

흰쥐 담즙율체 간의 Xanthine Oxidase의 활성치*

계명대학교 의과대학 생화학교실

곽 춘식

=Abstract=

Xanthine Oxidase Activity in the Cholestetic Rat Liver

Chun Sik Kwak

Department of Biochemistry, Keimyung University
School of Medicine, Taegu, Korea

This study was intended to observe the change of serum and hepatic xanthine oxidase (EC 1.2.3.2) activities after the ligation of common bile duct in rats. Activities of hepatic total and cytosolic superoxide dismutase (EC 1.15.1.1) and concentration of serum ceruloplasmin (EC 1.16.3.1) were also measured.

Common bile duct ligation in the rats brought about a rapid increase in both serum and hepatic xanthine oxidase activities.

Level of serum ceruloplasmin was markedly increased after the ligation of common bile duct. But both hepatic total and cytosolic superoxide dismutase activities did not change after the ligation of common bile duct.

The above results suggest that the common bile duct ligation may cause the induction of hepatic xanthine oxidase.

서 론

Xanthine oxidase (xanthine: oxygen oxidoreductase, EC 1.2.3.2; XO)는 생체내에서 purines, pyrimidines, pteridines, aldehydes, 및 epinephrine 등을 산화시키고 cytochrom C를 환원시키는 효소이며, 주로 purine 체의 이화과정에서 hypoxanthine을 xanthine으로 xanthine을 오산으로 산화시키는 반응을 촉매하는 효소이다^{1~4)}.

이 효소는 발견되는 곳에 따라 그 성상이 약간 차이는 있으나 그 분자량은 270,000~300,000 dalton 이 되고 molybdenum과 철을 함유하며 flavin adenine dinucleotide를 조효소로 사용하는 metalloflavoprotein이다^{5~8)}. 그리고 이효소는 포유동

물의 조직에 널리 분포되어 있으며 간, 선, 비, 폐 및 소장 점막 세포등에 많이 존재한다^{3,4,6,8)}고 하며 세포내에서는 주로 세포질에 분포되어 있다^{6,9)}고 한다. 또한 이를 장기 이외 유즙과 혈액에도 본효소가 출현하며^{5,9)} 특히 혈액에서는 황달을 수반하는 간염에서 증가⁹⁾됨이 알려져 있다. 그러나 그증가의 기전에 대해서는 해명된바가 없다.

본 연구는 황달을 수반하는 간염에서 증가되는 혈청 XO의 증가기전을 알아보기 위하여 시도된 것으로서, 흰쥐의 종담관을 결찰하고 경시적으로 혈청 및 간의 XO의 변동을 관찰하는 한편 XO가 촉매하는 반응에서 생성되는 superoxide 기(O_2^-)^{10,11)}를 제거할 수 있는 superoxide dismutase⁽²⁾ (EC 1.15.1.1; SOD)와 ceruloplasmin^{13~15)} (EC 1.16.3.1)도 함께 측정하여 그 변동을 상호 비교 검토한

*본 논문은 1985년도 계명대학교 윤종연구비 및 동산의료원 조사연구비로 이루어졌다.

것이다.

재료 및 방법

동물: 동물은 4주 이상 같은 조건으로 사육한 채 중 200~220g 되는 Sprague-Dawley 출의 수컷 쥐를 사용하였으며 1군을 5마리로 하여 총 담관 절제군 5군, 가수술군 5군, 정상군 1군으로 나누어 각 군을 또는 단관절착 수술 후 12시간, 1일, 2일, 3일 및 6일에 이를 퇴위를 각 5마리씩 죽여 혈액을 사용하였다.

사료는 사용되는 제일사료주식회사의 제품을 사용하였으며 실험기간 중 물과 함께 자유로이 먹도록 하였다.

수술은 효소활성의 일중 변동을 고려하여 퇴위 일정한 시간에 죽일 수 있도록 수술시간을 조절하였으며 12시간 절식 시킨 후 가능한 한 무른 상태를 유지하면서 약한 ether 마취하에서 실시하였다.

총 담관의 절제는 가급적 간에서 근접한 부위의 총 담관을 선택하였다. 담관절착은 이중으로 하였으며 체혈 및 간 석출과 담관의 폐쇄 상태를 확인하였다. 가수술은 총 담관을 절제하지 않고 그저 그동 고적은 담관절착군과 동일하게 하였다.

시약: 본 실험에 사용한 시약들 중 주질이 되는 시약들은 Sigma 사의 제품 중 고순도의 제품을 사용하였으며 그외 일반 시약들은 드롭 또는 1급등을 사용하였다.

