

치주질환 환자의 말초혈액내 glutathione peroxidase와 catalase의 활성변화에 관한 연구

김병옥 · 김찬진 · 한경윤

조선대학교 치과대학 치주과학교실

I. 서 론

반응성 산소유리기(O_2^- , OH^- , H_2O_2 , HO_2^- , $1O_2$)는 정상적인 산화반응과정, 자외선, X-선 등의 방사선에너지 흡수 그리고 외인성 화학제 및 약물의 효소성 대사과정 등에 의해 생성될 수 있다¹⁾.

O_2^- 는 미토콘드리아내의 자가산화과정이나 세포질내에 존재하는 크산틴 산화효소 혹은 치토크롬 P 450이나 그외 다른 산화효소에 의해²⁾, H_2O_2 는 과산화물 분자 변위 보호소(superoxide dismutase : SOD)에 의한 O_2^- 의 전환(dismutation)에 의해³⁾, 그리고 OH^- 는 전리방사선(ionizing radiation)에 의해 야기된 물의 가수분해, Haber-Weiss reaction, 그리고 Fenton reaction 등에 의해서 생성될 수 있다⁴⁾. 이와 같이 여러과정에 의해 발생된 반응성 산소유리기는 항세균작용을 나타낼 수 있는 반면 이들이 조직내에 과잉 축적된 경우 강한 반응성으로 인하여 교원질, 히알루론산(hyaluronic acid), 당단백과 같은 세포외기질 성분의 해축(depolymerization), 세포의 단백질, 핵산 그리고 막지질의 파괴에 대한 활성 등으로써 유해한 역할^{5,6,7,8)}을 하여 염증성-면역성 손상, 허혈성 역류 상태, 약물과 독성에 의한 반응, 철의 과잉축적, 방사선에 의한 손상, 노화, 암,

유전분증 등에 관여한다고 보고되었다^{9,10,11,12,13)}.

치주질환과 연관된 반응성 산소유리기에 대한 연구로는 Kimura 등¹⁴⁾이 치주질환에 이환된 환자에게서 말초혈액내 다형핵백혈구로부터 반응성 산소유리기가 증가한다고 보고하였으며, Asman 등¹⁵⁾은 유년형 치주염을 갖는 환자에서 세균에 의해 다형핵백혈구가 자극을 받을 때 반응성 산소유리기와 elastase의 유리가 증가한다고 보고하였고, Shapira 등¹⁶⁾은 급속진행형 치주염 환자에서 말초혈액내 다형핵백혈구로부터 O_2^- 의 형성이 증가한다고 보고하였는데, 반응성 산소유리기가 치주질환의 병인발생에 관여할 수 있음을 보고하고 있다.

반응성 산소유리기의 유해한 작용에 대해 체내에서는 방어반응이 필요하게 되는데 그 방어반응으로는 첫째 산소 대사과정중 산소 분자가 4가의 환원으로 산소의 중간 대사물이 형성되지 않고 물로 환원되도록 하여 유리기 생성을 방지하도록 세포가 작용하는 방법^{17,18)}, 둘째 여러가지 항산화효소에 의해 이미 생성된 유리기를 반응성이 약한 물질로 변화시키거나 제거시키는 방법^{19,20,21)}, 그리고 손상받은 세포 부위를 신속하게 복구하는 방법²²⁾ 등이 있다.

항산화효소에 관한 연구들은 주로 SOD에 국한되어 연구되었는데, Matkovic 등²³⁾은 당뇨병이 있을 때 SOD의 활성변화에 관하여, Mc-

“이 논문은 1994년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음”

Cormic 등²⁴⁾은 염증제거수단으로서, Wong 등²⁵⁾은 폐암세포의 처치수단으로서, 그리고 김 등²⁶⁾과 황 등²⁷⁾은 각각 치은조직과 말초혈액내에서 SOD와 catalase의 활성도와 치주조직의 염증간에 관련이 있음을 보고하였으나, 현재까지 H₂O₂를 소거할 수 있는 glutathione peroxidase (GSH-PX)와 catalase에 관한 연구는 미미한 실정이다.

