

급성 간손상의 실험동물 피부조직에 있어서 Oxygen Free Radical의 대사효소 활성 변동

동원대학 피부미용과, 계명대학교 공중보건학과*

채순님 · 전태원* · 윤종국*†

국문초록: 실험동물에 있어서 CCl₄에 의한 급성 간손상시 피부조직의 oxygen free radical 대사효소 활성 변동을 검토하기 위해 흰쥐에 CCl₄와 olive oil의 동량 혼합액을 체중 100 g당 0.1 ml씩 복강으로 투여하여 처치하였다. CCl₄ 투여로 인한 혈청 alanine aminotransferase 및 xanthine oxidase (XO) 활성은 현저히 증가되었으며 체중당 간무게 (%) 및 간조직의 malondialdehyde 함량 역시 유의하게 증가되었다. 그리고 병리조직 검사에서도 CCl₄ 투여군에서 간조직의 괴사성 병변이 관찰되었다. 따라서 CCl₄를 투여한 실험동물이 급성 간손상 모델로 확인되었다. 이와 같은 간손상 실험동물의 피부조직 중 oxygen free radical의 생성효소인 XO 활성은 대조군과 별다른 차이를 볼 수 없었으나 oxygen free radical의 scavenging 효소인 superoxide dismutase, glutathione peroxidase 및 catalase 활성은 대조군에 비하여 유의하게 감소되었다. 또한 세포화학적 검사에서 cerrous perhydroxide 과립이 간손상 실험동물의 피부조직에서 많이 나타났다. 이상 실험결과는 CCl₄에 의한 급성 간손상 유도 실험동물의 피부조직에 H₂O₂의 축적이 나타나는 현상을 시사해주고 있다.

서 론

최근 산업의 급속한 발전에 따라 생산된 산업 화학물질은 인체에 폭로시 여러 장기의 손상을 초래하고 직업병을 유발시키고 있는 실정이다¹²⁾. 더욱이 산업장 및 생활 공간에서의 화학물질로 인한 피부질환은 사회적 문제로 대두되고 있다.

일반적으로 피부질환은 대사성, 순환장애, 염증 및 종양성 등으로 인한 병태생리적 현상으로 나타나는 것으로 알려져 있다¹⁶⁾. 그리고 피부 상태는 당뇨병이나 신장질환과 같은 질병 및 생체 장기들의 기능과 관련성이 있음이 알려져 있다^{5,17,18)}. 그리고 간질환의 합병증으로 야기된 피부질환에 대한 보고는 접할 수 있으나 간질환에 따른 피부의 병태생리에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 따

라서 CCl₄에 의한 간손상시 피부조직의 병태생화학적 관찰은 산업장 및 생활환경에서의 산업화학물질로 인한 피부건강 예방의 기초자료 제시에 의의가 클 것으로 생각된다. 최근 윤종국 등¹⁹⁾의 CCl₄에 의한 간손상은 간조직에 있어서 CCl₄의 대사산물인 trichloromethyl (\cdot CCl₃) free radical과 더불어 이의 triggering 현상으로 나타난 oxygen free radical에 기인된다는 보고를 고려해 볼 때 CCl₄에 의한 간손상시 피부조직에도 이들 free radical에 의한 영향이 나타날 것이라는 점을 배제할 수 없다.

이에 본 연구는 CCl₄를 흰쥐에 투여하여 간손상을 유도시킨 뒤 피부조직을 절취하여 oxygen free radical의 생성 및 해독계에 관여하는 효소 활성을 측정하는 한편 이들 효소 활성 변동의 원인을 규명하는 일환으로 세포화학적 관찰을 시도하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물의 사육 및 처치

