

재생간 세포분획에서 Malondialdehyde치

계명대학교 대학원 의학과 생화학교실

박학열 · 문교철

Damage Induced by Oxygen Free Radicals in the Cell Fractionation of Regenerating Liver

Hak Youle Park, M.D. and Kyo Cheol Mun, M.D.

Graduate School, Keimyung University, Daegu, Korea

Backgroud/Aims: Oxygen free radicals can be defined as oxygen molecules or molecular fragments that have an unpaired electron. They are formed in all living organisms during physiological and pathophysiological metabolism, and cause cell and tissue damages due to their high chemical reactivity. They can react with macromolecules including lipid, protein and DNA. Peroxidation of lipids exposed to oxygen free radicals is responsible for the damages of cells and tissues *in vivo*, which may cause cancer, inflammatory disease and liver disease. During the regeneration of the liver, there might be some alterations for metabolism of oxygen free radicals, which causes damage to regenerating liver. To know the degree of damage by oxygen free radicals in cell organelles of regenerating liver, hepatectomy was performed to the Sprgue-Dawley rats. **Methods:** From the regenerating liver obtained at day 3 after hepatectomy homogenate, mitochondria, microsome, cytosol, nuclei and plasma membrane were obtained as samples by sucrose linear density gradient centrifuger. Then, their malondialdehyde levels were measured by thiobarbituric acid assay. **Results:** The level of malondialdehyde level were increased in the homogenate, mitochondria, microsome and cytosol of the regenerating liver than in those of the original liver. **Conclusions:** These results suggest that mitochondria and microsome are susceptible to the oxygen free radicals in the regenerating liver. (Korean J Gastroenterol 2002;39:284-288)

Key Words: Regenerating liver, Oxygen free radicals, Malondialdehyde

서 론

간은 아주 큰 재생 능력을 가진 장기로 성장과 크기가 잘 조절되고 있다. 바이러스 혹은 화학적 손상이나 외상, 간암 혹은 간이식 등에 의한 간염 혹은 간세포의 수술적 절제는 간의 크기 증가를 통한 간세포의 증식을 유발한다.¹⁻³ 이러

한 실험 모델로 흰쥐에게 간절제술을 행하게 되는데,^{4,5} 흰 쥐에서 간의 중엽과 좌측 외엽을 절제하면 잔류 간엽은 급격히 재생되어 증식 비대해지며 이 때 간조직은 재생을 위해 핵산과 단백 합성이 활발해진다.^{5,6} 재생기의 간에서는 간조직의 재생을 위해 우선적으로 핵산과 단백 합성이 증가되고 아울러 열량소 대사도 활발해진다고 한다.⁷⁻¹¹

한편 활성 산소(oxygen free radical)는 쌍을 이루지 않는 전자들을 가진 분자로 우리 몸은 에너지 생성 과정, 정상적인 신진대사 과정 및 면역체계를 통해 끊임없이 활성 산소를 생성한다.^{12,13} 이들 없이는 에너지를 생성하지도 감염원과 싸우지도 못할 뿐만 아니라 신체에 필요한 화학 물질도 생성하지 못한다. 그러나 과잉의 통제되지 않는 활성 산소는 세포에

접수: 2001년 11월 23일, 승인: 2002년 3월 13일

연락처: 문교철, 700-712, 대구광역시 중구 동산동 194번지

계명대학교 의과대학 생화학교실

Tel: (053) 250-7786, Fax: (053) 252-1605

E-mail: mun@dsmc.or.kr

※이 논문은 계명대학교 대학원 학술연구장학금으로 이루어졌음.

손상을 주며 각종 질병을 일으키는 원인으로 작용한다. 이러한 유해 산소는 염증반응¹⁴ 등에 관여하며, 암과 같이 증식이 활발한 조직에서 변화가 있는 것¹⁵으로 알려져 있다.