본 연구는, 치주질환 심도와 항산화효소의 활성간에 밀접한 관계가 있다는 연구를 토대로, 치주질환 환자의 말초혈액내 혈장과 적혈구에서 H₂O₂를 소거할 수 있는 항산화효소인 GSH-PX와 catalase의 활성도와 치은 염증 감소 후 그 활성변화를 측정하여 치주조직의 염증 상태에 따른 GSH-PX와 catalase의 활성변화를 규명하고자 하였다.

II. 연구대상 및 방법

1. 연구대상

1) 연구대상군 선정

조선대학교 부속 치과병원 치주과에 내원한 치주질환 환자들중 전체 치아에 대한 개개치아의 평균 부착상실이 6 mm 이상 되고 치주조직의 염증과 조직 파괴가 심한 환자 19명(성별; 남: 10명, 여: 9명, 나이; 23세~77세, 평균43.3세)을 치주염군으로 선정하였고, 치은의 염증이 심한 환자 7명(성별; 남: 5명,

여: 2명, 나이; 19세~30세, 평균23.8세)을 치은염군으로 선정하였으며, 조선대학교 치과대학에 재학중인 학생들중 치주조직의 상태가 양호한 15명(성별; 남: 14명, 여: 1명, 나이; 22세~29세, 평균24.6세)을 정상군으로 선정하였는데, 연구대상은 전신건강상태가 양호하다고 인정되며 내원시기로부터 1년 이내에 항생제 복용을 하지 않았으며 치주치료의 경험이 없는 사람들로 선정하였다.

그리고 치주염군과 치은염군의 26명중 17명을 선택하여 치료전군으로 선정하였고 치석제거술과 치근면활택술을 반복적으로 실시하여 치은의 염증이 감소된 17명을 치료후군으로 선정하였다.

2) 연구대상군의 치주조직상태

정상군, 치은염군, 치주염군 모두 초진시에 Michigan O probe을 이용하여 치주낭 탐침깊이, 부착상실, 치은지수(Löe & Silness)²⁸⁾ 및 치간유두 출혈지수(Saxer & M hleman)²⁹⁾를 측정하였는데 각각의 평균치는 table 1과 같으며, 같은 방법으로 측정된 치료전군과 치료후군에 대한 임상지수의 평균치는 table 2와 같다.

2. 연구방법

1) 채혈 및 혈장과 적혈구 분리

연구대상자의 말초혈관으로부터 혈액을 1ml 채혈한 후 1,000 rpm으로 원심분리하여 혈장과

Table 1. Periodontal indices of normal, gingivitis and periodontitis groups (mean± S.D).

Groups	probing depth (mm)	attachment loss (mm)	gingival index	papillary bleeding index
Normal (n=15)	1.77± 0.47	1.85± 0.45	0.41± 0.21	0.24± 0.16
Gingivitis (n= 7)	3.65± 1.00	3.75± 0.42	2.46± 0.26	2.56± 0.89
Periodontitis (n=19)	4.72± 0.74	6.10± 0.90	2.23± 0.48	2.16± 0.82

Table 2. Periodontal indices of pretreatment and posttreatment groups (mean± S.D).

Groups	probing depth (mm)	attachment loss (mm)	gingival index	papillary bleeding index
Pretreatment (n=17)	4.24± 0.98	5.06± 1.20	2.30± 0.37	2.28± 0.88
Posttreatment (n=17)	3.25± 1.01	4.40± 1.26	0.72± 0.37	0.48± 0.36

적혈구를 분리하고 적혈구는 PBS(phosphate buffer saline)용액으로 씻어서 영하 35°C에 냉동보관 하였다. 냉동된 적혈구의 경우 실온에서 해동시킨 후 적혈구 500ml에 증류수 500ml를 첨가하여 적혈구를 용혈시키고 용혈된 적혈구 5ml에 증류수 95ml를 첨가하여 희석시킨 후 헤모글로빈 제거를 위해 ethanol-chlorform(2 : 1) 40ml를 첨가한 후 30초 동안 세차게 흔든 후 증류수 80ml를 넣고 37°C에서 15분간 방치한 다음 원심분리하여 상층액을 본 연구에 사용하였고, 냉동된 혈장의 경우 37°C에서 해동시킨 후 시료로 사용하였다.

2) Glutathione peroxidase의 활성도 측정
 시료의 단백질 정량은 BSA(bovine serum albumin)을 표준단백질로 사용하여 Bradford³⁰⁾의 방법에 따라 UV spectrophotometer(Hitach ; 557, Japan)상에서 측정하였다.