동물은 체중 200 g 내외의 외견상 건강한 Spra-

* 논문 접수: 1999년 4월 13일

수정재접수: 1999년 6월 1일

† 별책 요청 저자: (우) 704-701 대구광역시 달서구 신당동 1000번지, Tel: (053) 580-5230, Fax: (053) 580-5164, E-mail: jky446@kmucc.keimyung.ac.kr

gue-Dawley 종의 숫 흰쥐를 시중에서 구입 후 동물사료 (삼양사 제품)와 물을 충분히 공급하면서 사육실에서 1주일 적응시켜 실험에 사용하였다. 실험기간중 물과 사료의 양은 제한 없이 공급하였고 사육실 온도는 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 를 유지하였다. 급성 간손상의 유도는 CCl_4 를 olive oil과 1:1 혼합액을 만들어 체중 100 g당 0.1 ml씩 실험군 각 7마리에 2일 간격으로 6회 복강 내 주사하였으며 마지막 투여 후 24시간 뒤 처치하였다.

동물의 처치는 효소 활성의 일 중 변동을 고려하여 일정시간에 실시할 수 있도록 시간을 조절하였다. 동물은 ether 마취 하에서 복부 정중선을 따라 개복한 후 복부대동맥으로부터 채혈하여 실험사 시킨 후, 4°C 생리식염수로 간문맥을 통하여 간을 관류하여 간 내에 남아있는 혈액을 제거한 다음 적출하였다. 적출한 간은 생리식염수로 씻은 후 여지로 압박하여 간 내에 남아있는 생리식염수를 가능한 모두 제거한 다음 무게를 칭량하고 malondialdehyde (MDA) 함량 측정 및 광학현미경 검사에 사용하였다. 채취한 혈액은 실온에서 30분간 방치한 다음 3000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻고 xanthine oxidase (XO) 및 alanine aminotransferase (ALT) 활성 측정용 시료로 사용하였다.

한편 실험동물 처치시 피부조직은 털을 깎은 후 표피와 진피 부분을 모두 적출한 뒤 생리식염수로 표면을 잘 닦은 다음 효소 활성 측정 및 전자현미경 검사 시료로 제공하였다.

2. 효소시료의 조제

간조직은 빙냉 하에서 절편으로 만들고 그 중 일정량을 칭량한 후, 4배량의 0.1 M 인산완충용액 (pH 7.4)을 가하여 glass teflon homogenizer로 20% (w/v) 마쇄균질액을 만들었다.

피부조직은 빙냉 하에서 미세 절편으로 만들고 그 중 일정량을 칭량한 후, 4배량의 0.1 M 인산완충용액 (pH 7.4)을 가하여 biohomogenizer와 glass teflon homogenizer로 20% (w/v) 마쇄균질액을 만들었다. 이 마쇄균질액을 $600 \times g$ 에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄부분을 제거하고 $10,000 \times g$ 에서 20분간 원심분리하여 mitochondria 분획을 얻고 그 상등액을 $105,000 \times g$ 에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosol 분획과 microsome 분획을 분리하였다.

3. 피부조직 중 oxygen free radical의 generating 및 scavenging 효소 활성 측정

1) 유해산소 생성 관련 효소 활성

XO 활성 측정은 xanthine을 기질로 하여 30°C 에서 20분간 반응시켜 생성된 uric acid를 292 nm에서 흡광도를 측정하는 Stirpe와 Della Corte의 방법²⁰⁾에 의하여 측정하였으며 효소 활성 단위는 피부조직의 효소시료액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 기질인 xanthine으로부터 생성된 uric acid의 양을 nmole로 표시하였다.

한편 microsomal aniline hydroxylase (AH) 활성 측정은 aniline을 기질로 하여 37°C 에서 15분간 반응시킨 후, 생성된 *p*-aminophenol을 phenol 시약으로 발색시켜 640 nm에서 흡광도를 측정하는 Bidlack과 Lowery의 방법⁴⁾에 준하여 측정하였다. 활성 단위는 효소시료 중 함유된 단백질 1 mg이 1시간 반응하여 생성된 *p*-aminophenol의 양을 nmole로 표시하였다.