간 적출 및 효소액의 조제: 모든 혈액군에서 간의 적출은 12시간 절식 시킨 후 약한 ether 마취하에서 시행하였으며 복부 대동맥으로부터 혈액을 퇴위하여 퇴위 혈액을 세척하고 이어 갈분액으로 catheter를 넣어 4°C의 0.25M sucrose액으로 판류하여 간에 남아 있는 혈액을 세척한 다음 간을 적출하였다. 적출한 간은 면포로 단단히 압박하여 간내에 남아 있는 sucrose액을 가능한 한 모두 배어 하였다. 그리고 와털한 혈액은 원심분리하여 혈청을 얻고 광화학사에 제공하였다. 한편 적출한 간은 즉시 2~4°C로 냉각한 후 절제으로 만들고 혼합하여 그중 2gm을 침량하여 9배량의 0.25M sucrose액을 넣어 teflon glass homogenizer (Thomas 사제품 chamber clearance 0.005~0.007inch)로 2~4°C를 유지하면서 2,000rpm의 속도로 마쇄하여 간 혼란액(10w/v%)을 만들었다. 이 마쇄액은 냉동고에 넣으므로 나누어서 그중 한 부분은 Dupont Sorvall OTD 65B ultracentrifuge를 사용하여 4°C,

105,000×g에서 1시간 원심분리하여 상청을 얻고 이것을 산 XO의 효소액으로 하였으며 -20°C에서 냉동시킬 때^{16,17)} XO를 추정하였다. 다른 한 부분의 마쇄액은 Hyland 등¹⁸⁾의 방법에 따라 4°C, 12,000×g에서 30분간 원심분리하여 상청을 얻고 이 상청액에 0.4배량의 ethanol-chloroform 혼합액(5:3)-을加入하고 4°C에서 5분간 전탕한 후 4°C, 5,000×g로 30분간 원심분리하여 상청액을 얻어 이것을 세포용 SOD의 효소액으로 사용하였다. 그리고 나머지 부분의 마쇄액에는 1%의 sodium deoxycholic acid가 포함된 1% sodium bicarbonate 용액을 1:1비로 혼합하고 ultrasonic disemembrator (Fisher model 300)로 2~4°C를 유지하면서 20±4 K cycle/sec의 조건으로 2분의 5회 총 10분간 혼용파 마쇄를 시행하고 이마쇄액을 10,000×g에서 20분간 원심분리를 시행하여 상청액을 얻고 이 상청액을 간조기의 총 SOD 추정용 효소액으로 사용하였다.

효소 활성도 측정: 혈청 및 간 XO의 활성도 측정은 xanthine 을 기질로 사용하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후 생성되는 효산을 292nm에서 비색 정량하는 Rowe 및 Wyngaarden¹⁹⁾의 법에 의하였으며 간액과 SOD 및 간조직의 총 SOD의 활성도 측정은 dimethylsulfoxide에 의해 생성된 superoxide기가 cytochrom C를 환원시키는 반응을 이용하는 Hyland¹⁸⁾등의 방법으로 측정하였다. 그리고 혈액 ceruloplasmin의 측정은 p-phenylenediamine의 ceruloplasmin에 의한 간화속도를 측정하여 Ravin 법²⁰⁾에 의하였다.

본 실험에서 쓰여진 효소 활성 측정법들의 정확도를 높이기 위하여 Sigma 사의 표준효소를 사용하여 그것과 함께 같은 서로에 대하여 2회 측정하여 그 관표치를 측하였다. 그리고 본 실험에서 쓰여진 효소 활성도 측정에 사용한 분광광도기는 computer controlled enzyme spectrophotometer (Varian cary 210)였다.

단백정량: 효소액 등의 단백정량은 시료를 0.5N perchloric acid로 혼용시키고 같은 시약으로 3회 세척(마세탁 1회는 사용 한다.) 한 뒤 methanol-ether 혼합액(3:1)으로 2회 세척하여 단백을 얻어²¹⁾ 한 다음 biuret 법²²⁾으로 침량하였다.

임의로 각종 성격물과 평균치중 상호 비교가 필요한 경우는 Student의 t-검정법²³⁾에 의하여 결정하였다.