GSH-PX의 활성도는 Stefan³¹⁾의 방법에 따라 37°C에서 1/10로 희석한 적혈구 10ml와 혈장 10ml 각 시료에 0.1M sodium-N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid buffer (pH 7.40), 1mM EDTA, 2mM reduced glutathione, 1U/ml glutathione reductase, 0.16mM NADPH와 *tert*-butylhydroperoxide을 첨가한 후 이 용액을 340nm UV-spectrophotometer (Hitach ; 557, Japan)상에서 측정하였고, 반응용액에서 분당 O₂에 의해서 NADPH가 산화되는 정도를 1unit로 하였다.

3) Catalase의 활성도 측정

시료의 단백질 정량은 BSA(bovine serum albumin)을 표준단백질로 사용하여 Bradford³⁰⁾의 방법에 따라 측정하였고, catalase의 활성도는 Beers³²⁾의 방법에 따라 50mM phosphate buffer(pH 7.0) 2.0mM에 100mM H₂O₂용액 0.98ml와 적혈구 성분의 시료 0.02ml를 넣은 후 240nm에서 1분 동안에 변화되는 흡광도를 UV-spectrophotometer(Hitach ; 557, Japan)를 이용하여 측정하였으며, 효소의 활성도는 1분 동안에 1μM의 H₂O₂를 분해시키는 효소량을 1unit(U)로 하였다.

4) 통계처리

정상군, 치은염군, 치주염군에 따른 활성변화는 통계 프로그램인 SPSS/PC+(ANOVA)를 이용하였고 Duncan's method에 의해 사후검증을 하였으며, 치료전군과 치료후군의 비교는 student t-test을 이용하여, P<0.05 수준에서 통계학적 유의성을 검증하였다.

III. 연구성적

1. 혈장과 적혈구내 정상군, 치은염군, 치주염군에 대한 GSH-PX의 활성도

정상군, 치은염군, 치주염군의 혈장과 적혈구내 GSH-PX활성도(U/ml)는 table 3과 같이 나타났는데 혈장의 경우 정상군(1.0241±0.0801), 치은염군(0.8683±0.0658), 치주염군(0.7130±0.1333)의 순서로 낮게 나타났으며, 각 군간의 GSH-PX 활성도는 서로간에 통계학적으로 유의성있는 차이를 보였고(P<0.05), 적혈구의 경우 정상군(1.1963±0.2044), 치은염군(0.8156±0.1167), 치주염군(0.7533±0.1185)의 순서로 낮게 나타났으며, 치은염군과 치주염군의 GSH-PX 활성도는 정상군에 비해 통계학적으로 유의성있게 낮았으나(P<0.05) 치은염군과 치주염군간의 차이는 통계학적인 유의성이 없었다(P>0.05).

2. 적혈구내 정상군, 치은염군, 치주염군에 대한 catalase의 활성도

정상군, 치은염군과 치주염군의 적혈구내 catalase 활성도(U/ml)는 table 3와 같이 나타났는데 정상군(152.38±32.09), 치은염군(136.47±50.70), 치주염군(117.34±35.01)의 순서로 낮게 나타났으며, 치주염군의 catalase 활성도는 정상군에 비해 유의성있게 낮았으나(P<0.05), 정상군과 치은염군, 치은염군과 치주염군간에는 통계학적 유의성이 없었다(P>0.05).

3. 혈장과 적혈구내 치료전군과 치료후군에 대한 GSH-PX의 활성도

치료전군과 치료후군의 혈장과 적혈구내

Table 3. Comparison of glutathione peroxidase activity in plasma and red blood cells, and catalase activity in red blood cells (mean±S.D.)