따라서 재생간에서는 활성 산소 대사의 변화가 예상되며 이러한 활성 산소 대사의 변화는 재생간에 malondialdehyde 치에 대한 변화를 야기할 것으로 생각되며 이는 간세포 소기관 별로 차이가 있을 것으로 생각된다. 이 연구에서는 재생간에서 활성 산소에 손상 정도를 나타내는 malondialdehyde 치를 간 세포분획별로 조사하여 보았다.

대상 및 방법

1. 대상

동물은 4주 이상 같은 조건으로 사육한 체중 320~360 g 이 되는 Sprague-Dawley종 수컷흰쥐를 사용하였으며 간엽 절제 수술 후 3일에 쥐 8마리를 죽여 실험에 제공하였다. 각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 시판되는 삼양유지사료주식회사 제품인 실험동물 사료를 먹도록 하였다.

2. 방법

1) 간 절제

간엽 절제 수술은 12시간 금식시킨 후 가능한 한 무균 상태를 유지하면서 ether 마취하에서 실시하였다. 흰쥐의 간엽 절제 수술은 복부 정중선을 따라 상복부를 약 2 cm 절개하여 간의 중엽과 좌측 외엽을 복강 밖으로 압출하고 인접 조직 사이의 인대를 절단한 후 간엽의 기저부위를 결찰한 뒤 간엽을 절제하였다. 절제한 간엽은 전체 간의 약 70%가 되었으며 이것을 원래간(original liver)으로 하였다. 절제한 원래간은 0.25 M sucrose액으로 잘 씻고 면포로 균등히 압박하여 간에 남아 있던 혈액을 가능한 한 모두 제거하였다. 간 절제 3일 후 남아 있던 간으로부터 재생된 간인 재생간(regenerating liver)을 추출하였다.

2) 간 적출 및 세포분획

재생간의 적출은 간 절제 3일 후 시행하였는데, 12시간 금식시킨 후 ether 마취하에서 시행하였으며 복부 대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실험사시켰으며, 간문맥에 삽관한 후 4℃의 0.25 M sucrose액으로 관류하여 간에 남아 있던 혈액을 제거한 다음, 간을 적출하였다. 적출한 간은 면포로 균등히 압박하여 간에 남아 있던 sucrose액을 가능한 한 모두 제거하였다. 간의 세포분획은 적출한 간들을 즉시 2~4℃로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여

그 중 5 g을 취하여 9배량의 0.25 M sucrose액을 넣은 다음 teflon glass homogenizer (Thomas사 제품, chamber clearance 0.005~0.007 inches)로 2~4℃를 유지하면서 400 rpm의 속도로 조심스럽게 5회 왕복 마쇄하여 10 w/v%의 간 균질액을 만들었다. 이 간 균질액을 그대로 사용하거나, 이 간 균질액을 sucrose linear density gradient 원심분리법¹⁶으로 cytosol 및 mitochondria 분획을 분리한 후 사용하였다. 즉 이 간 균질액을 571 g (average relative centrifugal force, 이하 생략함)에서 10분간 원심분리하여 조직의 미마쇄 부분, 핵 및 원형질막 부분을 제거한 다음 그 상청액을 7,796 g에서 20분간 원심분리하여 pellet과 상청액을 얻었으며 이 과정에서 얻은 상청액을 다시 104,000 g에서 1시간 원심분리하여 pellet과 상청액을 얻었다. 이 때 얻은 상청액을 cytosol 분획으로 사용하였다. 그리고 이 과정에서 얻은 pellet은 0.25 M sucrose액에 재현탁시키고 이 액을 10~35 w/v% sucrose linear density gradient 용액을 넣은 원심분리관 상부에 부하시켜 88,500 g에서 15분간 원심분리하여 얻은 원심관 중앙 부위와 상부에 형성된 pellet을 모아서 88,500 g에서 1시간 원심분리하여 pellet을 얻고 이 pellet을 다시 0.25 M sucrose액에 재현탁시켜 88,500 g에서 1시간 재원심분리하여 pellet을 얻었다. 이 pellet을 microsome 분획으로 사용하였다.