성 적

환주에서 총담관을 결찰했을 때의 혈청 및 간의 XO의 변동 : 총담관결찰 또는 가수술을 시행했을 때의 수술후 경시적으로 측정한 혈청 및 간의 XO 활성도의 변동을 보면 표 1 및 2와 같다. 즉 총담관 결찰 후의 혈청 XO의 활성은 1일부터 증가되기 시작하여 2일에는 가수술군에 비해 약 1.4배 ($p < 0.05$) 3일에는 약 1.5배 ($p < 0.05$), 6일에는 약 1.9배 ($p < 0.01$)로 계속 증가된 치를 보였다. 그리고 정상군에서 간의 XO 활성은 혈청의 XO 활성보다 약 20배나 훨씬 높았으며 총담관결찰후 간 XO의 활성은 역시 혈청에서와 마찬가지로 증가되었다. 그러나 그 증가의 시기나 증가율은 상이하였다. 즉 총담관결찰 후의 간 XO의 활성은 12시간 부터 증가되었으

Table 1. Changes in xanthine oxidase (XO) activity of serum after the common bile duct ligation in rats

Day (s) following ligation	Serum XO (n mole uric acid/min/ml of serum)	
	Sham Normal: 38.76 ± 2.04	CBDL
0.5	39.44 ± 3.4	42.16 ± 11.56
1	40.12 ± 4.76	49.64 ± 15.64
2	41.48 ± 4.08	$58.48 \pm 14.28^*$
3	39.44 ± 2.72	$60.52 \pm 16.32^*$
6	40.80 ± 3.40	$75.48 \pm 14.96^{**}$

The data are expressed as mean \pm SD with animals in each group; Sham=sham operation, CBDL=common bile duct ligated animals.

Significant difference from sham operated animals (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$)

Table 2. Changes in xanthine oxidase (XO) activity of liver after the common bile duct ligation in rats

Day (s) following ligation	Liver XO			
	Sham		CBDL	
	n mole/gm/min ^{a)}	n mole/mg/protein/min ^{b)}	n mole/gm/min ^{a)}	n mole/mg/protein/min ^{b)}
(Normal)	770 ± 130	8.02 ± 1.35		
0.5	751 ± 145	8.08 ± 1.56	915 ± 307	10.52 ± 3.53
1	761 ± 162	8.10 ± 1.72	$1,201 \pm 210^{**}$	$13.49 \pm 2.36^*$
2	765 ± 135	8.05 ± 1.42	$1,406 \pm 294^{**}$	$15.62 \pm 3.17^*$
3	771 ± 161	8.03 ± 1.68	$1,452 \pm 365^{**}$	$16.50 \pm 4.15^{**}$
6	783 ± 153	8.07 ± 1.58	$1,430 \pm 344^{**}$	$18.81 \pm 4.53^{**}$

The data are expressed as mean \pm SD with 5 animals in each group; Sham=sham operation, CBDL=common bile duct ligated animals.

a) n mole uric acid/gm tissue/min

b) n mole uric acid/gm protein/min

Significant difference from sham operated animals (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$)

Table 3. Changes in cytosolic superoxide dismutase (SOD) activity of liver after the common bile duct ligation in rats

Day (s) following ligation	Sham		Cytosolic SOD	
	Unit/gm tissue	Unit/mg protein	Unit/gm tissue	Unit/mg protein
(Normal)	$1,180 \pm 240$	29 ± 6		
0.5	$1,200 \pm 280$	30 ± 7	$1,280 \pm 480$	32 ± 12
1	$1,380 \pm 320$	33 ± 8	$1,430 \pm 520$	34 ± 13
2	$1,390 \pm 280$	34 ± 7	$1,470 \pm 400$	35 ± 10
3	$1,590 \pm 360$	37 ± 9	$1,680 \pm 360$	42 ± 9
6	$1,400 \pm 400$	35 ± 10	$1,760 \pm 560$	43 ± 14

The data are expressed as mean \pm SD with 5 animals in each group; Sham=sham operation, CBDL=common bile duct ligated animals. 1 unit of superoxide dismutase activity was defined as the amount which inhibited the reduction of cytochrome C by 50%

Table 4. Changes in total superoxide dismutase (SOD) activity of liver after the common bile duct ligation in rats

Day (s) following ligation	Total SOD			
	Sham	Unit/gm tissue	Unit/mg protein	CBDL
(Normal)		1,680±400	42±10	
0.5		1,720±440	43±11	1,760±640
1		1,890±560	46±14	2,020±600
2		1,970±480	48±12	2,110±560
3		2,000±600	50±15	2,340±640
6		2,090±560	51±14	2,380±720