Groups	(Unit : U/ml)		
	GSH-PX		Catalase
	Plasma	RBCs	RBCs
Normal(n=15)	1.0241± 0.0801	1.1963± 0.2044	152.38± 32.09
Gingivitis(n=7)	* 0.8683± 0.0658	* 0.8156± 0.1167	* 136.47± 50.70
Periodontitis(n=19)	0.7130± 0.1333	0.7533± 0.1185	117.34± 35.01

* : P<0.05

Table 4. Comparison of glutathione peroxidase activity in plasma and red blood cells, and catalase activity in red blood cells of pretreatment and posttreatment (mean± S.D.) (Unit : U/ml)

Groups	GSH-PX		Catalase
	Plasma	RBCs	RBCs
Pretreatment(n=17)	0.7608± 0.1600	0.7728± 0.1210	112.04± 43.65
Posttreatment(n=17)	* 1.0376± 0.2820	* 1.0421± 0.2330	† 133.41± 39.16

* : P<0.05, † : P>0.05

GSH-PX활성도(U/ml)는 table 4와 같이 나타났는데 혈장의 경우 치료후군(1.0376±0.2820)의 GSH-PX의 활성도는 치료전군(0.7608±0.1600)보다 통계학적으로 유의성있게 증가하였고(P<0.05), 적혈구의 경우 치료전군과 치료후군의 GSH-PX의 활성도는 치료후군(1.0412±0.2330)의 GSH-PX의 활성도가 치료전군(0.7728±0.1210)보다 통계학적으로 유의성있게 증가하였다(P<0.05).

4. 적혈구내 치료전군과 치료후군에 대한 catalase의 활성도

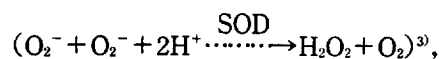
치료전군과 치료후군에 대한 적혈구내 catalase 활성도(U/ml)는 table 4와 같이 나타났는데 치료전군(112.04±43.65)에 비해 치료후군(133.41±39.16)의 적혈구내 catalase 활성도가 증가하였으나 통계학적인 유의성은 없었다(P>

0.05).

IV. 총괄 및 고안

생체세포는 흡입하는 산소농도를 증가시키거나, 대기중의 수많은 미립자와 독성물질에 노출됨으로서, 또는 허혈성 장애 후 조직의 재관류시에, 그리고 활성화된 식세포에 의해 과도한 반응성 산소유리기와 접할 수 있는데³³⁾, 산소유리기는 일반적인 세포손상 과정 최종 공통 경로로서 알려지고 있다¹⁾.

H₂O₂는 SOD의 촉매반응으로 발생되는데



glutathione peroxidase는 대부분이 세포질에 존재하며 glutathione thiol(GSH)을 gluta-

thione disulfide(GSSG)로 산화시킴과 동시에 H_2O_2 을 두분자의 H_2O 로 환원시킨다. 이때 산화형의 GSSG는 다시 NADPH와 GSH reductase에 의해 GSH로 재환원되어 반복해서 glutathione redox cycle을 이루면서 H_2O_2 나 다불포화지방산의 인산화반응시에 발생하는 지방산 hydroperoxide(lipid-OOH, ROOH)를 제거시킨다^{21,35)}. 반면 catalase는 세포의 peroxisome에 많이 존재하는데 인간의 간세포나 적혈구에 많고 뇌, 췌장, 폐세포에서는 비교적 적으며 주로 O_2^- 의 전환이나 환원형 flavo효소의 재산화시 생성되는 H_2O_2 을 제거한다¹⁹⁾.

본 연구에서 치주질환자의 말초혈액내 혈장과 적혈구내 GSH-PX의 활성변화는, 혈장내 GSH-PX의 경우 정상군(1.0241 ± 0.0801)에 비해 치은염군(0.8683 ± 0.0658)과 치주염군(0.7130 ± 0.1333) 공히 통계학적으로 유의성있게 감소하였으며, 적혈구내 GSH-PX의 경우 정상군(1.1963 ± 0.2044)과 치은염군(0.8156 ± 0.1167), 그리고 정상군(1.1963 ± 0.2044)과 치주염군(0.7533 ± 0.1185)에서만 통계학적으로 유의성있게 감소되었는데, 이는 GSH-PX의 활성도가 치은조직의 염증과 관련이 있음을 시사하며, 혈장내에서는 세군간에 공히 통계학적 유의성을 보인데 반해 적혈구내에서는 치은염군과 치주염군간에는 통계학적 유의성을 보이지 않은 것으로 보아 말초혈액내에서 GSH-PX의 활성도는 적혈구보다 혈장에서 더 민감하게 반응하는 것으로 사료된다. 적혈구내 catalase의 활성변화는, 정상군(152.38 ± 32.09)과 치주염군(117.34 ± 35.01)에서만 통계학적으로 유의성있게 감소되었는데, 적혈구내 catalase의 활성도가 정상군보다 치주염군에서 통계학적으로 유의성있게 낮았음을 보고한 황 등²⁷⁾의 보고와 일치하였다.