한편 위의 7,796 g에서 20분간 원심분리하는 과정에서 얻은 pellet을 0.25 M sucrose액에 현탁시키고 이 액을 20~45 w/v% sucrose linear density gradient 용액을 넣은 원심관 상부에 부하시켜 45,200 g에서 20분간 원심분리하여 얻은 침전물을 0.25 M sucrose액에 재현탁시켜 7,796 g에서 20분간 원심분리하여 pellet을 얻었으며 이것을 mitochondria 분획으로 사용하였다.

세포막 분획의 분리는 곽 등¹⁷의 방법을 사용하였다. 즉 간 균질액 약 15 mL를 취하여 2,000 g에서 10분간 원심분리하여 얻은 pellet를 70 w/v% sucrose액에 현탁시켜 그 일정량을 30~55 w/v% sucrose linear density gradient 용액을 넣은 원심분리관 관저에 부하시켜 70,400 g에서 100분간 원심분리하여 37~41% (d=1.16~1.18) sucrose 액층 부위에 형성된 pellet을 취하여 1 mM sodium bicarbonate액으로 1회 세척하여 이것을 세포막 분획으로 사용하였다.

핵 분획의 분리는 곽 등¹⁷의 방법에 따라 분리하였다. 즉 간 균질액 약 15 mL를 취하여 1,000 g에서 10분간 원심분리하여 얻은 pellet 75.3 w/v% sucrose액에 현탁시켜 22,530 g에서 1시간 원심분리하여 원심분리관의 관저에 생성된 pellet을 취한 후 다시 75.3 w/v% sucrose액에 재현탁시켜 22,530 g에서 원심분리하여 pellet을 얻고 이것을 0.25 M sucrose액으로 세척하였으며 이 분획을 핵 분획으로 사용하였다.

위의 세포분획법에서 모든 조작은 2~4℃에서 시행하였으며 이 때 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall사의 RC-5B refrigerated superspeed centrifuge와 OTD-65B ultracentrifuge였다. 이 때 사용한 rotor는 Du Pont Sorvall사의 SS-34 및 T865 rotor였고 sucrose linear density gradient 용액의 제조는 gradient former (ISCO model 570)를 사용하였다.

3) Malondialdehyde의 측정

Malondialdehyde 양의 측정은 간 균질액, cytosol 분획, mitochondria, microsomes, 핵 및 세포막 분획을 시료로 하여 malondialdehyde가 thiobarbituric acid와 반응할 때 나타나는 붉은색을 535 nm에서 측정하는 thiobarbituric acid assay 방법¹⁸에 의하였다. 즉 각 시료액을 0.25 N 염산에 0.375%의 thiobarbituric acid (Sigma, St. Louis, MO, USA)와 15% trichloroacetic acid (Sigma)를 함유한 시약과 혼합하고, 반응액을 100℃ 수용액 중에서 15분간 방치한 후 3,000 g에서 5분간 원심분리하여 얻은 상층액을 535 nm에서 측정하였다. 시료 중 malondialdehyde 농도는 분자흡광계수 $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 를 사용하여 계산하였다.

4) 단백질 정량

효소 시료 중의 단백질 정량은 0.5 M perchloric acid와 methanol-ether 혼합액(3 : 1)으로 단백질을 정제한 후 biuret 법으로 단백질 표준액(10 g/100 mL, bovine albumin, Sigma)과 비교 정량하였다.

5) 통계 분석

자료는 평균±표준편차로 표시하고, 실험군 사이의 비교는 Student's ttest로 하였으며 통계학적 유의수준은 p값이 0.05 미만으로 하였다.

