

## 高에너지 放射線을 一回照射한 흰쥐 肝의 生化學的 變化

大邱保健專門大學 放射線科

李準逸 · 朴明煥 · 朴鐘三

### Abstract

#### **The Experimental Study on Biochemical Changes of Rat Liver Following Single Irradiation of High Energy X-ray**

**Joon Il Lee, Myeong Hwan Park, Chong Sam Park**

*Dept. of Radiotechnology, Taegu Health Junior College*

In order to investigate radiation effects on the liver, functional changes of liver were analyzed after irradiation. Doses of 10 Gy, 15 Gy and 20 Gy were exposed partially to the liver of male rats(Sprague-Dawley) with X-ray(4MV linear accelerator) at room temperature. On 1, 2, 4 and 8 weeks after irradiation, liver tissues and sera of the animals were compared with those of unirradiated animal by liver function tests.

Enzyme activities in sera such as alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, malondialdehyde.

The content of malondialdehyde in the activities of many enzymes including alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase in sera were increased slightly with increasing exposure dose in all experiments and the activities of these enzymes increased markedly in 20 Gy irradiated groups.

From these above results, functional changes of the liver were induced in all irradiated groups. Damaged liver was recovered along with time collapse after irradiation to the doses of 10 Gy and 15 Gy while no recovery was detected within 8 weeks after irradiation to 20 Gy. These results suggest that careful attention must be paid to liver not to be included in exposure field in radiation therapy.

## I. 서 론

1895년 W. C. Rontgen에 의해 X선이 발견된 이후, 다음해인 1896년 A. H. Becquerel에 의한 자연방사능의 발견과 P. Curie와 M. Curie에 의해  $^{210}\text{Po}$ ,  $^{226}\text{Ra}$  등의 원소를 화학적으로 분리할 수 있게 되면서 방사선의 이용은 점차 증가하였다.

방사선이 생체에 미치는 영향에 대해서는 그동안 장기별로 많은 보고가 있었다. 간의 경우, 과거에는 방사선에 대하여 감수성이 비교적 낮다고 인식되어 왔으며, Hall과 Whipple<sup>2)</sup>, Warren과 Whipple<sup>3)</sup> 그리고 Martin과 Rogers<sup>4)</sup> 등은 심부 방사선치료 후 간의 장애를 초래하는 경우는 거의 없다고 보고하였다. 그리고 Doub 등<sup>5)</sup>은 간은 급성장해에는 감수성이 높으나 만성성장해에는 가장 저항성이 있는 장기라고 하였으며, Ingold 등<sup>6)</sup>은 간의 방사선 감수성은 골수, 림프조직 및 신장 등과 같은 정도라고 하였고, Casarett<sup>7)</sup>, Ruhin과 Casaret<sup>8)</sup> 및 Hall<sup>9)</sup>은 간, 췌장, 부신, 갑상선 및 뇌하수체 등 규칙적으로 분열하지 않는 reversioning postmitotic cells의 방사선 감수성은 신경세포 및 근육세포보다는 높으나 결합조직이나 혈관계보다는 저항성이라고 하였다.

그러나 근년들어 선행가속장치 등 우수한 방사선치료기기가 개발 이용되면서 현저한 피부장애 없이 복부에 충분한 심부선량을 조사할 수 있게 되므로써 복부의 각종 악성종양 치료에 방사선을 이용하게 되었으며, 이로 인한 방사선 간장애 또는 적지 않게 발생<sup>6), 11-15)</sup>함을 알게 되었다.

한편 그동안 많은 학자들<sup>11), 16-22)</sup>도 여러 종류의 동물과 방사선 조사방법을 달리한 실험으로 방사선에 의한 간의 변화를 보고 한 바 있다.

