

환우 담즙울체 간의 Malate Dehydrogenase의 활성치*

제명대학교 의과대학 생화학교실

곽 춘식

영남대학교 약학대학 약리학교실

이상일

=Abstract=

Malate Dehydrogenase Activity in the Cholestetic Rat Liver

Chun Sik Kwak

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

Sang Il Lee

Department of Pharmacology, Yeungnam University
College of Pharmacy, Gyongsan, Korea

To study the effect of cholestasis on serum and hepatic malate dehydrogenase (EC 1.1.1.37) in rats, malate dehydrogenase was determined in serum, both in cytosol and in mitochondria of liver after the ligation of common bile duct in rats. Activities of lactate dehydrogenase (EC 1.1.1.27) and alanine aminotransferase (EC 2.6.1.2) in serum and liver were also measured.

After the ligation of common bile duct of rats, the activity of serum malate dehydrogenase was significantly increased in the span of first and second days. However, the values were not return to normal after sixth days.

The activity of liver cytosolic malate dehydrogenase was significantly diminished after 2 days following ligation of the common bile duct. In the mitochondria, however, the activity of this enzyme was significantly decreased at 6 days after operation.

Lactate dehydrogenase and alanine aminotransferase of serum were strikingly increased after the ligation of common bile duct. And activities of the two enzymes were markedly decreased in the liver of common bile duct ligated rats.

서 론

doreductase, EC 1.1.1.37 ; MDH)는 생체내에서 가역적으로 L-malate와 nicotinamide adenine dinucleotide (NAD^+)로 부터 oxaloacetate와

Malate dehydrogenase (L-malate: NAD^+ oxi-

$\text{NADH} + \text{H}^+$ 를 생성하는 반응을 촉매하는 효소^{1,2}로

*본 논문은 1985년도 제명대학교 윤종연구비 및 동산의료원 조사연구비로 이루어졌음.

서 동물 및 미생물에 널리 분포되고^[1~3] 특히 동물에서는 심근, 뇌세포, 간 및 신장에서 많이 합성되며 그 함량도 많다^[2~8]. 그리고 세포내에서는 주로 세포질과 사립체에 분포되어 있고^[7~9] 또한 비소체에서도 발견되어^[2] 결기영동체에 의해 여기 종류의 isozyme이 있다^[9~11]는 것이 알려져 있다.

이 효소의 성상에 관한 보고를 보면 폐자 심근에서 분리된 세포질 및 사립체의 MDH는 Zn을 함유한 글루코소라 하며^[12] 폐자 사립체에서 분리된 MDH는 그 분자량이 약 70,000 dalton^[13]이 되고, 소심근의 세포질 MDH는 52,000 dalton^[14] 그리고 식육체의 MDH는 62,000 dalton^[15]이 되며 천적 간의 세포질 MDH는 71,600±3,000 dalton^[8]으로서 분출과 함께 그리고 세포내에서 발견되는 것에 따라 그 성상이 다른 것으로 알려져 있다.

이 효소는 혈중에도 출현하는 비기능효소로서 심근경색증, 침엽성간염, 간경변증, 폐쇄성황달, 침탕을 수반하는 간암, 폐암등의 질환에서 증가율이 많은 연구자들에 의해 보고되고^[13~19] 있으나 그 증가기전에 대해서는 자세히 해명된 바 없다.

본 연구는 담즙을 채우는 산질환에서 증가되는 혈청 MDH의 증가기전을 알아보기 위하여 시도된 것으로서 흰쥐의 총담관을 결찰하여 담즙을 채울 야기시킨 후 혈청과 간의 세포질 및 사립체에서 MDH를 측정하고 아울러 혈청과 간의 lactate dehydrogenase (lactate: NAD⁺ oxidoreductase, EC 1.1.1.27; LDH)와 alanine aminotransferase (L-alanine: 2-oxoglutarate aminotransferase, EC 2.6.1.2; ALT)도 함께 측정하여 그 성격을 살펴 비교 검토한 것이다.