결 과

1. 재생간 균질액에서 malondialdehyde치

간 균질액에서의 malondialdehyde 양은 원래간에서는 $0.72 \pm 0.15 \text{ nmol malondiladehyde/mg protein}$ 이었으며 재생간에서는 $0.98 \pm 0.06 \text{ nmol malondiladehyde/mg protein}$ 으로 원래간에 비해 유의하게 증가하였다($p < 0.05$, Table 1).

2. 재생간 세포질에서 malondialdehyde치

간 세포질에서의 malondialdehyde 양은 원래간에서는 $3.95 \pm 0.15 \text{ nmol malondiladehyde/mg protein}$ 이었으며 재생간에서는 $4.23 \pm 0.07 \text{ nmol malondiladehyde/mg protein}$ 으로 원래간에 비해 유의하게 증가하였다($p < 0.05$, Table 1).

Table 1. Malondialdehyde Levels in the Regenerating Liver.

Cell fraction	Original liver	Regenerating liver
Homogenate	0.72 ± 0.15	$0.98 \pm 0.06^*$
Cytosol	3.95 ± 0.15	$4.23 \pm 0.07^*$
Nucleus	12.88 ± 1.87	10.61 ± 1.97
Plasma membrane	4.45 ± 0.81	4.15 ± 0.61
Mitochondria	3.16 ± 0.32	$4.92 \pm 1.05^*$
Microsome	11.93 ± 1.86	$16.38 \pm 2.18^*$

The unit of malondialdehyde is nmol/mg protein, and expressed as mean±S.D.

* $p < 0.05$.

3. 재생간 핵에서 malondialdehyde치

핵에서의 malondialdehyde 양은 원래간에서는 $12.88 \pm 1.87 \text{ nmol malondiladehyde/mg protein}$ 이었으며 재생간에서는 $10.61 \pm 1.97 \text{ nmol malondiladehyde/mg protein}$ 으로 원래간에 비해 약간 감소하였으나 통계학적 의의는 없었다.

4. 재생간 세포막에서 malondialdehyde치

간 세포막에서의 malondialdehyde 양은 원래간에서는 $4.45 \pm 0.81 \text{ nmol malondiladehyde/mg protein}$ 이었으며 재생간에서는 $4.15 \pm 0.61 \text{ nmol malondiladehyde/mg protein}$ 으로 원래간에 비해 약간 감소하였으나 통계학적 의의는 없었다.

5. 재생간 mitochondria에서 malondialdehyde치

간 mitochondria에서의 malondialdehyde 양은 원래간에서는 $3.16 \pm 0.32 \text{ nmol malondiladehyde/mg protein}$ 이었으며 재생간에서는 $4.92 \pm 1.05 \text{ nmol malondiladehyde/mg protein}$ 으로 원래간에 비해 유의하게 증가하였다($p < 0.05$, Table 1).

6. 재생간 microsome에서 malondialdehyde치

간 microsome에서의 malondialdehyde 양은 원래간에서는 $11.93 \pm 1.86 \text{ nmol malondiladehyde/mg protein}$ 이었으며 재생간에서는 $16.38 \pm 2.18 \text{ nmol malondiladehyde/mg protein}$ 으로 원래간에 비해 유의하게 증가하였다($p < 0.05$, Table 1).

고 찰

흰쥐에서 간의 중엽과 좌측 외엽을 절제하면 잔류 간엽은 급격히 재생되어 증식 비대해지며 이 때 간조직은 재생을 위해 핵산과 단백질 합성이 증가되고 아울러 열량소 대사도 활발해진다고 한다.⁷⁻¹¹ 바로 이 현상은 간 재생을 위해

필수적인 것으로 생각된다. 특히 이러한 현상과 함께 재생간에서의 대사는 간 재생을 위해 유리한 쪽으로 먼저 대사가 진행된다고 알려져 있다. 한편, 생체 내에서 호흡, 면역반응 및 각종 산화 환원반응의 결과로서 활성 산소가 생성되는데,^{12,13} 특히 간도 다른 장기와 같이 정상적인 세포 대사의 결과로 활성 산소를 생성한다.¹⁹ 또한 간 재생시 시기별로 효소학적 변화에 대한 연구를 한 결과들²⁰⁻²²을 보면 간 절제 후 1-3일에 많은 효소학적 변화가 유발되며 이러한 변화는 6일에서 정상으로 환원되기 시작하여 10일경에는 완전히 정상으로 돌아옴을 볼 수 있었다. 따라서 본 연구에서는 가장 효소학적 변화가 심하였던 3일째에 활성 산소에 의한 손상 정도를 측정하여 보았다.

