

## 나환자의 혈청 과산화 지질\*

계명대학교 의과대학 피부과학교실

노용지 · 박의수 · 송준영

### 서 론

과산화 지질은 생체내에서 불포화 지방산이 과산화될 때 생성되는 것으로 과산화 반응은 생체내에 있어 해독작용, 약물대사, prostaglandin 생성 또는 살균작용에 관여함을 잘 알고 있다.

과산화 지질이 증가되면 장기조직의 세포막에 장애를 일으켜 여러가지 대사의 이상을 초래한다. 그러나 생체내에서는 어느정도의 과산화에 관여하는 활성효소의 제거 및 생성된 과산화 지질을 분해하는 작용도 있다.

본 연구는 만성질환으로 장기간의 약물치료를 요하는 나환자에 있어 과산화 지질치를 측정하여 그 이상유무를 추구하고, 그 결과에 따라 치료에도 응용코자 한다.

### 재료 및 방법

#### I. 연구대상

연구대상자로는 경상남도 거창, 밀양보건소에 등록된 환자중 진단 및 병형이 확정되어 치료중인 나종형나 (이하 L형) 31명과 결핵양형나 (이하 T형) 11명을 대상으로 하였다. 정상대조군으로 일반신체검사 및 흉부 X-선등의 소견으로 건강하다고 인정되는 정상인 22명으로 하였다(Table 1).

Table 1. Subjects

	Number of Case
Leprosy	
T-type	11
L-type	31
Control	22

#### II. 연구방법

혈청 lipid peroxide의 측정

방법 : Yagi method(1976)<sup>1)</sup>

1. 혈청 50 micro-liter를 미량 피펫트로 취하여 원심분리관에 넣고 N/12 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4ml를 가하여 혼합하고, 다시 10% phosphotungstic acid 0.5ml를 첨가하여 혼합하였다.

2. 이 혼합 용액을 실온에서 5분간 방치한 후 10°C에서 4,000rpm으로 10분간 원심분리하여 상층액은 버리고 남은 침전물은 N/12 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2ml와 10% phosphotungstic acid 0.3ml를 가하여 위와 같은 방법으로 세척하였다.

3. 이 침전물에 증류수 4ml를 가하여 현탁으로 만든 시료와 TEP(1, 1, 3, 3, -tetrathoxypropane) 0.5ml를 함유한 표준용액 4ml에 TBA 시약을 각각 1ml씩 가하고 95°C로 60분간 물중탕으로 가열한 후 즉시 냉각한다.

4. 이에 n-butanol 5ml를 가하여 심하게 혼든 후 4,000rpm에서 원심분리시켜 n-butanol층을 취하여 fluoescenc spectrophotometer(Hitachi, Mode 204)로 excitation 파장을 515nm에 고정시키고 emission 파장 553nm에서 시료와 표준용액의 형광강도를 측정하였다.

Lipid Peroxide량 계산식

$$L_p = 0.5 \times f / F \times 1.0 / 0.05 \times 1.05 / 0.5 = f / F \times 2 \text{ (nmol/ml of blood serum)}$$

Lp: Lipid Peroxide의 농도

F: TEP 표준용액의 형광강도

f: 시료의 형광강도

#### 성 적

상기의 방법으로 측정된 나환자 및 정상대조군에서의 혈청 과산화 지질의 농도는 각각 3.629 ±

\* 이 논문은 1992년도 계명대학교 을중연구비 및 동산의료원 조사 연구비로 이루어졌음.

1.613(nmol/ml), 2.1136 ±0.838 이었고(Table 2), 환자군에서의 남녀 각각의 농도는 2.9685 ±0.9154, 4.3422 ±2.885로 나타났다(Table 3). T형과 L형에서는 각각 3.0591 ±1.639, 3.3352 ±1.625이었고(Table 4), 각각을 정상대조군과 비교한 결과 T형 및 L형 모두에서 혈청 과산화 지질의 농도가 정상대조군에 비하여 증가한 소견을 보였다(Table 5, Table 6). 나환자의 유병기간에 따라 혈청 과산화 지질의 농도를 측정 한 결과 10년 미만 일때 2.7875 ±0.3137, 10년에서 19년 사이일때 3.3390 ±1.2228, 20년에서 29년 일때 3.2733 ±0.9772, 30년에서 39년 일때 3.6607 ±2.3834, 40년 이상에서 2.5643 ±0.5620으로 나타났다(Table 7). 나이별로 측정 한 결과 40세 미만에서 4.0050 ±1.1179, 40에서 49세일때 3.5760 ±1.4231, 50에서 59세 일때 3.3775 ±1.1135, 60세 이상일때 2.9814 ±1.1135로 나타났다(Table 8).