재료 및 방법

동물: 동물은 4주이상 같은 조건으로 사육한 채 중 200~220gm 되는 Sprague-Dawley 종의 숏털쥐를 사용하였으며 1군을 5마리로 하여 다음과 같이 9군으로 나누었다.

- 1) 정상군: (1군)
- 2) 가수술군: 가수술후 1일, 2일, 3일 및 6일에 죽인군(총 4군)
- 3) 총담관 결찰군: 총담관 결찰후 1일, 2일, 3일 및 6일에 죽인군(총 4군)

위의 각실험군들은 개별분리 수용하였으며 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 시판되는 제일사료주식회사의 제품을 구입하여 사용하였으며 물과 함께 자유로이 먹도록 하였다.

수술은 효소활성의 일증현상을 고려하여 쥐를 일정한 시간에 죽일 수 있도록 수술시간을 조절하였으며 12시간 결식시킨 후 가능한 한 무균상태를 유지하면서 약간 ether 마취하에서 실시하였다.

총담관의 설정은 가급적 간에서 균형한 부위의 총담관을 결찰하였다. 담관을 한손 이중으로 하였으며 세부로 간직관과 담관의 폐쇄상태를 확인하였다. 가수술은 종합한 결찰법 하지 않고 그의 조작은 담관과 쟁코프 통로 아래 하였다.

시약: 본 실험에 사용한 시약들 중 기원이 되는 시약들은 Sigma사의 제품 중 고순도의 제품을 선택하여 사용하였으며 그외 일반시약들은 드롭 또는 1군들을 사용하였다.

간 적출 및 효소액의 조제: 모든 실험군에서 간의 죽이는 12시간 결식시킨 후 약한 ether 마취하에서 기색을 하였으며 복부 대동맥으로 부터 채혈하여 쥐를 살피면서 그리고 이어 장문적으로 catheter를 넣어 4°C의 0.25M sucrose액으로 판류하여 간에 남아있는 혈액을 제거한 다음 간을 적출하였다. 적출한 간은 번호로 표시하여 압박하여 간내에 남아있는 sucrose액을 가능한 한 모두 제거하였다. 그리고 채혈한 영액은 원심분리하여 혈청을 얻고 곧 차학 김식체로 공급하였다. 한편 적출한 간은 즉시 2~4°C로 냉장한 후 잘게 썰어서 젤리으로 만들고 혼합하여 그중 2 gm을 취하여 9배량의 0.25M sucrose액을 넣어 teflon glass homogenizer (Thomas사 제품 chamber clearance 0.005~0.007 inch)로 2~4°C를 유지하면서 400 rpm의 속도로 마쇄하여 간胞침해(100w/v%)을 만들어 곧 착색액을 8,000×g에서 20분간 원심분리하여 침전물과 상청액을 얻었으며 이 상청액은 다시 105,000×g에서 1시간 원심분리하여 상청액을 얻고 이것을 간세포질 MDH, 간 LDH 및 ALT의 효소액으로 사용하였다. 그리고 8,000×g 원심분리 과정에서 얻은 침전물을 0.25 M sucrose액에 재현탁시키고 이액을 20~45 w/v% sucrose linear gradient 용액을 넣은 원심관의 하부에 부하시거나 45,000×g에서 20분간 원심분리하여 얻은 침전물을 0.25M sucrose액으로 세척한 후 10ml의 0.25M sucrose 액으로 재현탁시킨 다음 ultrasonic dismembrator (Fisher model 300)로 20±0.4 K cycles/sec의 조건에서 2분씩 5회 총 10분간 초음파마쇄를 시행하였으며 이 과정에서 얻어진 마쇄액을 사립체 MDH 효소액으로 사

용하였다.

위의 모든 조작은 2~4°C에서 행하였으며 아래 사용한 원심분리기는 Dupont Sorvall RC-5B refrigerated superspeed centrifuge 와 OTD 65B ultracentrifuge 였다.

효소 활성도 측정: 혈청 및 간 MDH의 활성도 측정은 oxaloacetate 와 NADH를 기질로하여 30°C에서 2분간 반응시키는 동안에 340nm 파장에서 최대흡수대를 갖는 NADH가 산화되어 NAD⁺로 되면서 감소하는 흡광도로서 효소 활성을 정량하는 Siegel 및 Bing의 법²¹⁾에 의하였다.