간의 기능적 장애에 대하여 Shapiro<sup>23)</sup>와 Dalrymple 등<sup>24)</sup>은 X선 조사에 의한 급성 생리적 효과로 lactate dehydrogenase(LDH) 및 aspartate aminotransferase (AST)가 증가되며, lac-

tate dehydrogenase는 치사량에 가까운 양의 X선을 조사하면 첫 3일간에 정상의 3배로 증가하고, aspartate aminotransferase도 lactate dehydrogenase와 비슷하게 상승한다고 하였다.

이와 같이 방사선에 의한 간의 장애가 알려지게 되면서 상복부의 방사선치료시에는 간을 차폐하거나 간의 일부가 조사야에 포함되지 않도록 주의<sup>25)</sup>하기에 이르렀다.

이에 본 연구에서는 현재 국내에서 방사선치료에 가장 일반적으로 이용되고 있는 선행가속장치<sup>26)</sup>에 의한 고 에너지 X선을 흰쥐 간의 일부분에 10, 15 및 20 Gy를 각각 1회 조사한 후 1, 2, 4 및 8주에 간기능 관련 parameter들의 측정을 시행하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험재료

#### 1) 실험 동물

실험동물은 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 동일조건에서 사육하여 체중 330g 내외의 외관상 건강한 정상대조군 7마리, 방사선 조사군 각 7마리씩 84마리로 구분하여, 91마리를 사용하였으며, 50×35×30 cm인 투명한 polycarbonate수지 cage에 2마리씩 분리하여 시판중인 실험동물용 사료로 사육하였고, 물은 자유로이 섭취케 하였다. 사육실은 일정조건(온도 20±2 °C, 습도 50±10%)을 유지 시켰으며, 점등권리는 12시간 주기(8:00~20:00)로 하였다.

#### 2) 실험기기 및 시약

방사선 조사 및 조사계획에는 일본전기주식회사(NEC)에서 제작한 선행가속장치인 NELAC-1004 및 방사선치료계획용 computer인 THERAC 2300을 각각 이용하였다. 그리고 생화학적검사에는 DuPont사에서 제작한 Dimension clinical chemistry system을 이용하였다.

실험에 사용한 시약은 alanine aminotransferase(ALT) 및 aspartate aminotransferase

(AST)는 DuPont사의 Dimension clinical chemistry system용 kit를, malondialdehyde(MDA)는 Aldrich사의 제품을 각각 구입 사용 하였으며, 기타 모든 시약은 특급내지 1급품을 사용 하였다.

## 2. 실험방법

### 1) 방사선 조사

선형가속장치에서 발생된 4MV X선은 피하 1 cm 깊이에 최대선량점이 형성<sup>27)</sup>되므로, 조사 부위에 0.5 cm 두께의 vaseline gauze bolus를 사용하여 피하 0.5 cm 깊이점에 최대선량이 조사 되도록 하였다.

조사조건 및 방법은 source-tissue distance 80 cm, 선량을 2Gy/min으로 흰쥐를 처치하기 8, 4, 2 및 1주 전에 ether로 마취시켜 고정대에 묶은 상태에서 우측 상복부에 2.5 cm × 2.5 cm 조사야로 10, 15 및 20Gy의 선량을 각각 1회 조사하였다. 한편 정상대조군 설정은 Nam<sup>28)</sup> 및 Lee<sup>29)</sup> 등의 보고에 준하였다.

### 2) 실험동물의 처치

방사선을 조사하지 않은 대조군 및 처치 8, 4, 2 및 1주전에 각 군별로 방사선을 조사한 흰쥐를 같은 날 처치하였다. 실험동물은 처치 전 12시간 동안 물만주고 금식시킨 상태에서 생체리듬의 일중변동을 고려하여 일정시간에 ether로 마취시켜, 복부 정중선을 따라 개복한 다음 복부대동맥으로부터 채혈하였으며, 채혈된 혈액은 실온에서 30분간 방치하여 응고시킨 다음 2,500 rpm으로 15분간 원심분리하여 얻은 혈청을 실험에 사용하였다.

한편 채혈 후 0.9% 생리식염수로 관류한 간을 적출하여 생리식염수로 씻은 다음 여지로 압박하여, 간에 남아 있는 생리식염수를 제거한 뒤 각 실험방법에 따라 후처리하였다.

