을 구명하고자 실험동물에 PPD(2.5% PPD in 2% NH_4OH)을 표면적 25 mg/16.5 cm^2 씩 2일 간격으로 3회 및 5회 도포하였다. PPD 3회보다 5회 도포군에서 피부조직의 표피 및 케라틴 층의 비후, glucose 6-phosphatase 활성의 감소 및 acid phosphatase 활성의 증가 정도가 높게 나타났다. 또한 유해산소의 생성계 및 해독계와 관련하여 피부조직의 손상정도를 확인한 결과, 유해산소 생성계인 xanthine oxidase의 활성은 PPD 3회보다 5회 도포군에서 유의하게 증가하였다. 그러나 유해산소 해독계인 superoxide dismutase, catalase, glutathione S-transferase 활성 및 reduced glutathione 함량은 대조군보다 PPD 도포군에서 감소하였다. 한편, xanthine oxidase의 활성이 3회 PPD 도포군에서는 별다른 변동이 없음에도 불구하고 oxygen free radical system의 감소와 피부조직의 손상이 나타난 것은 흰쥐의 피부조직에서 PPD를 대사하는 동안 생성된 대사산물에 의한 것으로 생각된다. 이상의 실험결과를 종합해 볼 때 PPD 도포에 의한 피부조직의 손상은 PPD 도포 횟수에 비례하여 유해산소 생성율이 증가하여 나타난 결과로 생각된다.

문 헌

- Nohynek GJ, Fautz R, Benech-Kieffer F, Toutain H. 2004. Toxicity and human health risk of hair dyes. *Food Chem Toxicol* 42: 517-543.
- Marthias CG, Morrison JH. 1988. Occupational skin disease, united states results from the bureau of labor statistics annual survey of occupational injuries and illness. *Arch Dermatol* 124: 1519-1524.
- Burnett CM, Goldenthal EI. 1988. Multigeneration reproduction and carcinogenicity studies in Sprague-Dawley rats exposed topically to oxidative hair-colouring formulations containing *p*-phenylenediamine and other aromatic amines. *Food Chem Toxicol* 26: 467-474.
- Ames BN, Kammen HO, Yamasaki E. 1975. Hair dyes are mutagenic: identification of a variety of mutagenic ingredients. *Proc Natl Acad Sci USA* 72: 2423-2427.
- Jacobs MM, Burnett CM, Penicnak AJ, Herrera JA, Morris WE, Shubik P, Apaja M, Granroth G. 1984. Evaluation of the toxicity and carcinogenicity of hair dyes in Swiss mice. *Drug Chem Toxicol* 7: 573-586.
- Goldberg BJ, Herman FF, Hirata I. 1987. Systemic anaphylaxis due to an oxidation product of *p*-phenylenediamine in a hair dye. *Ann Allergy* 58: 205-208.
- Silberman DE, Sorrell AH. 1959. Allergy in four workers with special reference to paraphenylenediamine. *Allergy* 30: 1118-1123.
- Wynder EL, Onderdonk J, Mantel N. 1963. An epidemiological investigation of cancer of the bladder. *Cancer* 16: 1388-1407.
- Anthony HM, Thomas GM. 1970. Tumors of the urinary bladder: An analysis of the occupations of 1,030 patients in Leeds, England. *J Natl Cancer Ins* 45: 879-895.
- Starr JC, Yuniger J, Brahserand GW. 1982. Immediate type I asthmatic response to henna following occupational exposure in hairdresser. *Ann Allergy* 48: 98-99.
- Edwards EK. 1984. Contact urticaria and allergic contact dermatitis caused by paraphenylenediamine. *Cutis* 34: 87-88.
- Burnett C, Lanman B, Giovacchini R, Wolcott G, Scala R, Keplinger M. 1975. Long-term toxicity studies on oxidation hair dyes. *Food Cosmet Toxicol* 13: 353-357.
- Spoor H. 1977. Permanent hair colorants: oxidation (peroxide) dyes. *Cutis* 19: 735-742.
- Ryu JI, Yoon CG, Shin JK. 1999. Effect of circadian rhythms on the toluene metabolism in rats. *Kor J Biomed Lab Sci* 5: 67-74.
- Freeman BA, Crapo JD. 1982. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 47: 412-426.
- Parks DA, Granger D. 1986. Xanthine oxidase: Biochemistry, distribution physiology. *Acta Physiol* 58: 87-99.
- Manson PN, Anthenelli RM, Im MJ, Bulkely GB, Hoopes JE. 1983. The role of oxygen free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann Surgery* 198: 87-90.
- Hashim MS, Lincy S, Remya V, Teena M, Anila L. 2005. Effect of polyphenolic compounds from *Coriandrum sativum* on H_2O_2 -induced oxidative stress in human lymphocytes. *Food Chem* 92: 653-660.
- Wakasugi JW, Katami K, Ikeda T, Tomikawa M. 1985. Action of malotilate on reduced serum cholesterol level in rats with carbon tetrachloride induced liver damage. *J Pharmacol* 38: 391-401.
- Yoon CG, Lee HJ, Choi MA. 1995. Effect of toluene treatment on the xanthine oxidase and superoxide dismutase activities in the leukocyte of bacterial infected rats. *Korean J Toxicol* 11: 289-294.
- Ezio T, Bruno L, Claudio S, Giovanni C. 1980. Xanthine oxidase in polymorphonuclear leukocytes and macrophages in mice in three pathological situations. *Biochem Pharmacol* 1: 1945-1948.
- Freeman BA, Crapo JD. 1982. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 47: 412-426.
- Lee F. 1991. Developmental aspects of experimental pulmonary oxygen toxicity. *Free Rad Biol* 11: 463-494.
- Im MJ, Manson PN, Bulkey GB, Hoopes JE. 1985. Effects of superoxide dismutase and allopurinol in survival of acute island skin flaps. *Ann Surgery* 201: 357-359.
- Till GO, Guilds LS, Mahrougui M, Friedl HP, Trentz O, Ward PA. 1989. Role of xanthine oxidase in thermal injury of skin. *Am J Pathol* 135: 195-202.
- Rees R, Smith D, Li TD, Cashmer B, Garner W, Punch J, Smith DJ Jr. 1994. The role of xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase in skin ischemia. *J Surg Res* 56: 162-167.
- Rojanapo W, Kupradinun P, Tepsuwan A, Chutimataewin S, Tanyakaset M. 1986. Carcinogenicity of an oxidation product of *p*-phenylenediamine. *Carcinogenesis* 7: 1997-2002.
- Bessey OA, Lowry OH, Brock J. 1946. A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with 5 cubic millimeters of serum. *J Biol Chem* 164: 321-329.
- Hasumura Y, Tescke R, Lieber CS. 1974. Increased carbon tetrachloride hepatotoxicity, and its metabolism after chronic ethanol consumption. *Gastroenterology* 66: 415-422.
- Fiske CH, Subbarow Y. 1925. The colorimetric determination of phosphorous. *J Biol Chem* 66: 375-400.
- Yoon JG. 1984. A modified colorimetric assay for xanthine oxidase in rat liver extracts. *Keimyung College Res* 2: 295-308.
- Martin JP, Dailey JM, Sugarmanand E. 1987. Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hema-