혈청 및 간 LDH 활성도 측정은 L-lactate를 기질로 하고 조효소로서 NAD⁺를 중간전자운반체로 phenazin methosulfate 그리고 발색시약으로 INT (2-(p-Iodophenol)-3-p-nitrophenyl-5-phenyltetrazolium chloride)를 사용하여 37°C에서 5분간 반응시키 성상되는 formazan의 자색을 비색정량하는 Babson 및 Phillips의 방법²²⁾에 의하였으며 단위는 Wróblewski 단위²³⁾로 환산하여 나타내었다.

혈청 및 간 ALT 활성도 측정은 L-alanine과 α -ketoglutarate를 기질로 사용하여 25°C에서 10분간 반응시키는 동안에 생성된 pyruvic acid가 NADH 및 LDH 공존하에서 lactate로 환원될 때 NADH가 산화되어 NAD⁺로 되면서 감소하는 흡광도로서 효소활성을 정량하는 Karmen 등의 방법²⁴⁾에 의하였다.

본 실험에서 채택한 효소 활성측정법들의 정확도를 높이기 위하여 Sigma 사의 표준효소를 사용하여 검정하였으며 같은 시료에 대하여 2회 측정하여 그 평균치를 취하였다. 그리고 본 실험에서 각효소활성도 측정에 사용한 분광광도계는 computer controlled enzyme spectrophotometer (Varian cary

210)였다.

단백질량: 효소액중의 단백질량은 0.5N perchloric acid와 methanol-ether 혼합액(3:1)으로 단백을 정제하는 Colowick 및 Kaplan 법²⁵⁾으로 효소액중의 단백을 정제한 다음 biuret 법²⁶⁾으로 정량하였다.

얻어진 각종 성적들의 평균치중 상호비교가 필요한 경우는 Student의 t-검정법²⁷⁾에 의하여 검정하였다.

성 적

흰쥐에서 총담관을 결찰했을 때의 혈청 및 간의 MDH의 변동: 총담관결찰 또는 가수술후 경시적으

Table 1. Changes in malate dehydrogenase (MDH) activity of serum after the common bile duct ligation in rats

Day (s) following ligation	Serum MDH (unit/ml of serum)	
	Normal : 134±19	
	Sham	CBDL
1	135±20	326±51***
2	138±23	283±58***
3	137±24	179±47
6	139±18	150±22

All values are expressed as mean±SD with 5 animals in each group; Sham=sham operated animals, CBDL=common bile duct ligated animals.

Unit of MDH activity was defined as the amount which the change in absorbance at 340nm NADH was observed for 60 second periods to assay the reaction rate.

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

Table 2. Changes in malate dehydrogenase (MDH) activity of liver after the bile duct ligation in rats

Day (s) following ligation	Liver MDH (unit/mg of protein)			
	Cytosolic MDH Normal : 14,317±711		Mitochondrial MDH 9,764±1,756	
	Sham	CBDL	Sham	CBDL
1	14,512±821	13,470±1,418	9,856±1,763	9,812±2,013
2	14,613±763	12,474±1,509*	9,778±1,637	8,063±1,913
3	14,875±843	10,328±1,531***	9,733±1,762	7,754±1,840
6	14,538±792	9,557±1,795***	9,812±1,791	5,023±1,766**

All values are expressed as mean±SD with 5 animals in each group; Sham=sham operated animals, CBDL= common bile duct ligated animals.

Unit of MDH activity was defined as described in table 1.

Significant difference from sham operated animals (* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001)

로 측정한 혈청 및 간의 MDH 활성도의 변동을 보면 표 1 및 표 2와 같다. 즉 총담관결찰 후의 혈청 MDH의 활성도는 1 및 2일에 급격히 증가되어 가수술군에 의해 각각 약 2.4배 ($p<0.001$)와 약 2배 ($p<0.001$)의 증가를 보이고 이후 감소되나 6일에도 정상으로 회복되는 않았다. 그러나 간세포질 MDH는 1일부터 감소되기 시작하여 2일에는 가수술군에 의해 약 15% ($p<0.05$), 3일에는 약 31% ($p<0.001$), 6일에는 약 34% ($p<0.001$)의 감소를 보였으며, 간의 사립체 MDH는 간세포질에서 보다는 늦게 2일부터 감소되어 3일에는 가수술군에 의해 약 21%, 6일에는 약 49% ($p<0.01$)의 감소를 보였다.