### 3) 생화학적 검사

혈청을 이용한 alanine aminotransferase 및 aspartate aminotransferase의 활성측정은 International Federation of Clinical Chemistry (IFCC)법<sup>30, 31)</sup>에 준하여 Dimension 자동생화학 분석기를 이용하여 측정하였고, 측정원리<sup>32)</sup>는 Fig. II-1에 나타난 것과 같으며, 측정 결과는 u/l로 표시하였다.

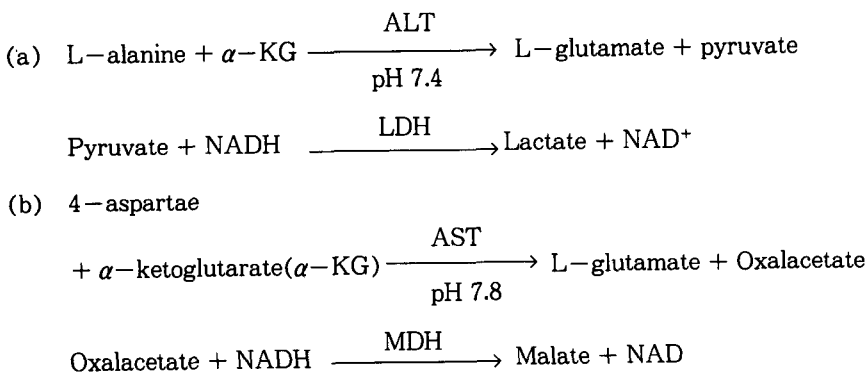


Fig. II-1. Principles of procedure

(a) Alanine aminotransferase, (b) Aspartate aminotransferase

한편 간조직 과산화지질의 함량측정은 Ohkawa<sup>33)</sup>의 방법에 준해 1g당 9배량의 1.15% potassium chloride 용액을 가해 glass teflon homogenizer로 마쇄한 다음, 마쇄액 0.4 ml에 8.1

% sodium dodecyl sul-fate, 20% acetate buff-er(pH 3.5) 및 0.8% thiobarbituric acid-용액 1.5 ml를 가해 반응액이 4.0 ml가 되게 하였다. 이 반응액을 95°C에서 1시간 동안 발색시키고, 실온에서 냉각시킨 후 n-butanol : pyridine혼액 (15:1)과 잘 혼합한 다음 원심분리하여 n-butanol : pyridine혼액으로 이행된 홍색대의 흡광도를 파장 532 nm에서 측정하였으며, 과산화 지질의 함량은 간조직 1g당 malondi-aldehyde nmol로 표시하였다.

그리고 실험결과와 통계처리는 minitab program을 이용하여 대조군에 대한 방사선 조사군의 t-test를 실시하였다.

### III. 실험결과

혈청 alanine aminotransferase(u/l)와 aspartate aminotransferase(u/l) 활성 및 간조직 malondialdehyde( $\mu$  mole/g of tissue) 함량의 측정 결과는 Table 1 ~ 3에 나타낸 것과 같았다. 방사선을 조사하지 않은 대조군에서는 혈중

alanine aminotransferase  $53.43 \pm 3.31$ , aspartate aminotransferase의 활성은  $108.43 \pm 5.94$  그리고 간조직 중의 malondialdehyde 함량은  $12.30 \pm 3.18$ 을 각각 나타내었다.

한편, 방사선 조사군에서는 먼저 alanine aminotransferase의 활성은 방사선 조사후 1주에는 10, 15 및 20 Gy조사군 모두에서  $42.60 \pm 10.20$ ( $P < 0.05$ ),  $37.14 \pm 5.67$  ( $P < 0.001$ ) 및  $32.43 \pm 4.47$  ( $P < 0.01$ )로 다소 감소하였으나, 시간이 경과함에 따라 상승 하였다. 그러나 4주 후부터 10 및 15 Gy군에서는 회복되는 경향을 보였으나, 20 Gy조사군에서는 계속 상승하여 8주 후에는  $203.60 \pm 24.70$ ( $P < 0.001$ )으로 현저한 증가를 나타내었다.