Table 2. Serum Lipid Peroxide Level in Leprosy Patients & Controls

Number of Case Serum Lipid Peroxide Level (nmol/ml)		
eprosy	42	3.2629 ±1.613
Control	22	2.1136 ±0.838
Mean ±SD	p<0.05.	

Table 3. Serum Lipid Peroxide Level in Male & Female Patiens

Number of Case Serum Lipid Peroxide Level (nmol/ml)		
Male	33	2.9685 ±0.915
Female	9	4.3422 ±2.2885

Table 4. Serum Lipid Peroxide Level in T- & L-type Leprosy

Number of Case Serum Lipid Peroxide Level (nmol/ml)		
T-type	11	3.0591 ±1.639
L-type	31	3.3352 ±1.625

Table 5. Serum Lipid Peroxide Level in T-type Leprosy & Controls

Number of Case Serum Lipid Peroxide Level (nmol/ml)		
T-type	11	3.0591 ±1.639
Control	22	2.1136 ±0.838

Table 6. Serum Lipid Peroxide Level in T-type Leprosy & Controls

Number of Case Serum Lipid Peroxide Level (nmol/ml)		
T-type	31	3.3352 ±1.625
Control	22	2.1136 ±0.838
Mean ±SD	p<0.05.	

Table 7. Serum Lipid Peroxide Level in Duration of Disease

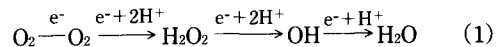
Duration Number of Case Serum Lipid Peroxide Level (Year) (mnol/ml)		
10>	4	2.7875 ±0.3137
10 - 19	10	3.3390 ±1.2228
20 - 29	6	3.2733 ±0.9772
30 - 39	15	3.6607 ±2.3834
<40	7	2.5643 ±0.5620

Table 8. Serum Lipid Peroxide Level in Each Age Group

Age Number of Case Serum Lipid Peroxide Level (Year)		
40>	4	4.0050 ±1.1179
40 - 49	5	3.5760 ±1.4231
50 - 59	12	3.3775 ±2.4410
<60	21	2.9814 ±1.1135

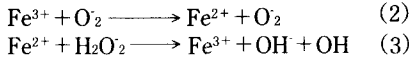
## 고 찰

호기성 호흡을 하는 생물은 최종 전자 수용체로서 산소를 이용하여 4가환원 시켜 물로 배설한다. 그러나 기저상태의 산소분자는 외각에 parallel electron spin을 나타내는 2개의 unpaired edelectron을 가지는 biradical로서, 이 parallel electron spin 때문에 산소분자의 전자쌍이 바로 가해지려면 결합이 생기기전에 전자 spin inversion이 필요한데 이 반응은 아주 느리게 반응은 아주 느리게 일어나므로, spin inversion이 필요없는 1가환원을 다음 반응식 (1)과 같이 4회 연속 일으켜 4가환원 시킴으로써 물이 생성되기도 한다<sup>2)</sup>.

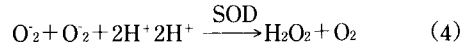


그런데 이 산소의 환원 과정에서 생성되는 superoxide radical과 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 Haber-Weiss<sup>3)</sup>반응(2, 3)을 통하여 더욱 강력한 반응성을 지닌 hydroxy radi-

cal과 singlet oxygen을 생성해서 세포성분과 세포의 기질에 손상을 주는 인자로 알려져왔다<sup>4,8)</sup>.