흰쥐에서 총담관을 결찰했을 때의 혈청 및 간의 LDH의 변동: 총담관 결찰 또는 가수술 후 경시적으로 측정한 혈청 및 간조직의 LDH의 변동을 보면 표 3 및 4와 같다. 혈청 LDH는 총담관 결찰 후 실험기간동안 현저한 증가를 보였다. 즉 1일에는 가수술군에 의해 약 3.8배 ($p<0.001$), 2일에는 약 2.2배 ($p<0.05$), 3일에는 약 2.1배 ($p<0.01$), 6일에는 약 1.9배 ($p<0.05$)의 증가를 보였다. 반면에 간조직의 LDH는 2일부터 감소를 보였다. 즉 2일에는 가수술군에 의해 약 21% ($p<0.05$), 3일에는 약 26% ($p<0.05$), 6일에는 약 35% ($p<0.01$)의 감소를 보였다.

흰쥐에서 총담관을 결찰했을 때의 혈청 및 간의 ALT의 변동: 총담관결찰 또는 가수술을 시행한 후 경시적으로 측정한 혈청 및 간조직의 ALT의 변동을 보면 표 5 및 6과 같다. 혈청 ALT는 1일 및 2일에 급격한 증가를 보였으며 1일에는 가수술군에

Table 3. Changes of serum lactate dehydrogenase (LDH) activity after ligation of common bile duct in rats

Day (s) following ligation	Serum LDH (Wróblewski unit/ml of serum)	
	Sham	CBDL
	Normal : 481±171	
1	492±162	1,876±200***
2	487±168	1,071±369*
3	491±173	1,033±203**
6	484±179	934±296*

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

Significant difference from sham operated animals (*: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$)

Table 4. Changes of lactate dehydrogenase (LDH) activity of the liver after ligation of common bile duct in rats

Day (s) following ligation	Liver LDH (Wróblewski unit/mg of protein)	
	Sham	CBDL
1	2,158±304	2,185±231
2	2,169±298	1,707±197*
3	2,146±332	1,578±343*
6	2,167±349	1,400±216**

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

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

Table 5. Changes of serum alanine aminotransferase (ALT) activity after ligation of common bile duct in rats

Day (s) following ligation	Serum ALT (Karmen unit/ml of serum)	
	Sham	CBDL
	Normal : 16±7.6	
1	17±6.2	298±27.7***
2	16±8.1	205±95.2**
3	17±6.9	110±70.1*
6	16±6.8	51±14.0**

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

Significant difference from sham operated animals (*: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$)

Table 6. Changes of alanine aminotransferase (ALT) of the liver after ligation of common bile duct in rats

Day (s) following ligation	Liver ALT (Karmen unit/mg of protein)	
	Sham	CBDL
	Normal : 313±125	
1	334±116	282±73
2	316±135	142±71
3	306±95	129±42**
6	310±105	125±34**

All values are expressed as mean±SD with 5 animals in each group; Sham=sham operation animals, CBDL = common bile duct ligated animals. Significant difference from sham operated animals (*: $p<0.05$, **: $p<0.01$)

미해 약 18배($p < 0.001$), 2일에는 약 13배($p < 0.01$)의 증가를 보이고 이후 약간감소하나 6일에도 약 3배($p < 0.01$)의 높은 증가를 보였다. 그리고 간조직의 ALT도 간조직의 MDH 및 LDH와 마찬가지로 총담관절찰후 감소되었으며 그 경향도 양자와 비슷하였다.