2) 유해산소 해독 관련 효소 활성

Cytosolic superoxide dismutase (SOD) 활성 측정은 hematoxylin 자동산화의 억제 정도를 관찰하는 Martin 등의 방법¹¹⁾에 준해 0.1 mM EDTA가 함유된 50 mM 인산완충액 (pH 7.5)에 $10 \mu\text{M}$ hematoxylin 및 효소액을 가해 25°C 에서 반응시켜 생성된 hematein을 560 nm에서 측정하여 효소의 활성을 산정하였다. 활성 단위는 효소액을 넣지 않고 반응시킨 액 중의 hematoxylin의 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1 unit로 하였다.

Cytosolic glutathione S-transferase (GST) 활성 측정은 Habig 등의 방법⁷⁾에 준해 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB)과 glutathione을 기질로 하여 25°C 에서 10분간 반응시키는 동안 생성된 2,4-dinitrobenzene-glutathione의 conjugate량을 340 nm에서 흡광도를 측정하였다. 활성도 단위는 효소 반응액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 생성시킨 conjugate의 양을 nmole로 표시하였다.

또한 cytosolic glutathione peroxidase (GPx) 활성 측정은 Paglia와 Valentine의 방법¹⁴⁾에 따라 glutathione 기질과 조효소인 NADPH를 시료와 함께 25°C 에서 5분간 반응시켜 생성된 흡광도의 변동을 340 nm에서 측정하였으며 활성도 단위는 단백질 1 mg이 1분 동안 산화시킨 NADPH 양을 nmole로 표시하였다.

Mitochondrial catalase (CAT) 활성 측정은 hy-

drogen peroxide (H₂O₂)를 기질로 하여 환원되는 정도를 240 nm에서 흡광도를 읽고 분자흡광계수 (0.041 mM⁻¹ · cm⁻¹)를 이용하여 활성을 측정하는 Aebi (1974)의 방법³⁾에 준하였으며 활성 단위는 효소시료 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분간 반응하여 감소된 H₂O₂ 양을 nmole로 표시하였다.

이상 모든 효소 활성 단위는 본문에서 대조군에 대한 백분율 (%)로 표시하였다.

4. 혈청 중 XO 및 ALT 활성 측정

혈청 중 XO 활성 측정은 xanthine을 기질로 하여 생성된 uric acid를 phosphotungstate를 가하여 비색 정량하는 Yoon의 방법²¹⁾에 준하여 측정하였으며 활성 단위는 xanthine으로부터 생성된 uric acid의 양을 혈청 1 ml당 μmole로 표시하였다.

혈청 ALT 활성도 측정은 *l*-alanine 및 α-ketoglutaric acid를 기질로 하여 37℃에서 30분간 반응시켜 생성되는 pyruvic acid를 알칼리 하에서 2,4-dinitrophenyl hydrazine과 작용하여 발색되는 hydrazone의 색조를 측정하는 Reitman과 Frankel의 방법¹³⁾에 의하였으며 활성 단위는 혈청 ml당 Karmen unit⁸⁾로 표시하였다.

5. 간조직 과산화 지질 (malondialdehyde, MDA) 함량 측정

간조직 중 MDA 함량 측정은 Ohkawa 등의 방법¹³⁾에 준하였다. 즉 간조직 마쇄균질액 중 과산화지질을 산성 조건 하에서 thiobarbituric acid 용액과 가열 반응시켜 생성된 물질을 532 nm에서 흡광도를 측정하였으며 단위는 MDA 양을 조직 1 g당 nmole로 표시하였다.

6. 단백질 정량

단백질의 정량은 Lowry 등의 방법¹⁰⁾에 의해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 측정하였다.

7. 광학현미경 관찰

간조직의 조직학적 변화를 관찰하기 위해 대조군 및 CCl₄ 투여군에서 적출한 간의 중엽을 즉시 10% neutral buffered formalin 액에 고정하고, 고정이 끝난 조직을 흐르는 물에 수세한 후 순차적으로 증가되는 농도 순서에 따라 alcohol로 탈수하여 paraffin에 포매하였다. 포매된 조직을 4 μm 두께로 절편한 (Lipshaw, model 45) 다음, hematoxylin-eosin 염색하고 광학현미경 (Olympus, BH-2)으로

관찰하였다.