간 재생이 활발한 시기에는 purine 대사가 증가되어 있는 것으로 알려져 있으며,^{23,24} xanthine oxidase는 purine의 최종 대사에 관여하며 부산물로 superoxide 음이온을 생성하는 효소로 알려져 있다.²⁵ 따라서 본 연구에서 malondialdehyde의 양적 증가는 간 재생이 활발한 시기에 활발한 purine 대사의 증가의 결과로 보이며 이에 따라 부산물로 생성된 superoxide 음이온의 생성이 증가에 기인되어 산화적 손상의 지표인 malondialdehyde¹⁸의 양적 증가(Table 1)를 유발한 것으로 생각된다. 전체적인 간에서의 활성 산소에 의한 손상을 나타내는 간세포 균질액에서의 malondialdehyde의 양은 증가하였으며 이는 다른 연구²⁶와 일치한다. 또한 재생간에서 mitochondria, microsome 및 세포질 분획에서의 malondialdehyde의 양은 증가를 보였다. Mitochondria에서의 malondialdehyde 에너지 대사의 증가에 따른 호흡 연쇄의 증가에 기인한 반응에 기인된 것으로 생각된다. 세포질에서의 malondialdehyde의 증가는 기존의 연구²⁷와 일치하며, 이는 세포질에 풍부한 xanthine oxidase의 활성 증가에 기인된 것으로 생각된다. 즉, 간 재생시에는 purine 대사가 증가되는 것으로 알려져 있는 만큼, purine 대사의 증가는 활성 산소의 주요 생성원 중의 하나인 purine 대사의 증가를 초래하고 이는 xanthine oxidase의 활성 증가를 유발한 것으로 생각된다. Microsome에서의 malondialdehyde의 증가는 역시 micorsome이 단백질 합성의 중심되는 세포 소기관이므로 간재생과 관계된 현상으로 생각된다. 또한 Picibanil (OK-432)은 재생간의 활성 산소 생성을 줄이는 것으로 보고되었다.²⁶ 따라서 향후 각종 항산화제를 비교하는 연구도 추가로 필요하리라 생각된다.

핵과 세포막에서의 malondialdehyde의 양적 변화가 없는 것은 이들 소기관이 활성 산소 생성 효소가 풍부하지 않아서 생긴 결과로 생각된다.

그러나 Aguilar-Delfin 등²⁷의 다른 연구²⁷에 의하면 mitochondria와 microsome에서 malondialdehyde의 양적 변화

가 없고 세포막에서는 증가하였다고 하였다. 이러한 결과는 본 연구의 결과와 상이하지만, 그 결과가 상이한 이유에 대해서는 정확히 알 수 없다. 다만, 이들의 실험 결과와 본 연구의 결과는 시기적인 차이가 있어 차후 이에 대한 추가 연구를 통해 그 원인을 밝혀야 할 것으로 생각된다.

이상의 실험 결과와 문헌적 고찰로 보아 간 재생이 활발한 시기에는 mitochondria와 같은 활성 산소 발생 효소가 풍부한 세포 소기관이 활성 산소에 의한 손상을 쉽게 받고 있으며, 활성 산소 발생 효소가 존재하지 않거나 적은 핵이나 세포막은 비교적 활성 산소에 의한 손상이 적은 것으로 생각된다.