고 칠

담관의 폐쇄로 간조직에 담즙울체를 야기하는 것은 선천성담도폐쇄, 종양이나 담석에 의한 담도폐쇄, 원발성담즙성간경변증, 담관염 또는 담즙울체형 갑염성간염 등의 질병에서 볼 수 있다²⁸⁾. 그리고 이와같은 담즙울체가 수반되는 질병에서 간세포는 기능장애를 받으면 또한 형태학적 변화도 초래 된다는 것은 이미 잘 알려져 있다. 따라서 이러한 담도폐쇄로 인한 특징적인 변화들을 조사함으로써 담즙울체와 연관되는 질병의 진단과 예후를 판정할 수 있으며, 이미 많은 생화학적 검사법들^{29,30)}이 확립되어 널리 이용되고 있다. 그러나 이를 질병에 대한 생화학적 지견은 아직도 분명치 못한 것 이 많다.

본 연구는 담즙울체가 수반되는 질병에서 MDH 가 왜 혈중에 증가되는지를 알아보기 위한 것이다.

담즙울체가 수반되는 질병에서 혈중에 증가되는 효소는 소위 담도제 효소인 5'-nucleotidase(5'-NT), γ -gluamyl transpeptidase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), leucine aminopeptidase (LAP)와 간질세포에 많은량이 함존되어 있는 aspartate aminotransferase(AST), xanthine oxidase (XO), ALT, LDH 및 MDH 등^{16,31~34)}이며 담즙울체가 이들 효소의 증가기전에 대해서는 ALP, 5'-NT, 및 GGT는 간에서 그 생성이 증가되고 아울러 간세포막에서 유출촉진으로 혈중에 증가된다 고³¹⁾ 하며 ALT, AST, LDH는 주로 간세포막의 투파성 항진으로 세포의 누출되어 증가되는 것³³⁾ 으로 알려져 있다. 그러나 MDH의 혈중증가의 원인은 무엇인지 분명치 않다. 현재까지 담즙울체와 관련되는 물질의 혈중증가는 주로 세가지 원인에 의한 것으로 생각된다. 첫째 간에서의 합성속도 증가와 파괴속도 저인등으로 혈중에 다량 유출되는 것과 둘째 간세포나의 투파성 항진으로 혈중에 다량 유출되는 것과 셋째 배설로 차단으로 혈중에 역류되는 것 등이다.

본 실험에서 흰쥐의 총담관을 결찰하고 심한 담즙울체를 야기 시켰을때 혈청의 MDH는 한저히 증

가 되었다. 그러나 간의 세포질 및 사립체의 MDH는 오히려 감소되었다. 그리고 LDH와 ALT도 MDH와 같은 경향으로 혈청에서는 증가되고 간조직에서는 감소되었다. ALT와 LDH는 담즙울체로 인한 섭한 간손상이 있을때 혈중에 현저히 증가되는 효소이며 특히 세포막의 생화학적 변성으로 투파성 항진이 있을때 혈중으로 다량 유출되고 담즙울체시에도 혈중으로 다량 유출되어 증가되는 효소^{31,33)}로 알려져 있다. 본 실험에서 흰쥐에게 담즙울체를 야기했을때 MDH가 ALT 및 LDH와 마찬가지로 혈중에는 증가되고 간조직에서 감소하는 것은 MDH가 ALT 및 LDH와 마찬가지로 간세포에서 혈중으로 다량 유출된 것이라 생각된다. 특히 담즙울체시 조직소견을 관찰한 Moritz 및 Snodgrass³⁵⁾의 보고를 보면 흰쥐에서 총담관을 결찰한 후 1시간이 경과되었을 때는 간의 세담관과 동양구조의 확장과 문맥대에 출자변성이 관찰되고 12시간 경과후에는 수많은 세포가 괴사현상을 나타내고 괴사부위는 염성세포의 침윤이 보였다고 하며 이후 18일까지 괴사현상이 계속되나 점차 소멸되었다고 한다. 그리고 이와는 달리 담도세포의 증식은 오히려 활발해져서 18일후에는 담도세포가 간전체의 반을 차지했다고 한다. 이러한 형태학적 변화를 볼때 본 실험에서 관찰된 1일 및 2일의 혈중 MDH의 현저한 증가는 가장 간괴사가 활발히 진행되는 시기의 일치되며, 광범위한 세포괴사나 고도의 세포기능장애가 있을 때 혈중 MDH 가 증가된다는 보고¹³⁾가 있고 보면 담즙울체시 혈중에 증가되는 MDH는 간세포내의 MDH가 세포의로 다량 유출되는 것이 분명하며 특히 간사립체의 MDH가 비교적 늦게 저하되는 것은 세포질의 MDH 가 우선적으로 유출된다는 것을 암시해 주는 것이라 생각된다.