한편 적혈구내에서 GSH-PX의 활성도와 catalase의 활성도가 치은염군과 치주염군 사이에서는 통계학적으로 유의성이 없었는데, 치은조직내 catalase의 활성도가 치주염이 7mm 이상인 군에서만 유의성있게 감소했다는 김 등²⁶⁾의 보고와 비교해 볼 때, 질환군의 설정시 단순히 방사선적 평가와 임상적 지수에 의존하

였기 때문으로 사료된다.

치료전군과 치료후군의 항산화효소 활성변화에서, 혈장과 적혈구내 GSH-PX의 활성변화는 각각 치료전군(0.7608 ± 0.1600 , 0.7728 ± 0.1210)보다 치료후군(1.0376 ± 0.2820 , 1.0421 ± 0.2330)에서 활성도가 유의성 있게 증가한 반면, 적혈구내 catalase의 활성변화는 치료전군(112.04 ± 43.65)보다 치료후군(133.41 ± 39.16)에서 활성도가 증가하였지만 통계학적 유의성은 없는 것으로 나타난 바, catalase보다는 GSH-PX가 치은조직의 염증변화에 더 관련이 있음을 시사한다.

한편 염증치료전에 비해 염증치료후의 임상지수는 탐침깊이($4.24 \rightarrow 3.25$)와 부착상실($5.06 \rightarrow 4.40$)은 크게 개선되지 않은 반면 치은의 염증심도를 반영하는 치은지수($2.30 \rightarrow 0.72$)와 치간유두 출혈지수($2.28 \rightarrow 0.48$)가 크게 개선되었는데, 염증감소에 따라 항산화효소의 활성도가 증가되는 것으로 보아 GSH-PX와 catalase가 조직의 파괴 정도보다는 현재 염증상태를 반영한 것으로 사료된다.

송 등³⁶⁾은 GSH-PX의 활성도가 성, 흡연, 과산화된 지질의 섭취 등의 요소에 의해서도 영향을 받을 수 있다고 보고하였는데, 본 연구에서는 연구대상의 성비와 흡연자/비흡연자 비율의 불균형으로 인하여 성비와 흡연유무에 따른 GSH-PX의 활성도는 비교할 수 없었다. 향후 치주질환의 위험인자로서 간주되고 있는 흡연자에 있어서 항산화효소의 활성변화에 대한 연구가 필요하리라 사료된다.

본 연구는 치주질환에 이환된 환자의 말초혈액내 적혈구와 혈장내에서 glutathione peroxidase와 catalase의 활성변화를 알아봄으로써 치주조직의 염증상태와 항산화효소의 활성변화가 관계가 있음을 규명하고자 시행하였는데, 단순히 활성도변화만이 측정되었다.

현재 인간의 질환발생에 대한 새로운 개념으로서 산화제들의 역할이 점점 더 명확해지고 있는 바³⁷⁾, 산화제의 공격 목표가 되는 특이분자에 대한 연구 등 세포손상에 관련된 기전을 밝히는데 지속적인 연구가 필요하리라 사료된다.

V. 결 론

치주질환의 병인발생에 있어서, 질환에 이환된 환자의 말초혈액내 다형핵 백혈구에서 반응성 산소유리기가 증가되어 이 유리기로 인하여 치주조직이 파괴될 수 있고, 치주질환 심도와 항산화효소의 활성간에 밀접한 관계가 있음이 보고되고 있다.

본 연구의 목적은 치주조직의 염증변화에 따라 치주질환에 이환된 환자들의 혈장과 적혈구내에서 생성된 과산화수소를 소거하는 glutathione peroxidase(GSH-PX)와 catalase의 활성변화를 규명하는데 있다.

연구대상으로는 조선대학교 치과대학 치주과에 내원한 환자들중에서 치은염증이 없는 정상군(15명: 22세~29세, 평균24.6세), 치은염군(7명: 19세~30세, 평균23.8세), 그리고 치주염군(19명: 23세~77세, 평균43.3세)으로 분류하였다.