요 약

목적: 흰쥐에게 간절제술을 행하면, 간류 간염은 급격히 재생되어 증식 비대해지며 이 때 간조직은 재생을 위해 핵산과 단백질 합성이 활발해진다. 재생기의 간에서는 간조직의 재생을 위해 우선적으로 핵산과 단백질 합성이 증가되고 아울러 열량소 대사도 활발해진다고 한다. 한편 활성 산소는 쌍을 이루지 않는 전자를 가진 분자로 이들 없이는 에너지를 생성하지도 감염원과 싸우지도 못할 뿐만 아니라 신체에 필요한 화학 물질도 생성하지 못한다. 그러나 과잉의 통제되지 않는 활성 산소는 세포에 손상을 주며 각종 질병을 일으키는 원인으로 작용한다. 이러한 유해 산소는 염증 반응 등에 관여하며, 암과 같이 증식이 활발한 조직에서 변화가 있는 것으로 알려져 있다. 간의 재생이 활발한 재생간에서는 활성 산소 대사의 변화가 예상되며 이러한 활성 산소 대사의 변화는 재생간에 산화적 손상에 대한 변화를 야기할 것으로 생각된다. 이러한 변화는 간세포 소기관별로 차이가 있을 것으로 생각되어 이 연구를 수행하였다. **대상 및 방법:** 흰쥐의 간절제술 후 3일째 재생간에서 간 균질액, cytosol 분획, mitochondria, microsomes, 핵 및 세포막 분획을 분리한 후, 이들을 시료로 하여 malondialdehyde 양을 측정하였다. **결과:** 재생간 균질액, 세포질, mitochondria 및 microsome에서 malondialdehyde의 양은 증가하였다. 핵 및 세포막 분획에서는 약간의 감소를 보였으나 통계학적으로 유의는 없었다. **결론:** 이들 결과로 볼 때 간 재생이 활발한 시기에는 mitochondria와 같은 활성 산소 발생 효소가 풍부한 세포 소기관이 활성 산소에 의한 손상을 쉽게 받고 있으며, 활성 산소 발생 효소가 존재하지 않거나 적은 핵이나 세포막은 비교적 활성 산소에 의한 손상이 적은 것으로 생각된다.