이상 문헌상의 지견과 본 실험의 성적으로 보아 담즙울체시 MDH의 혈중증가는 간세포막의 생화학적 변성으로 투파성이 항진되어 이효소가 다량 유출된 것으로 생각된다.

요 약

담즙울체가 수반되는 간질환시 증가되는 혈청 MDH의 증가 기전을 알아보기 위하여 흰쥐의 총담관을 결찰하고 경시적으로 혈청과 간세포질 및 사립체의 MDH를 측정하는 한편 혈청과 간의 LDH와 ALT도 함께 측정하여 그 성격을 비교 검토하였다.

혈청 MDH는 총담관결찰을 했을때 1 및 2일에

현저히 증가되었으며 이후 6일에도 정상으로 회복되지는 않았다. 반면에 간조직의 세포질 MDH는 1일부터 감소되어 이후 계속 감소된 치를 보였으며 사립체의 MDH는 2일부터 감소된 치를 보였다.

혈청 LDH와 ALT도 총담관절찰로서 현저히 증가되었으며 간조직의 LDH와 ALT도 역시 간조직의 MDH와 마찬가지로 총담관절찰로서 감소되었다.

이상 성적으로 보아 담즙을 제거하는 간질환에 혈청 MDH가 증가하는 것은 간세포막의 누적성변화로 간조직중의 MDH가 활동으로 유출되어 나타난 결과라 생각된다.

참 고 문 헌

1. Barman, T. E.: in Enzyme handbook. Vol. 1, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, p.57, 1969.
2. Wilkinson, J. H.: in The principles and practice of diagnostic enzymology. Edward Arnold, London, p.54, 1976.
3. Davies, D. D., and Kun, E.: Isolation and properties of malic dehydrogenase from ox heart mitochondrial. Biochem. J., 66:307, 1957.
4. Tyagi, A. K., Siddiqui, F. A., and Venkitasubramanian, T. A.: Studies on the purification and characterization of malate dehydrogenase from mycobacterium phlei. Biochim. Biophys. Acta, 485:255, 1977.
5. Dölken, G., Leisner, E., and Pette, D.: Turnover of malate dehydrogenase isozymes in rabbit liver and heart. Eur. J. Biochem., 47:333, 1974.
6. Comte, J., and Gautheron, D. C.: The markers of pig heart mitochondrial sub-fractions. II. On the association of malate dehydrogenase with inner membrane. Biochimie, 60:1299, 1978.
7. Passarella, S., Marra, E., Doonan, S., and Quagliariello, E.: Selective permeability of rat liver mitochondria to purified malate dehydrogenase isoenzyme in vitro. Biochem. J., 192:649, 1980.
8. Crow, K. E., Braggins, T. J., Batt, R. D., and Hardman, M. J.: Rat liver cytosolic malate dehydrogenase: Purification, kinetic properties, role in control of free cytosolic NADH concentration analysis of control of ethanol metabolism using computer simulation. J. Biol. Chem., 257:14, 217, 1982.
9. McEvily, A. J., Mullinax, T. R., Dulin, D. R., and Harrison, J. H.: Regulation of mitochondrial malate dehydrogenase: kinetic modulation independent of subunit interaction. Arch. Biochem. Biophys., 288:229, 1985.
10. Mann, K. G., and Vestling, C. S.: Nature of the isozymes of rat liver mitochondrial malate dehydrogenase. Biochim. Biophys. Acta, 159:567, 1968.
11. Mann, K. G., and Vestling, C. S.: Isozymes of rat liver mitochondrial malate dehydrogenase. Evidence for the existence of non-identical subunits. Biochemistry, 9:3,020, 1970.
12. Kitto, G. B., Stolzenbach, F. E., and Kaplan, N. O.: Mitochondrial malate dehydrogenase: Further studies on multiple electrophoretic forms. Biochem. Biophys. Res. Commun., 38:31, 1970.
13. Garbus, J.: Serum malate dehydrogenase isoenzymes as indicators of severe cellular injury. Clin. Chim. Acta, 35:502, 1971.
14. Mathewson, P. R., Yost, Jr. F. J., and Harrison, J. H.: The absence of zinc in the mitochondrial and supernatant forms of malate dehydrogenase. Biochim. Biophys. Acta, 321:413, 1973.
15. Wacker, W. E. C., Ulmer, D. D., and Vallee, B. L.: Metalloenzymes and myocardial infarction. II. malic and lactic dehydrogenase activities and zinc concentrations in serum. N. Engl. J. Med., 255:449, 1956.
16. Bing, R. J., Castellanos, A., and Siegel, A.: Diagnostic value of malic dehydrogenase and phosphohexose isomerase: preliminary report of findings in patients with myocardial infarction and liver disease. JAMA, 164:647, 1957.
17. West, M., Gelb, D., Pilz, C. G., and Zimmerman, H. J.: Serum enzymes in disease. VII. Significance of abnormal serum enzyme