질환군에 따른 항산화효소의 활성변화를 측정하기 위하여 초진시 주정중피정맥(anterior cubital vein)에서 혈액 1ml를 채취하였으며, 염증변화에 따른 활성변화를 측정하기 위하여 치석제거술과 치근면활택술을 시행하여 염증을 제거한 후 다시 혈액 1ml를 채취하였다. 채취한 혈액은 원심분리를 통하여 혈장과 적혈구로 분리한 후 GSH-PX 활성도는 Stefan 등의 방법에 따라, catalase의 활성도는 Beers 등의 방법에 따라 측정하였다.

통계처리는 통계프로그램인 SPSS/PC+를 이용하였는데, 질환군들간의 항산화효소의 활성변화는 ANOVA(Duncan's method)를 이용하였으며, 치료전군과 치료후군간의 변화는 student t-test를 이용하여 $P < 0.05$ 수준에서 통계학적 유의성을 검증하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 혈장내 GSH-PX의 활성도는 정상군(1.0241 ± 0.0801), 치은염군(0.8683 ± 0.0658), 치주염군(0.7130 ± 0.1333)의 순서로 서로간에 통계학적 유의성이 있게 낮았으며($P < 0.05$), 적혈구내 GSH-PX의 활성도는 정상군

(1.1963 ± 0.2044)에 비해 치은염군(0.8156 ± 0.1167)과 치주염군(0.7533 ± 0.1185)에서 각각 통계학적 유의성이 있게 낮았으나($P < 0.05$), 치은염군과 치주염군간의 차이는 통계학적 유의성이 없었다($P > 0.05$).

2. 적혈구내 Catalase 활성도는 정상군(152.38 ± 32.09)에 비해 치주염군(117.34 ± 35.01)에서 통계학적 유의성이 있게 낮았다($P < 0.05$).
3. 혈장내 GSH-PX의 활성도는 치료전군(0.7608 ± 0.1600)에 비해 치료후군(1.0376 ± 0.2820)에서 통계학적 유의성이 있게 증가되었으며($P < 0.05$), 적혈구내 GSH-PX의 활성도는 치료전군(0.7728 ± 0.1210)에 비해 치료후군(1.0421 ± 0.2330)에서 통계학적 유의성 있게 증가되었다($P < 0.05$).
4. 적혈구내 Catalase 활성도는 치료전군(112.04 ± 43.65)에 비해 치료후군(133.41 ± 39.16)에서 증가되었으나 통계학적 유의성은 없었다($P > 0.05$).

이상의 제한된 실험내에서의 결과를 볼때 치주질환자의 말초혈액내 glutathione peroxidase와 catalase의 활성변화가 치주조직의 염증상태와 관련이 있음을 시사하였다.

참고문헌

1. Robbins, S.L., Cotran, R.S. and Kumar, V. : Pathological Basis of Disease, 3th ed., Washington : W.B. Saunders Co., 1984, pp. 1-39.
2. Drath, D.B. and Karnovsky, N.L. : "Superoxide production by phagocytic leukocytes," J. Exp. Med., 141 : 257-261, 1975.
3. Hägglöf, B., Marklund, S.L. and Holmmgren, J. : "CuZn superoxidase dismutase, Mn superoxidase, catalase and glutathione peroxidase in lymphocytes and erythrocytes in insulin-dependent diabetic children," Acta. Endocrinologica., 102 : 235-239, 1983.