이 산소기들은 glycosaminoglycan의 분해, 지질의 과산화 반응, 단백질 특히 효소의 sulfhydryl기의 산화 및 DNA의 손상을 일으켜 생체에 비가역적 상해를 초래한다고<sup>9,11)</sup>한다. 그러나 탐식세포들이 탐식작용을 할때는 많은 양의 산소를 소모하며 동시에 많은 양의 산소기들이 생성되어 이것이 세균의 세포막에 손상을 줌으로써 생체를 감염으로부터 보호한다는 보고<sup>12)</sup>도 있는 것으로 보아 산소기들의 역할은 생체 방어기전과 생체상해기전의 두가지 측면에서 이해될 수가 있다고 본다. 특히 생체막의 성분 중에서 인지질, 당지질, sterol등의 성분인 불포화 지방산은 이런 산소기들에 의한 손상을 받기 쉽다고 한다. 산소기들은 생체막을 쉽게 통과할 수 있고, superoxide radical은 막주위의 수소이온과 반응하여 superhydroxy radical을 생성함으로써 과산화 반응을 일으킬 수 있다<sup>11)</sup>. 또한 불포화 지방산의 과산화 반응중 유리되어 나온 arachidonic acid가 lipoxigenase나 cyclooxygenase에 의해 대사되어 가는 과정중에 생성된 산소기들에 의해 막지질의 과산화는 더욱 촉진되고<sup>13)</sup> 나아가 이 산소기들과 과산화 지질은 생체막유독성의 염색체 손상을 일으킨다<sup>14,16)</sup>고 알려져 있다. 그러나 생체는 이러한 산소기들과 손상받은 세포들을 처리하는 효소계 혹은 비효소계 반응을 통하여 산소독으로부터 보호되고 있다고<sup>17,18)</sup>한다. Antomi등<sup>17)</sup>은 호기성세포가 소모하는 대부분의 산소는 cytochrome oxidase complex의 작용에 의해 전자 spin restriction을 피해 바로 4가 환원됨으로써 산소기들의 생성을 줄여 세포를 보호한다<sup>17)</sup>고 보고했으며, McCord 및 Fridovich<sup>18)</sup>는 superoxide radical을 환원시켜 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 바꾸는 superoxide dismutase(SOD)의 작용에 대해 보고한 바 있다(반응식 4). 또한 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 유기과산화물로 부터 생체를 보호하는 catalase와 peroxidase의 작용에 대해서도 잘 알려져 있다<sup>19)</sup>. 특히 glutathione peroxidase(GPX)는 간세포의 세포질과 mitochondria 기질액 및 적혈구에 다량 존재하며 다음 반응식(5, 6)과 같이 과산화물과 환원형 glutathione과의 반응을 촉매함으로써 산소독에 의한 세포손상을 줄인다고 한다.



그리고 alkylating agent의 해독 반응에 관여하는 것으로 알려진 glutathione-S-transferase(GST)도 selenium 비의존성인 peroxydase의 기능을 나타냄으로 약제에 대한 산소독을 줄이는데 중요한 역할을 한다고 보고되어 있다<sup>20)</sup>. 또한 생체는 이러한 효소 반응 외에도 α-tocopherol과 β-carotene에 의한 산소기로 부터의 보호기전도 가지고 있고 ascorbic acid, cystene 및 reduced glutathione의 작용도 보고되어 있다. 손<sup>21)</sup>등은 과산화 지질을 생성, 분해 하는 효소들 사이의 균형상실에 따른 과산화 지질량의 변동을 초래하고, 이것과 여러질환 특히 세포의 종양성 변화에 어떠한 영향을 미치는가에 대해 견해를 제시하였다. 본 연구에서도 경상남도 거창, 밀양보건소에 등록된 환자중 진단 및 병형이 확정되어 치료중인 나중형나(이하 L형) 31명과 결핵양형나(이하 T형) 11명을 대상으로 하고, 일반 신체검사 및 흉부 X-선등의 소견으로 건강하다고 인정되는 정상인 22명을 대조군으로 하여 Yagi의 방법을 이용하여 혈청 과산화 지질량을 조사하여 치료 및 예후 판정에 도움을 삼고자 하였다. 그 결과 나환자 및 정상대조군에서의 혈청 과산화 지질의 농도는 각각 3.2629 ± 1.613(nmol/ml), 2.1136 ± 0.838 이었고, 통계적으로 유의성을 보였다. 환자군에서의 남녀 각각의 농도는 2.9685 ± 0.9154, 4.3422 ± 2.885 로 나타났다. T형과 L형에서는 각각 3.0591 ± 1.639, 3.3352 ± 1.625 이었고, 각각을 정상대조군과 비교한 결과 T형 및 L형 모두에서 혈청 과산화 지질의 농도가 정상대조군에 비하여 증가한 소견을 보였다. 나환자의 유병기간에 따라 혈청 과산화 지질의 농도를 측정 한 결과 10년 미만 일때 2.7875 ± 0.3137, 10년에서 19년 사이일때 3.3390 ± 1.2228, 20년에서 29년 일때 3.2733 ± 0.9772, 30년에서 39년 일때 3.6607 ± 2.3834, 40년 이상에서 2.5643 ± 0.5620으로 나타났다. 나이별로 측정 한 결과 40세 미만에서 4.0050 ± 1.1179, 40에서 49세일때 3.5760 ± 1.4231, 50에서 59세 일때 3.3775 ± 1.1335, 60세 이상일때 2.9814 ± 1.1135로 나타났다. 이상의 결과로 혈청 과산화 지질의 양은 환자군과 대조군에서 유의한 차이를 나타내었으나, T형과 L형을 각각 대조군과 비교한 결과 L형에서는