- levels in cardiac failure. Am. J. Med. Sci., 241 : 350, 1961.
18. Aquilina, J.T., and Farmworth, W.E.: Alteration of serum enzymes in clinical myocardial infarction. Am. Heart J., 59 : 166, 1960.
19. Hess, B.: DPN-dependent enzymes in serum. Ann. N. Y. Acad. Sci., 75 : 292, 1958.
20. 곽춘식 : 흰쥐 간세포 분화법. I. 사립세 및 미소체의 분리. 啓明醫大論文集, 5권 1호, 1986. 게재예정
21. Siegel, A., and Bing, R.J.: Plasma enzyme activity in myocardial infarction in dog and man. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 91 : 604, 1956.
22. Babson, A.L., and Phillips, G.E.: A rapid colorimetric assay for serum lactic dehydrogenase. Clin. Chim. Acta, 12 : 210, 1965.
23. Wróblewski, F., and LaDue, J.S.: Lactic dehydrogenase activity in blood. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 90 : 210, 1955.
24. Karmen, A., Wróblewski, F., and La Due, J.S.: Transaminase activity in human blood. J. Clin. Invest., 34 : 126, 1955.
25. 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.
26. Gornall, A.G., Bardawill, C.J., and David, M.M.: Determination of serum protein by means of biuret reaction. J. Biol. Chem., 177 : 751, 1949.
27. Geigy, J.R.: Documenta geigy scientific table. 6th ed. Basile, Switzerland, 1962.
28. Halsted, J.A.: The laboratory in clinical medicine. Interpretation and application. Saunders Co., London, p.426, 1976.
29. Titz, N.W.: Fundamentals of clinical chemistry. Saunders Co., London, p.1026, 1976.
30. Davidson, I., and Hery, J.B.: Clinical diagnosis, Saunders Co., London, p.804, 1974.
31. 곽춘식, 장역규 : 흰쥐 담즙울체 간장의 5'-Nucleotidase와 Gamma-Glutamyl Transpeptidase의 활성치. 啓明醫大論文集, 4 : 1, 1985.
32. 곽춘식 : 총수담관을 결찰한 흰쥐의 혈청 및 간장의 Leucine Aminopeptidase에 미치는 actinomycin D의 영향. 慶北醫大雜誌, 21 : 216, 1980.
33. Linde, S.: A comparison between the patterns (GOT, GPT, LDH) in serum And tissue extracts in cardiac hepatic disease. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 10 : 303, 1958.
34. Giler, S., Spealing, O., Brosh, S., Urca, I., and De Vries, A.: Serum xanthine oxidase in Janndice. Clin. Chim. Acta, 63 : 37, 1975.
35. Moritz, M., and Snodgrass, P.J.: Serum enzymes derived from liver cell fraction. II. Responses to bile duct ligation in rats. Gastroenterology, 62 : 93, 1972.