The data are expressed as mean±SD with 5 animals in each group; Sham=sham operation, CBDL=common bile duct ligated animals. 1 unit of superoxide dismutase activity was defined as the amount which inhibited the reduction of cytochrome C by 50%

Table 5. Changes in ceruloplasmin content of serum after the common bile duct ligation in rats

Day (s) following ligation	Serum ceruloplasmin (mg/100ml)	
	Sham	CBDL (Normal; 33±5.4)
0.5	33±6.2	53±4.4***
1	40±6.0	63±5.4***
2	32±6.4	68±12.0***
3	33±8.2	85±10.2***
6	33±9.4	92±9.8***

The data are expressed as mean±SD with 5 animals in each group; Sham=sham operation, CBDL=common bile duct ligated animals.

Significant difference from sham operated animals (***, p<(0.001)

며 1일에는 약 1.6배(p<0.05), 2일에는 약 1.9배(p<0.05) 증가되었으며 이후 6일까지 계속 높은 차를 유지하였다.

환위에서 총담관을 결찰했을 때의 간세포질 SOD 및 간의 총 SOD의 변동: 총담관결찰 또는 가수술을 시행한 후 12시간, 1일, 2일, 3일 및 6일의 간세포질 및 간조직의 총 SOD의 변동을 보면 표 3 및 4와 같다. 총담관결찰후 간세포질이나 간조직의 총 SOD는 1일부터 6일까지 약간의 증가를 보였으나 통계학적 의의는 없었다.

환위에서 총담관을 결찰했을 때의 혈청 ceruloplasmin의 변동: 총담관결찰 또는 가수술을 시행했을 때의 수술후 경시적으로 측정한 혈청 ceruloplasmin 농도의 변동을 보면 표 5와 같다. 즉 총담관결찰후 12시간에 가수술군에 비해 약 1.6배(p<0.001)의 증가를 보이고 이후 2일에는 약 2.1배(p<0.001), 3일에는 약 2.6배(p<0.001), 6일에는

약 2.8배 (p<0.001)의 높은 증가를 보였다.

고 칠

간의 배설기능에 장애가 야기되는 간질도체 질환 시 담도를 통해 장으로 배설되는 bilirubin, 담즙산 및 cholesterol 등의 혈중농도가 증가된다²¹⁻²⁵⁾는 것 손 이고 잘 알려져 있으며 효소로써는 특히 담도계 효소인 alkaline phosphatase, 5'-nucleotidase, γ -glutamyl transpeptidase 및 leucine aminopeptidase도 혈중 증가를 나타낼 뿐만 아니라 간세포의 세포질에 존재하는 alanine aminotransferase 도 혈중 증가를 나타낸다^{27,28)}고 한다. 담도폐쇄 시 이를 효소의 증가기전에 대해서는 혈청 간성 alkaline phosphatase나 leucine aminopeptidase, 5'-nucleotidase 및 γ -glutamyl transpeptidase는 간에서 생성증가로 많은량이 간외로 유출되어 혈중에 증가되는^{27,28)} 것이라 하며 혈청 alanine aminotransferase는 간세포막의 투과성 항진으로 간외로 유출되어 혈중에 증가되는 것²⁹⁾으로 알려져 있다.

현재까지 담즙율비와 관련성을 가진 물질들의 혈중증가는 주로 다음과 같은 원인에 의한다고 생각된다. 즉 배설로 차단으로 혈중에 역류되는 것과 간에서 핵성속도의 증가 및 분해속도의 저연동과 아울러 간세포막의 투과성 항진이다.

XO는 간, 신, 비, 폐 및 소장점막세포에서 그 생합성이旺盛^{3,4,6,8)}하기 때문에 만약 이를 장기에 병변이 초래될 때는 본 효소의 혈중농도는 변동을 나타내리라 예측할 수 있다. Giler 등⁹⁾은 활달을 수반하는 간염환자에서 혈청 XO가 증가되는 것을 관찰하고 이현상은 이차성 간세포 손상을 암시해주는 것이라 하였다. 따라서 혈청 XO의 증가는 담즙율비

로 인한 간세포 손상과 밀접한 관계가 있는 것으로 생각된다.