유의한 차이를 나타내었으나, T형에서는 유의성이 없었다. 그리고 나병의 유병기 및 환자군의 성별 및 나이에 따른 과산화 지질의 혈청농도는 정도의 유의성이 없었다. 이상의 결과는 나병의 L형과 심한 정도에 따라 혈청 과산화 지질이 나타나는 정도가 증가되어지며, 이는 충분히 치료 및 예후판정에 도움을 줄 수 있을 것임을 시사한다 하겠다.

요 약

Yagi의 방법으로 진단 및 병형이 확정되어 치료 중인 나종형나(이하 L형)31명과 결핵양형나(이하 T)11명을 대상으로 하고, 일반 신체검사 및 흉부 X-선등의 소견으로 건강하다고 인정되는 정상인 22명을 대조군으로 하여 혈청 과산화 지질의 농도를 측정하여 보았다.

· 그 결과 나환자 및 정상대조군에서의 혈청 과산화 지질의 농도는 각각  $3.2629 \pm 1.613$ (nmol/ml),  $2.1136 \pm 0.838$  이었고, 통계적으로 유의성을 보였다.

· 환자군에서의 남녀 각각의 농도는  $2.9685 \pm 0.9154$ ,  $4.3422 \pm 2.885$ 로 나타났으며 유의성은 없었다.

· T형과 L형에서는 각각  $3.0591 \pm 1.639$ ,  $3.3352 \pm 1.625$  이었고, 각각을 정상대조군과 비교한 결과 T형 및 L형 모두에서 혈청 과산화 지질의 농도가 정상대조군에 비하여 증가한 소견을 보였으나 L형에서만 통계적으로 유의하였다.

· 나환자의 유병기간에 따라 혈청 과산화 지질의 농도를 측정한 결과 10년 미만 일때  $2.785 \pm 0.3137$ , 10년에서 19년 사이일때  $3.3390 \pm 1.2228$ , 20년에서 29년 일때  $3.2733 \pm 0.9772$ , 30년에서 39년 일때  $3.6607 \pm 2.3834$ , 40년 이상에서  $2.5643 \pm 0.5620$ 으로 나타났고 유의성은 없었다.

· 나이별로 측정한 결과 40세 미만에서  $4.0050 \pm 1.1179$ , 40에서 49세일때  $3.5760 \pm 1.4231$ , 50에서 59세 일때  $3.3775 \pm 1.1135$ , 60세 이상일때  $2.9814 \pm 1.1135$  로 나타났고 유의성은 없었다.

· 이상의 결과로 혈청 과산화 지질의 양은 환자군과 대조군에서 유의한 차이를 나타내었으나, T형과 L형을 각각 대조군과 비교한 결과 L형에서는 유의한 차이가 있었고 T형에서는 유의성이 없었다. 그리고 나병의 유병기간 및 환자군의 성별 및 나이에 따른 과산화 지질의 혈청농도는 정도의 유의성이 없었다.