4. Babior, B.M. : "Oxygen-dependent microbial killing by phagocytosis," *N. Engl. J. Med.*, 298 : 659-668, 1979.
5. Bartold, P.M., Wiebkin, O.W. and Thonard, J.C. : "The effect of oxygen-derived free radicals on gingival proteoglycans and hyaluronic acid," *J. Periodont. Res.*, 19 : 390-400, 1984.
6. Fantone, J.C. and Ward, P.A. : "Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions," *Am. J. Pathol.*, 107 : 397-418, 1982.
7. Fridovich, I. : "Antioxidant defenses in the lung," *Ann. Rev. Physiol.*, 48 : 693-702, 1986.
8. Greenwald, R.A. and Moy, W.W. : "Effect of oxygen derived free radicals on hyaluronic acid," *Arthritis. Rheum.*, 23 : 455-463, 1980.
9. Carroll, E.C., Barry, H. and Edward, T.B. : "Oxygen radicals and human disease," *Annals of Internal Medicine.*, 107 : 526-545, 1987.
10. Clark, R.A. and Klebanoff, S.J. : "Myeloperoxidase-mediated platelet release reaction," *J. Clin. Invest.*, 63 : 177-183, 1979.
11. Clark, R.A. and Klebanoff, S.J. : "Neutrophil-mediated tumor cell cytotoxicity : Role of the peroxidase system," *J. Exp. Med.*, 141 : 1442-1447, 1975.
12. Dechatelet, L.R. : "Oxidative bactericidal mechanisms of polymorphonuclear leukocytes," *J. Infect. Dis.*, 131 : 295-303, 1975.
13. Klebanoff, S.J. and Clark, R.A. : "Hemolysis and iodination of erythrocyte components by a myeloperoxidase-mediated system," *Blood*, 45 : 699-707, 1975.
14. Kimura, S., Yonemura, T. and Kaya, H. : "Increased oxidative product formation by peripheral blood polymorphonuclear leukocytes in human periodontal diseases," *J. Periodont. Res.*, 28 : 197-203, 1993.
15. Asman, B., Bergström, K., Wijkander, P. and Lockowandt, B. : "Influence of plasma component on luminol-enhanced chemiluminescence from peripheral granulocytes in juvenile periodontitis patients," *J. Clin. Periodontol.*, 13 : 850-855, 1986.
16. Shapira, L., Borinski, R., Sela, M.N., and Soskolne, A. : "Superoxide formation and chemiluminescence of peripheral polymorphonuclear leukocytes in rapidly progressive periodontitis patients," *J. Clin. Periodontol.*, 18 : 44-48, 1991.
17. 박래정 · 이광표 : 「물리화학」, 제3개정판, 서울 : 청문각, 1984, 159-185.
18. 전병관 : 「대학화학」, 서울 : 창문각, 1988, 139-152.
19. Deisseroth, A. and Dounce, A.L. : "Catalase physical and chemical properties, mechanism of catalysis, and physiological role," *Physiological reviews*, 50 : 319-375, 1970.
20. Donald, E.P. and William, N.V. : "Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase," *J. Exp. Med.*, 44 : 238-245, 1981.
21. Gordon, C.M. : "The purification and properties of glutathione peroxidase of erythrocytes," *J. Biol. Chem.*, 234 : 502-506, 1958.
22. Brunori, M. and Rotilio, G. : "Biochemistry of oxygen radical species," *Methods Enzymol.*, 105 : 22-35, 1984.
23. Matkovic, B. : "Superoxide and Superoxide Dismutase," Michelson, A.M., McCord, J.M., and Fridovich, I., ed., Academic Press, New York, 501-523, 1977.
24. McCormic, J.R., Harkin, M.M., Johnson, K.J. and Ward, P.A. : "Suppression by superoxide dismutase of immune complex-induced pulmonary alveolitis and dermal

- inflammation," *Am. J. Pathol.*, 102 : 55-61, 1981.
25. Wong, G.H. and Goeddel, D.V. : "Introduction of mangnous superoxide dismutase by tumor necrosis factor, Possible protective mechanism," *Science.*, 242 : 941-944, 1988.
 26. 김병욱 : "치주질환 심도에 따른 치은조직 내 superoxide dismutase와 catalase의 활성변화에 관한 연구," 치의학 박사학위 논문, 경희대학교, 1994.
 27. 황승환 : "치주염 환자의 혈장과 적혈구내 superoxide dismutase와 catalase의 활성도에 관한 연구," 「대한치주학회지」, 제25권, 제1호 : 167-178, 1994.
 28. L e, H. and Silness, J. : "Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity," *Acta. Odonto. Scand.*, 21 : 533-542, 1963.
 29. Saxer, U.P. and M hlemann, H.R. : "Motivation and aufklarung," *Schweiz. Mschr. Zahnheilk.*, 85 : 905-906, 1975.
 30. Bradford, M.M. : "A rapid and sensitive method for the quantitation of microorganism quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding," *Anal. Biochem.*, 72 : 24 8-252, 1976.
 31. Stefan, L.M., Jorgen, M. and Gunnar, W. : "CuZn Superoxide dismutase, Mn superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in glutathione-deficient human fibroblasts," *Biochimica. Biophysica. Acta.*, 798 : 302-305, 1987.
 32. Beers, R.F. and Seizer, I.W. : "Spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase," *J. Biol. Chem.*, 195 : 133-140, 1951.
 33. 서승천 · 허성호 : "산소유리기와 폐질환," 「대한내과학회지」, 제37권, 제1호 : 1-12, 1990.
 34. 정명희 : "식세포의 산소의존성 살균작용," 「대한화학요법학회지」, 제2권, 제1호 : 3-22, 1984.
 35. Gordon, C.M. : "Glutathione peroxidase and the destruction of hydrogen peroxide in animal tissues," *Arch. Biochem. Biophys.*, 86 : 1-5, 1960.
 36. 송용범 · 변광의 · 장성근 : "수태중인 흰쥐의 항산화효소 활성에 관한 연구," 「한국생화학회지」, 제27권, 제2호 : 161-165, 1994.
 37. Halliwell, B. : "Oxidants and human disease : some new concepts," *FASEB J.* 1 : 358-364, 1987.