- toxylin autoxidation. *Arch Biochem Biophys* 255: 329-336.
33. Aebi H. 1974. *Methods of enzymatic analysis*. Academic Press, New York. Vol 2.
 34. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. 1974. Glutathione S-transferase: The first enzymatic step in mercapturic acid and formation. *J Biol Chem* 249: 7130-7139.
 35. Ellman GL. 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 82: 70-77.
 36. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
 37. Scheffler WC. 1980. *Statistics for the Biological Sciences*. Addison-Wesley, London.
 38. Brown HS, Bishop DR, Rowanand CA. 1984. The role of skin absorption as a route of exposure for volatile organic compounds (VOCs) in drinking water. *J Am Pub Health* 74: 479-484.
 39. Croci T, Williams GM. 1985. Activities of several phase I and phase II xenobiotic biotransformation enzymes in cultured hepatocytes from male and female rats. *Biochem Pharmacol* 34: 3029-3035.
 40. Lesko SA, Lorenzem R, Tso POP. 1980. Role of superoxide in detoxyribonucleic acid strand scission. *J Biochem* 19: 3023-3028.
 41. Miyagawa T, Doi F. 1979. Multiple forms and glycoprotein nature of acid phosphatase, alpha-fucosidase and alpha-mannosidase of psoriatic scates. *Invest Dermatol* 73: 554-557.
 43. Barbara CP, Mark PN. 1990. Effect of single-dose ultraviolet radiation on skin superoxide dismutase, catalase and xanthine oxidase in hairless mice. *J Invest Dermatol* 95: 213-216.
 43. Mattia CJ, Adams JD, Bondy SC. 1993. Free radical induction in the brain and liver by products of toluene catabolism. *Biochem Pharmacol* 42: 879-882.
 44. Sampson JB, Beckman JS. 2001. Hydrogen peroxide damages the zinc-binding site of zinc-deficient Cu,Zn superoxide dismutase. *Arch Biochem Biophysiol* 392: 8-13.
 45. Morton S, Mitchell MC. 1985. Effects of chronic ethanol feeding on glutathione turnover in the rat. *Biochem Pharmacol* 34: 1559-1593.

(2005년 8월 2일 접수; 2005년 10월 26일 채택)