본 실험에서 흰쥐의 총담관을 결찰하고 심한 담즙물체를 야기시켰을 때 혈청과 간조직의 XO는 혈저히 증가되었으며 특히 간조직의 XO가 혈청보다 소기에 증가되었다. 이러한 본 실험의 성격으로 보아 담즙물체로 간손상이 야기되면 간에서 XO의 생합성이 왕성해진다는 것을 알 수 있으며 따라서 혈중에서의 본 효소의 상승은 간조직에서 apoxanthine oxidase의 활성이 증가되고 간세포막의 손상이 이의 유출을 촉진하여 혈중에 증가된 것이라 생각되며 유도인자는 담즙물체로 증가되는 내인성 핵산이 아닌가 생각된다.

본 실험에서 간에 담즙물체를 야기시켰을 때 간세포질의 SOD와 간조직의 총 SOD는 의의있는 변동을 보이지 않았다. 손 및 조³⁰⁾도 담관결찰시 간세포질 및 mitochondria의 SOD는 의의있는 변동을 보이지 않았다고 한다. 그리고 본 실험에서 관찰한 혈청 ceruloplasmin에 대한 성적은 꽤 및 장²⁴⁾이 흰쥐에 총담관을 결찰하고 관찰한 성적과 일치된다.

XO가 관여하는 반응에서 superoxide기가 발생된다^{10, 11)}는 사실은 잘 알려져 있으며 superoxide기의 제거에는 SOD와 ceruloplasmin이 관여한다고^{12, 13, 14, 15)}한다. 본 성적에서 혈청이나 간조직의 XO가 증가된 것을 보면 superoxide기의 발생도 증가되었을 것이라 생각된다. 그러나 본 성적에서 SOD가 별 변동을 보이지 않는 것은 superoxide기의 발생이 혈저하지 않다는 것을 암시해 주는 것이다. 특히 본 성적에서 혈청 ceruloplasmin의 증가가 superoxide기의 제거와 어떤 관계가 있는지는 분명치 않으나 본 성적으로 보아 SOD보다는 ceruloplasmin이 superoxide기의 제거를 더욱 조기에 행하는 것이 아닌가 생각된다. 그러나 확실치는 않으며 이 문제는 앞으로 더욱 추구해 보아야 하겠다.

요 약

황단을 수반하는 간염에서 증가되는 혈청 XO의 증가기전을 알아보기 위하여 흰쥐의 총담관을 결찰하고 경시적으로 혈청과 간의 XO의 활성을 측정하는 한편 간의 SOD와 혈청 ceruloplasmin의 변동도 관찰하여 상호 비교하였다.

혈청 XO는 총담관결찰 후 1일부터 그 활성이 증가되며 이후 계속 증가되어 6일에는 가출군에 비해 약 1.9배나 증가되었다. 그리고 간의 XO의 활성치도 역시 혈청에서와 마찬가지로 담관결찰 후 혈저

히 증가되었다.

간세포질의 SOD 및 간조직의 총 SOD는 총수담관 결찰시에는 의의 있는 변동을 볼 수 없었다. 그러나 혈청 ceruloplasmin은 혈저한 증가를 보였다.

이상 성적으로 보아 혈청 XO의 증가는 간조직에서 apoxanthine oxidase의 활성증가와 함께 간세포막의 손상이 혈중으로의 이의 유출을 촉진하여 혈중에 증가된 것이라 생각된다.

참 고 문 헌

- Younes, M.: Concerning the determination of xanthine oxidase in biological material via its ability to produce superoxide. *Biochem. Pharmacol.*, 30 : 673, 1980.
- Krenitsky, T.A., Shamon, M.N., Elion, G.B., and Hichings, G.H.: A comparison of the specificities of xanthine oxidase and aldehyde oxidase. *Arch. Biochem. Biophys.*, 150 : 585—599, 1972.
- Al-khalidi, U.A.S., and Chaglassian, T.H.: The species distribution of xanthine oxide. *Biochem. J.*, 91 : 222—233, 1965.
- Krenitsky, T.A.: Xanthine oxidase and aldehyde oxidase in purine and purine analogue metabolism. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 41 : 57—64, 1973.
- Waud, W.R., Brady, F.O., Wiley, R.D., and Rajagopalan, K.V.: A new purification procedure for bovine milk xanthine oxidase: effect of proteolysis on subunit structure. *Arch. Biochem. Biophys.*, 169 : 695—701, 1975.
- Bray, R.C.: Molybdenum iron-sulphur flavin hydroxylase and related enzyme. *Enzymes*, 12 : 199—419, 1975.
- McGartoll, M.A., and Bray, R.C.: Reaction with iodoacetamide and the number of active center in xanthine oxidase. *Biochem. J.*, 114 : 433—449, 1969.
- Bray, R.C.: Xanthine oxidase, in: Boyer, P.P., Lardy, H., and Myrbäck, K. (eds), *The enzymes*, Vol. 7, 2nd edit., Academic press, New York, pp.533—555, 1963.
- Giler, S., Sperling, O., Brosh, S., Urca, I., and De Vries, A.: Serum xanthine