8. 전자현미경 관찰

전자현미경적 관찰을 위하여 대조군 및 CCl₄ 투여군에서 적출한 피부조직을 적출 즉시 1 mm³ 크기로 세절하고, 2.5% glutaraldehyde (0.1 M phosphate buffer pH 7.4)로 고정한 다음 전고정이 끝난 조직을 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 수세한 후 1% osmium tetroxide (0.1 M phosphate buffer pH 7.4)로 1시간 동안 후고정 하였다. Alcohol-propylene oxide 계열로 순차적으로 증가하는 농도에 따라 탈수한 다음, epoxy resin에 포매하였다. 포매된 조직은 열중합시키고 60~70 nm로 초박질편한 다음 (Reichert supernova, Reichert) uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색한 후 투과전자현미경 (Hitachi H-600)으로 관찰하였다.

9. Hydrogen peroxide 분포 관찰을 위한 세포 화학적 방법

대조군 및 CCl₄ 투여군에서 적출한 피부조직을 1 mm³ 크기로 세절한 다음 즉시 2.0 mM cerium chloride, 10 mM 3-amino-1,2,4-triazole, 0.1 M tris-maleate buffer (pH 7.5), 7% sucrose, 0.0002% triton X-100으로 조제된 기질에 담그고, 37℃에서 1시간 반응시켰다. 반응이 끝난 조직을 0.1 M tris-maleate buffer (pH 7.5)와 0.1 M sodium cacodylate buffer (pH 7.4)로 각각 차례로 수세한 후 1% osmium tetroxide (0.1 M phosphate buffer pH 7.4)로 고정하여 통상의 전자현미경 표본제작법으로 탈수, 포매, 중합, 절편을 만들고 uranyl acetate 단염색하여 투과전자현미경 (H-600, Hitachi)으로 관찰하였다.

10. 성적 검정

실험 성적의 통계처리는 Student's t-test¹⁹⁾로 하였으며 유의수준은 0.05 이하로 하였다.

결 과

1. CCl₄ 투여에 의한 간손상 유도 확인

CCl₄를 2일 간격으로 6회 투여한 실험동물의 체중당 간무게 (%), 혈청 ALT와 XO 활성 및 간조직의 MDA 함량을 나타낸 것이 table 1과 같다.

CCl₄ 투여로 인한 체중당 간무게 (%)는 대조군에 비해 CCl₄ 투여군이 56% 유의하게 (p<0.01)

Table 1. Changes of liver weight per body weight (LW/BW %), serum alanine aminotransferase (ALT), xanthine oxidase (XO) activities and hepatic malondialdehyde (MDA) contents in CCl₄-treated rats

Parameters	Control	CCl ₄ -treatment
LW/BW (%)	3.10 ± 0.05	4.84 ± 0.55**
Serum ALT ¹⁾	25.00 ± 0.55	126.29 ± 17.86***
Serum XO ²⁾	10.80 ± 0.44	23.10 ± 4.23*
MDA ³⁾	2.36 ± 0.06	5.50 ± 1.69

Each value represents the mean ± S.E. of 7 rats. Significantly different from control group (*; p<0.05, **; p<0.01, ***; p<0.001).

Unit; ¹⁾ Karmen unit/ml of serum
²⁾ μmoles uric acid formed/l of serum
³⁾ nmoles/g of tissue

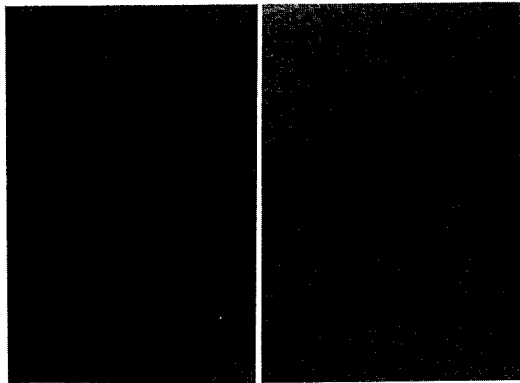


Fig. 1. CCl₄-treated group (H & E stain, ×100). Centrilobular necrosis was noted, and inflammatory cells were found in the necrotic area. C: central vein.