참 고 문 헌

1. Ohgawa H, Ohishi N, Yagi K: Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbiturec acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
2. Taube H: Mechanism of oxidation with oxygen. *J Gen Physiol* 1965; 49: 29-52.
3. Haber F, Weiss J: The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by salt. *Proc Roy Soc Ser A* 1934; 147: 332-351.
4. Misra HP, Fridovich I: The generation of superoxide radical during the autoxidation of hemoglobin. *J Biol Chem* 1972; 247: 6960-6962.
5. Misra HP: Generation of superoxide free radical during the autoxidation of the thiols. *J Biol Chem* 1974; 249: 2151-2155.
6. Fridovich I: Ther biology of oxygen radicals, the superoxide radical is an agent of oxygen toxicity: superoxide dismutases provide an important defense. *Science* 1978; 201: 875-880.
7. Rolando FDM: An Approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol Scand* 1980; 492(Suppl): 153-168.
8. Rolando FDM, Howard HT, Jakob B, et al: Free radicals as mediators of tissue injury. *Acta Physiol Scand* 1980; 492(Suppl): 43-57.
9. Halliwell B: Biochemical mechanisms accounting for the toxic action of oxygen on living organisms: the key role of superoxide dismutase. 1978; 2: 113-128.
10. Susan MD, Barry LF: Normobaric oxygen toxicity of the lung. *N Engl J Med* 1980; 303: 76-86.
11. Freeman BA, Crapo JD: Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-426.
12. Weiss SJ, LoBuglio AF: Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Lab Invest* 1982; 47: 5-16.
13. Egan RW, Paxton J, Kuehl FA: Mechanism for irreversible self-re-activation of prostaglandin synthetase. *J Biol Chem* 1976; 252: 7329-7341.
14. Emerit I, Cerutti PA: Tumor promoter phorbol-12-myristate-13-acetate induces chromosomal damage via indirect action. *Nature* 1981; 293: 144-146.
15. Emerit I, Cerutti PA: Tumor promoter phor-

- bol-12-myristate-13-acetate induces a clastogenic factor in human lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci* 1982; 79: 7509-7513.
16. Emerit I, Cerutti PA: Clastogenic action of tumor promoter phorbol-12-myristate-13-acetate in mixed human lymphocyte cultures. *Carcinogenesis* 1983; 4: 1313-1316.
17. Antonini E, Brunori M, Greenwood C, et al: Catalytic mechanism of cytochrome oxidase. *Nature* 1970; 228: 936-937.
18. McCord JM, Fridovich I: Superoxide dismutase. An enzymatic function for erythrocyte hemocuprein). *J Biol Chem* 1969; 244: 6049-6055.
19. Chance B, Sies H, Boveris A: Hydroperoxide Metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 1979; 59: 527-605.
20. Habig WH, Pabst MJ, Jacoby WB: Glutathione-S-transferase; The first enzymatic steps in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974; 249: 7130-7139.
21. 손건영 : Diethylnitrosamine-유발 마우스 간종양에서의 과산화지질의 변동. 경북대학교 석사학위논문 1985; 6: 1-65.
18. McCord JM, Fridovich I: Superoxide dismutase. An enzymatic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein).

=Abstract=

## Serum Lipid Peroxide in Leprosy Patients

Yong Ji Rho, MD; Eui Soo Park, MD; Joon Young Song, MD

*Department of Dermatology, Keimyung University  
School of Medicine, Taegu, Korea*

Lipid peroxide is metabolic products of unsaturated fatty acid which functions, in vivo, are detoxification, drug metabolism, production of prostaglandins and microcidal action. If lipid peroxide increase in serum which causes variable metabolic disorders by impairment of organ cell membranes. But several enzymatic systems prevent high accumulations of lipid peroxide in serum.

In this study, we have examined serum lipid peroxide concentration by using Yagi's method in 31 lepromatous leprosy patients and 11 tuberculoid leprosy patients. As normal controls, 22 healthy persons have been selected.

As the results, Values of lipid peroxide in leprosy patients superior to normal controls statistically(The values are significant only in lepromatous leprosy, not significant in tuberculoid leprosy patients.) We also found that sex, age, duration of disease had not affected the lipid peroxide levels. These results suggested that the type and severity of leprosy may be related the level of lipid peroxide. Now we present a paper, serum lipid peroxide in leprosy patients, with references.

**Key Words:** Leprosy patients, Serum lipid peroxide