STUDY ON THE ALTERATION OF GLUTATHIONE PEROXIDASE & CATALASE ACTIVITY IN PERIPHERAL BLOOD OF PERIODONTAL DISEASE PATIENTS

Kim, Byung-Ok, Kim, Chan-Jin, Han, Kyung-Yoon
Department of Dentistry, School of Dentistry, Chosun University

It has been believed that the increased release of free oxygen radicals (O_2^- , H_2O_2 , and OH^-) might be a factor in the pathogenesis of periodontal diseases.

Antioxidant enzymes such as glutathione peroxidase (GSH-PX) and catalase can protect the tissue damage from the H_2O_2 .

In order to investigate the GSH-PX and catalase activity in the blood plasma and red blood cells (RBCs) of the patients with periodontitis, 19 patients who had good general health, attachment loss more than 6 mm and bone loss were selected as periodontitis group, 7 patients who had severely inflamed gingiva were selected as gingivitis group, and 15 volunteers with good general and periodontal health were selected as normal group. 17 of 26 patients were performed scaling and root planing to reduce the gingival inflammation for gingivitis and periodontitis groups, and were selected as posttreatment group.

After blood plasma and RBCs were collected and separated 1 ml of peripheral blood from each subject, GSH-PX activity in blood plasma and RBCs was measured by the same method that Stefan et al. did, and catalase activity in RBCs was measured by the same method that Beers et al. did.

The difference of GSH-PX and catalase activity between normal, gingivitis, and periodontitis groups was statistically analyzed by ANOVA with SPSS/PC+ program, and the difference between pretreatment and posttreatment groups was analyzed by Student t-test.

The results were as follows :

1. GSH-PX activity in blood plasma was significantly lower in the gingivitis group (0.8683 ± 0.0658), periodontitis group (0.7130 ± 0.1333) than in the normal group (1.0241 ± 0.0801) ($p < 0.05$), and GSH-PX activity in RBCs was significantly lower in the gingivitis group (0.8156 ± 0.1167), periodontitis group (0.7533 ± 0.1185) than in the normal group (1.1963 ± 0.2044) ($P < 0.05$), but there was no statistical significance in the difference of GSH-PX activity in RBCs between the gingivitis group and periodontitis group ($p > 0.05$).
2. Catalase activity in RBCs was significantly lower in the periodontitis group (117.34 ± 35.01) than in the normal group (152.38 ± 32.09) ($p < 0.05$).
3. GSH-PX activity in blood plasma was significantly increased in the posttreatment group (1.0376 ± 0.2820) compared to the pretreatment group (0.7608 ± 0.1600) ($p < 0.05$), and GSH-

PX activity in RBC was significantly increased in the posttreatment group(1.0421 ± 0.2330) compared to the pretreatment group(0.7728 ± 0.1210) ($p < 0.05$).

4. There was no statistical significance in the difference of catalase activity in RBCs between the pretreatment group(112.04 ± 43.65) and posttreatment group(133.41 ± 39.16) ($p > 0.05$).

The results, within the limits of the present experiment, suggest that the lowered activity of GSH-PX and catalase in blood plasma and RBCs may be related with periodontopathogenesis.