Fig. 2. Normal group (H & E stain, ×100). The tissue structure was intact. C: central vein.

증가되었고, 혈청 ALT 활성은 약 5.1배로 현저히 (p<0.001) 증가되었다. 그리고 혈청 XO 활성 역시 약 2.1배 (p<0.05)로 증가되었으며, 간조직 중 MDA 함량 역시 대조군에 비하여 약 2.3배 증가되었다.

한편 CCl₄ 투여군에 있어서 병리조직 검사에서는 간세포의 비대와 중심정맥 주변부의 세포괴사와 함께 괴사부에서는 염증세포가 다수 관찰되었다 (Fig. 1). 정상군은 별다른 병리적 소견이 관찰되지 않았다 (Fig. 2).

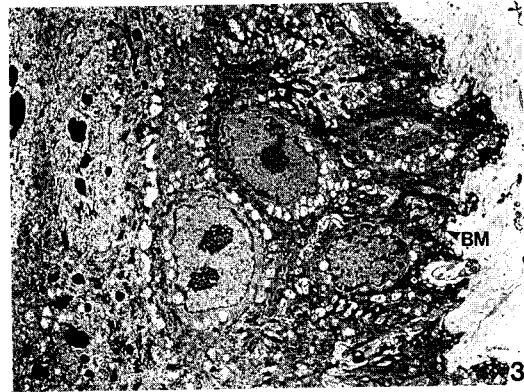


Fig. 3. Normal group (routine electron microscopy, uranyl acetate and lead citrate stain, original mag. ×2,500). The cell structure was intact. Epidermal epithelium consists of 3~4 layers, and basal epithelial cells adhered with adjacent cells by desmosome. Arrowheads: basement membrane, D: desmosome.

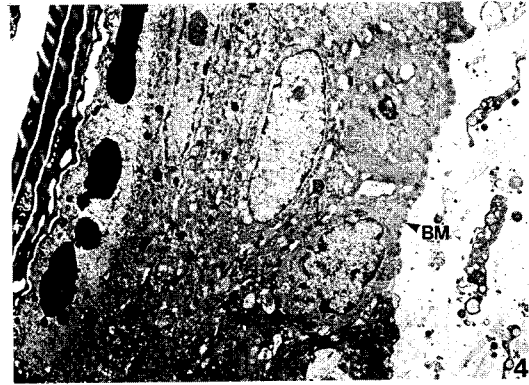


Fig. 4. CCl₄-treated group (routine electron microscopy, uranyl acetate and lead citrate stain, original mag. ×3,000). The cell structure was intact like normal cell. D: desmosome, BM: basement membrane.

2. 피부조직 미세구조적 변화

대조군의 표피층은 3~4층의 세포들로 구성되어 있으며, 상피세포는 기저막을 경계로 진피층과 잘 결합된 모습이였다. 상피세포의 세포간 연결구조로는 부착반점 (desmosome)의 형성이 뚜렷하였는데, 기저막과 접한 기저세포를 제외하고는 모두 돌기구조로 인접세포와 연결을 형성하였고 그 연결부에는 부착반점이 잘 발달되어 있었다 (Fig. 3).

CCl₄ 투여군의 미세구조는 대조군과 유사하였는데, 상피세포의 기저막 아래로 진피층의 형성이

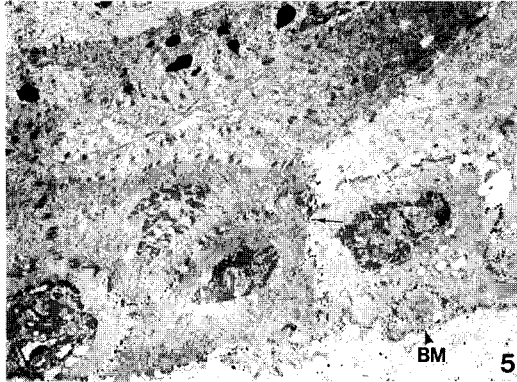


Fig. 5. Normal group (cytochemical electron microscopy, uranyl acetate stain, *original mag.* $\times 4,000$). Deposit of cerrous perhydroxide reacted with H_2O_2 was found in the intercellular space of basal cells.