- oxidase in jaundice. *Clin. Chim. Acta*, 63 : 37—40, 1975.
10. Hodgson, E.K., and Fridovich, I.: The accumulation of superoxide radical during the aerobic action of xanthine oxidase. A require for H_2O_2 . *Biophys. Acta*, 430 : 182—188, 1976.
11. Kellogg, E.W. 3rd., and Fridovich, I.: Superoxide, hydrogen peroxide, and singlet oxygen in lipid peroxidation by a xanthine oxidase system. *J. Biol. Chem.*, 250 : 8812—8817, 1975.
12. Boyer, P.D., Lardy, H., and Myrbäck, K.: *The enzymes*. 3rd ed., Vol. 12, Academic Press, New York, p.507, 1975.
13. Goldstein, I.M., Kaplan, H.B., Edelson, H.S., and Weissmann, G.: Ceruloplasmin. A scavenger of superoxide anion radicals. *J. Biol. Chem.*, 254 : 4040—4045, 1979.
14. Plonka, A., Metodiewa, D., Zgilewicz, A., Hilewicz, M., and Leyko, W.: ESR evidence of superoxide radical dismutation by human ceruloplasmin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 95 : 978—984, 1980.
15. Gutteridge, J.M.C.: Antioxidant properties of caeuloplasmin towards iron-and copper-dependent oxygen radical formation. *FEBS Lett.*, 157 : 37—40, 1983.
16. Stirpe, F., and Della Corte, E.: The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (Type D) to oxidase (Type O). *J. Biol. Chem.*, 244 : 3855—3863, 1969.
17. Battelli, M.G.: Enzymic conversion of rat liver xanthine oxidase from dehydrogenase (D form) to oxidase (O form). *FEBS Lett.*, 113 : 47—51, 1980.
18. Hyland, K., Voision, E., Banoun, H., and Auclair, C.: Superoxide dismursase using alkaline dimethylsulfoxide as superoxide anion-generating system. *Anal. Biochem.*, 135 : 280—287, 1983.
19. Rowe, P.B., and Wyngaarden, J.B.: The mechanism of dietary alterations in rat hepatic xanthine oxidase levels. *J. Biol. Chem.*, 241 : 5571—5576, 1966.
20. Ravin, H.A.: An improved colorimetric enzymatic assay of ceruloplasmin. *J. Lab. Clin. Med.*, 58 : 61—64, 1961.
21. Colowick, S.P., and Kaplan, N.O.: Method for isolation and degradation of labeled protein, in: *Method in enzymology*, Vol. 4, Academic Press, New York, p.708, 1957.
22. Gornall, A.G., Bardawill, C.J., and David, M.M.: Determination of serum protein by means of biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, 177 : 751—766, 1949.
23. Geigy, J.R.: *Documenta Geigy scientific table*. 6th ed. Basile, 1962.
24. 박준식, 장여규 : 총수단판을 결찰한 흰쥐의 혈청 Ceruloplasmin에 대한 Actinomycin D의 효과. *한국생화학회지*, 12 : 103—112, 1979.
25. Schitt, L.: *Diseases of the liver*. 2th., J. B. Lippincott company, philadelphia, Montreal, pp.197—200, 1967.
26. Shclock, S.: *Diseases of the liver and biliary system*. 5th., Blackwell scientific publications, Oxford, London, Edinburgh, Melbourne, pp.243—299, 1975.
27. 박준식, 장여규 : 흰쥐 담즙을 채 간장의 5'-Nucleotidase와 Gamma-Glutamyl Transpeptidase의 활성. *濟明醫大論文集*, 4 : 1—27, 1985.
28. 박준식 : 총수단판을 결찰한 흰쥐의 혈청 및 간장의 Leucine Aminopeptidase에 미치는 Actinomycin D의 영향. *慶北醫大雜誌*, 21 : 126—134, 1980.
29. Linde, S.: A comparison between the patterns (GOT, GPT, LDH) in serum and tissue extracts in cardiac and hepatic disease. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 10 : 303—310, 1958.
30. 손현영, 손준승 : 간장 손상이 간의 Superoxide Dismutase에 미치는 영향. *慶北醫大雜誌*, 23 : 285—294, 1982.