색인단어: 재생간, 활성 산소, Malondialdehyde

참 고 문 헌

1. Tomiya T, Tani M, Yamada S, Hayashi S, Umeda N, Fujiwara K. Serum hepatocyte growth factor levels in hepatectomized and nonhepatectomized surgical patients. *Gastroenterology* 1992;103:1621-1624.
2. Fausto N. Liver regeneration. *J Hepatol* 2000;32(suppl 1): 19-31.
3. Rao MS, Papreddy K, Abecassis M, Hashimoto T. Regeneration of liver with marked fatty change following partial hepatectomy in rats. *Dig Dis Sci* 2001;46:1821-1826.
4. Takaki Y, Hirai S, Manabe N, et al. Dynamic changes in protein components of the tight junction during liver regeneration. *Cell Tissue Res* 2001;305:399-409.
5. Becker FF. Restoration of liver mass following partial hepatectomy. I. Influence of blood flow. *Am J Pathol* 1963; 43:497-510.
6. 권기징, 유호열. Ethionine이 백서 재생간의 단백질합성에 미치는 영향. *경북의대잡지* 1969;10:183-188.
7. Stein TA, Buns GP, Tropp BE, Wise L. Hepatic fat accumulation during liver regeneration. *J Surg Res* 1985; 39:338-343.
8. Schofield PS, Sugden MC, Corstorphine CG, Zammit VA. Altered interactions between lipogenesis and fatty acid oxidation in regenerating rat liver. *Biochem J* 1987;241: 469-474.
9. Nagino M, Tanaka M, Nishikimi M, et al. Stimulated rat liver mitochondrial biogenesis after partial hepatectomy. *Cancer Res* 1989;49:4913-4918.
10. Dixit A, Baquer NZ, Rao AR. Inhibition of key enzymes of carbohydrate metabolism in regenerating mouse liver by ascorbic acid. *Biochem Int* 1992;26:143-151.
11. Mann DV, Lam WW, Hjelm NM, et al. Human liver regeneration: hepatic energy economy is less efficient when the organ is diseased. *Hepatology* 2001;34:557-565.
12. Moslen MT. Reactive oxygen species in normal physiology, cell injury and phagocytosis. In: Armstrong D, ed. *Free radicals in diagnostic medicine. A systems approach to laboratory technology, clinical correlations, and antioxidant therapy*. New York: Plenum Press, 1994:17-27.
13. Punchard NA, Kelly FJ. Introduction. In: Punchard NA, Kelly FJ, eds. *Free radicals*. Oxford: Oxford University Press, 1996:1-8.
14. Kourounakis PN, Tsiakitzis K, Kourounakis AP, Galanakis D. Reduction of gastrointestinal toxicity of NSAIDs via molecular modifications leading to antioxidant anti-inflammatory drugs. *Toxicology* 2000;144:205-210.
15. Devi GS, Prasad MH, Saraswathi I, Raghu D, Rao DN, Reddy PP. Free radicals antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different types of leukemias. *Clin Chim Acta* 2000;293:53-62.
16. 곽춘식, 곽정식. 흰쥐 간세포 분획법 I. Mitochondria 및 Microsome의 분리. *계명의대논문집* 1986;5:45-53.
17. 곽춘식, 김여희, 문교철. 흰쥐 담즙울체간의 plasma membrane, mitochondria 및 microsome의 5'-nucleotidase와 gamma-glutamyl transpeptidase의 활성치. *계명의대논문집* 1987;6:67-76.
18. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. In: Colowick SP, Kaplan NO, eds. *Methods in Enzymology*. Volume 52. New York: Academic Press, 1978:302-310.
19. Waz WR, Feld LG. Reactive oxygen molecules in the kidney. In: Armstrong D, ed. *Free radicals in diagnostic medicine. A systems approach to laboratory technology, clinical correlations, and antioxidant therapy*. New York: Plenum Press. 1994: 171-184.
20. 이병욱, 곽춘식. 흰쥐 재생간과 담즙울체간에서의 Arylamine Acetyltransferase의 활성도. *대한외과학회지* 1998;54:780-788.
21. 김영진, 김여희. 흰쥐 재생간에서 Benzoyltransferase 및 Phenylacetyltransferase의 활성도. *계명의대논문집* 1999;18: 72-81.
22. 김일경, 문교철, 곽춘식. 흰쥐 재생간에서의 Glucose-6-Phosphate Isomerase 및 Fructose-1, 6-Bisphosphate Aldolase의 활성도. *계명의대논문집* 1996;15:111-118.
23. Gonzalez EM, Krejczy K, Malt RA. Modification of nucleic acid synthesis in regenerating liver by azathioprine. *Surgery* 1970;68:254-258.
24. Itakura M, Maeda N, Tsuchiya M, Yamashita K. Increased rate of de novo purine synthesis and its mechanism in regenerating rat liver. *Am J Physiol* 1986;251:G585-590.
25. Murray RK. Red and white blood cells. In: Murray RK, Granner DK, Mayer PA, Rodwell VW, eds. *Harper's Biochemistry*. 25th ed. London: Appleton & Lange, 2000:763-779.
26. Okamoto K, Hamazaki K, Iwagaki H, Orita K, Mori A. Effect of Picibanil (OK-432) on the scavenging effect of free radicals produced during liver regeneration in the rat. *Acta Med Okayama* 1995;49:75-79.
27. Aguilar-Delfin I, Lopez-Barrera F, Hernandez-Munoz R. Selective enhancement of lipid peroxidation in plasma membrane in two experimental models of liver regeneration: partial hepatectomy and acute CC14 administration. *Hepatology* 1996;24:657-662.