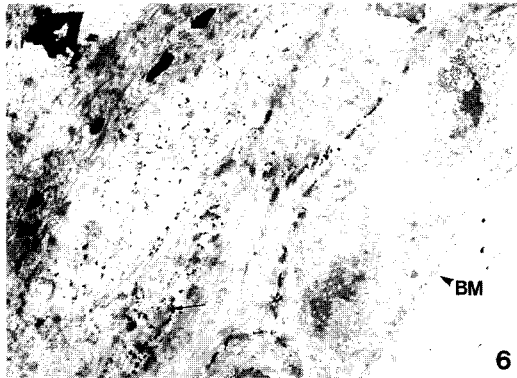


Fig. 6. CCl_4 -treated group (cytochemical electron microscopy, uranyl acetate stain, *original mag.* $\times 5,000$). Deposit of cerrous perhydroxide was found in the intercellular space of epithelial cells. The deposit was coarse granules which differ from the normal group. BM: basement membrane.

잘 되어 있으며, 기저층의 세포는 핵이 둥근 입방형으로 세포간 연결이 잘 발달되어 있었다. 표피층은 3~4층으로 뚜렷 하였고, 자유면의 케라틴은 층상의 정상적인 배열로 관찰되었다 (Fig. 4).

3. 피부조직 H_2O_2 localization의 세포화학적 소견

대조군은 H_2O_2 반응산물인 cerrous perhydroxide 과립이 기저막에 연한 기저세포의 세포간질 부분에 한정적으로 분포되어 있으며, 반응양상은 약하였다 (Fig. 5). 그러나 CCl_4 투여군에서 cer-

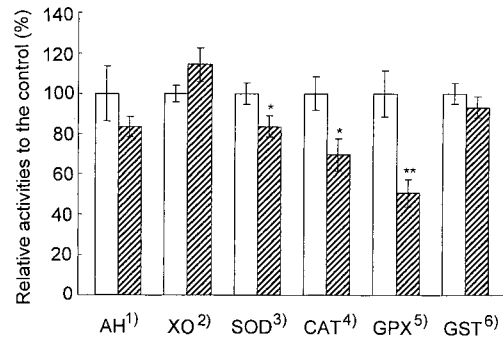


Fig. 7. Change of dermal oxygen free radical generating and scavenging enzyme activities in liver-damaged rats induced with CCl_4 . Each value represents the mean \pm S.E. of 7 rats and indicates relative activities to the control (%). Significantly different from control group (*; $p < 0.05$, **; $p < 0.01$)
Unit: 1) nmoles *p*-aminophenol/mg protein/hr
2) nmoles uric acid formed/mg protein/min
3) unit[#]/mg protein ([#]: 50% inhibition of auto oxidation of hematoxylin)
4) nmoles H_2O_2 reduced/mg protein/min
5) NADPH oxidized nmoles/mg protein/min
6) 2,4-dinitrobenzene-glutathione conjugate nmoles/mg protein/min
□: Control, ▨: CCl_4 -treatment

rous perhydroxide 과립의 분포양상은 대조군과 같이 기저층 세포의 세포간질에서 관찰되었으나, 과립의 반응 정도는 대조군 보다 다소 강하게 나타났다 (Fig. 6).

4. CCl_4 에 의한 간손상 실험동물에서 피부조직의 oxygen free radical 대사효소 활성

AH 활성도는 대조군에 비해 CCl_4 투여군이 약 17% 감소되었으나 XO 활성은 대조군에 비해 약 14%의 증가되었다. 한편 SOD 활성은 CCl_4 투여군이 대조군에 비해 약 16% 유의하게 ($p < 0.05$) 감소되었으며, CAT 활성 역시 약 30%로 유의한 ($p < 0.05$) 감소를 보였다. 또한 GPx 활성은 CCl_4 투여군이 대조군에 비해 약 49%의 유의한 ($p < 0.01$) 감소를 보였고, GST 활성도는 대조군에 비하여 다소 감소되는 경향을 보였다 (Fig. 7).

고 찰

본 실험에서 실험동물에 CCl_4 를 6회 투여시 체중당 간무게 (%)와 간손상시에 증가된다는 혈청

XO²⁾ 활성 및 간조직의 MDA 함량¹⁾이 대조군에 비하여 유의하게 증가되었으며 혈청 ALT 활성은 현저히 증가되었다. 또한 간조직 병리조직 검사 소견에서는 간세포 중심정맥 주변부에 괴사세포가 심하게 나타났다. 따라서 본 실험에서 사염화탄소를 투여한 실험동물이 급성 간손상 모델 실험동물로 확인되었다. 이와 같이 급성 간손상이 초래된 실험동물의 피부조직에 있어서 세포화학적 검사에서 cerrous perhydroxide 과립 분포가 강하게 나타났으며 또한 oxygen free radical generating enzyme인 AH 및 XO 활성¹⁾은 대조군과 별다른 차이를 볼 수 없었으나 oxygen free radical scavenging enzyme인 SOD¹⁾, CAT¹⁾ 및 GPx 활성¹⁾은 대조군에 비하여 유의하게 감소되었다. 그리고 일반적으로 xenobiotics에 의한 조직의 손상은 free radical의 생성계와 해독계의 불균형에 의하여 야기되는 것으로 알려져 있다^{6,9)}. 또한 윤종국 등¹⁾은 CCl₄와 같은 xenobiotics에 의하여 간손상이 유도된 실험동물에 있어서 간조직 손상은 CCl₄에 의하여 대사된 trichloromethyl free radical (\cdot CCl₃)과 더불어 oxygen free radical의 scavenging enzyme인 SOD 및 CAT 활성 감소로 인한 조직 내 oxygen free radical에 의해서도 초래된다고 보고하였다. 따라서 본 실험에서 CCl₄에 의한 간손상시 피부조직의 세포화학적 관찰에서 H₂O₂ 과립 분포가 강하게 나타남은 피부조직의 SOD, CAT 및 GPx 활성 감소로 피부조직에서 oxygen free radical의 유지율이 증가되므로서 나타난 결과로 생각된다. 그러므로 CCl₄에 의한 간손상시 oxygen free radical로 인한 피부조직의 병태생리적 변화가 초래될 가능성을 암시해 주고 있다. 그러나 전자현미경상의 미세구조에 있어서는 별다른 변화는 관찰되지 않았다.

본 실험의 간조직에서 CCl₄로부터 생성되는 trichloromethyl free radical이 피부조직에 분포되어 피부조직의 oxygen free radical scavenging 효소 단백질에 영향을 미쳐 이들 효소 활성이 저하된 것으로 생각되나 이에 대한 기전은 추후 연구 검토될 과제로 남아있다.

이상 실험결과는 CCl₄에 의한 간손상시 피부조직의 형태학적 손상은 야기되지 않으나 oxygen free radical의 대사적 측면에서 생리 기능적 변화가 초래됨을 시사해 주고 있다.

참 고 문 헌

- 1) 윤종국, 이미경, 이상일 (1998): 성장기간이 다른 흰쥐에 사염화탄소 투여가 oxygen free radical 생성계 및 해독계 효소 활성이 미치는 영향. *한국노화학회지*, **8(1)**: 35-42.
- 2) 윤종국, 이상일, 신중규 (1991): 식이성 단백질 함량에 따른 흰쥐에 사염화탄소 투여가 xanthine oxidase 활성에 미치는 영향. *한국영양식량학회지*, **20(6)**: 527-537.
- 3) Aebi H (1974): Catalase, pp. 673-684. *In* Bergmeyer HU(ed.), "Methods of Enzymatic Analysis", Vol. 2, Academic Press, New York.
- 4) Bidlack WR and Lowery LG (1982): Multiple drug metabolism: p-nitroanisole reversal of acetone enhanced aniline hydroxylation. *Biochem Pharmacol*, **31**: 311-317.
- 5) Bocquet H, Bagot M and Roujeau JC (1996): Drug-induced pseudolymphoma and drug hypersensitivity syndrome. *Semin Cutan Med Surg*, **15(4)**: 250-257.
- 6) Chow CK and Tappel AL (1974): Response of glutathione peroxidase to dietary selenium in rats. *J Nutri*, **104**: 444-451.
- 7) Habig WH, Pabist MJ and Jakoby WB (1974): Glutathione S-transferase: The first enzymatic step in mercapturic and formation. *J Biol Chem*, **249**: 7130-7139.
- 8) Karmen A (1955): A note on the spectrophotometric assay of glutamic oxaloacetic transaminase in human blood serum. *J Clin Invest*, **34**: 13-133.
- 9) Leibovitz BE and Siegel BV (1980): Aspects of free radical reaction in biological system: Aging. *J Gerontol*, **35**: 45-56.
- 10) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ (1951): Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*, **193**: 265-275.
- 11) Martin JP, Dailey M and Sugarman E (1987): Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autooxidation. *Arch Biochem Biophys*, **255(2)**: 329-336.
- 12) Millar SD (1988): Leading work-related disease

- and injuries. *Scand J Work Environ Health*, **14**(suppl 1): 5-6.
- 13) Ohkawa H, Ohish N and Yaki K (1979): Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, **95**: 351-355.
 - 14) Paglia ED and Valentine WN (1967): Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*, **70**: 158-169.
 - 15) Reitman S and Frankel S (1957): A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am J Clin Pathol*, **28**: 50-63.
 - 16) Robbins SL (1995): Cellular injury and adaptation, pp. 9-12. In Cortran RS, Kumar V and Robbins SL(eds.), "Pathologic basis of disease", 5th Ed., W.B. Saunders, Co., Philadelphia.
 - 17) Rosas VE (1996): Chlorance in the skin and liver injury. *Int J Dermatol*, **35**(9): 643-645.
 - 18) Rosenbaum MR, Affolte VK, Osborne AL and Beeber NL (1996): Cutaneous epitheliotropic lymphoma in a ferrent. *J Am Vet Med Assoc*, **209**(8): 1441-1444.
 - 19) Scheffler WC (1980): Statistics for the biological sciences, pp. 84-89. Addison-Wesley Publishing Co., Cambridge, MA.
 - 20) Stirpe F and Della Corte E (1969): The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J Biol Chem*, **244**(14): 855-863.
 - 21) Yoon CG (1984): A modified colorimetric assay for xanthine oxidase in rat liver extracts. *Keimyung Research Journal (Keimyung Junior College)*, **2**: 295-308.

=Abstract=

**Change of Dermal Oxygen Free Radical Metabolizing Enzyme Activities
in Acute Liver Damage Induced with CCl₄ in Rats**

Soon-Nim Chae, Tae-Won Jeon* and Chong-Guk Yoon* †

*Department of Beauty Science, Tongwon College,
Department of Public Health, University of Keimyung,
Taegu 704-701, Korea**

To evaluate an effect of liver damage on the dermal oxygen free radical metabolizing enzyme activities, the CCl₄ (0.1 ml/ 100 g body wt., 50% CCl₄ in olive oil) was intraperitoneally given to the rats every other day for 2 weeks. Based on the histopathological findings, liver weight (%), serum alanine aminotransferase, xanthine oxidase activities and hepatic lipid peroxide contents, the animals were induced severe liver damage. In the present liver damaged animal, all the activities of dermal scavenging enzymes such as superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase were significantly decreased compared with control. And under the cytochemical electron microscopy the more coarse granules of cerrous perhydroxide were found compared with the control. In conclusion, the CCl₄-induced liver damage may influence upon the activities of some dermal oxygen free radical scavenging enzymes.

Key Words: CCl₄-induced liver damage, Dermal xanthine oxidase, Aniline hydroxylase, Superoxide dismutase, Catalase, Glutathione peroxidase, Rats

[Korean J. Biomed. Lab. Sci., 5(1): 51-58, June, 1999]

† Corresponding author