Aspartate aminotransferase의 활성은 조사선량에 관계없이 초기 1주에는 조사군 모두에서 대조군에 비해 감소하였으나, 2주 후부터 유의하게 상승하였다. 그러나 10 및 15 Gy군에서는 완만하게 증가하였으나, 20 Gy조사군에서는 alanine aminotransferase 활성과 유사하게 현저한 상승을 나타내었다.

Table 1. Changes of serum alanine aminotransferase values(u/l) in various dose irradiated rats

	10 Gy	15 Gy	20 Gy
Control	$53.43 \pm 3.31$	$53.43 \pm 3.31$	$53.43 \pm 3.31$
1 week	$42.60 \pm 10.20^*$	$37.14 \pm 5.67^{***}$	$32.43 \pm 4.47^{***}$
2 Weeks	$66.14 \pm 9.75^*$	$55.86 \pm 2.97$	$52.14 \pm 9.79$
4 Weeks	$71.43 \pm 8.83^{***}$	$66.86 \pm 6.39^{***}$	$72.71 \pm 4.23^{***}$
8 Weeks	$62.86 \pm 6.34^{**}$	$65.57 \pm 9.47^*$	$203.60 \pm 24.70^{***}$

The assay procedure was described in the experimental methods.

Values are the mean  $\pm$  SD for 7rats.

Significantly different from control group (\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ).

**Table 2.** Changes of serum aspartate aminotransferase values(u/1) in various dose irradiated rats

	10 Gy	15 Gy	20 Gy
Control	108.43 ± 5.94	108.43 ± 5.94	108.43 ± 5.94
1week	91.29 ± 7.61***	79.70 ± 10.20***	94.90 ± 10.20*
2 Weeks	125.00 ± 18.40	123.40 ± 12.70*	110.00 ± 14.80
4 Weeks	137.90 ± 19.20**	135.30 ± 11.40***	172.40 ± 19.10***
8 Weeks	152.10 ± 20.90**	156.70 ± 16.30***	416.30 ± 55.00***

The assay procedure was described in the experimental methods.

Values are the mean ± SD for 7 rats.

Significantly different from control group (\*P < 0.05,\*\*P < 0.01,\*\*\*P < 0.001).

**Table 3.** Changes of hepatic tissue malondialdehyde values  $\mu$  mole/g) in various dose irradiated rats

	10 Gy	15 Gy	20 Gy
Control	12.30 ± 3.18	12.30 ± 3.18	12.30 ± 3.18
1week	14.55 ± 3.38	21.00 ± 8.38*	32.80 ± 5.91***
2 Weeks	14.75 ± 5.29	22.55 ± 4.81*	33.12 ± 3.29***
4 Weeks	28.15 ± 9.37**	31.40 ± 9.32***	35.10 ± 8.14***
8 Weeks	35.25 ± 12.28***	44.30 ± 12.17***	61.50 ± 16.42***

The assay procedure was described in the experimental methods.

Values are the mean ± SD for 7rats.

Significantly different from control group (\*P < 0.05,\*\*P < 0.01,\*\*\*P < 0.001).

그리고 간조직 중 malondialdehyde 함량의 경우 조사된 방사선량에 비례하여 조사 후 시간이 경과 됨에 따라 계속 상승하여 8주에는 10, 15 및 20 Gy군에서는 각각 32.25 ± 12.28 (P<0.001), 44.30 ± 12.17(P<0.001) 및 61.50 ± 16.42(P<0.001)로 높은 증가를 관찰할 수 있었다.

#### IV. 고 찰

간은 어느정도 손상을 입어도 매우 빨리, 그리고 잘 재생<sup>34, 35)</sup>되는 것으로 알려져 있다. 이와 같이 손상에 대한 재생능력은 물론 비교적 방사선에 대한 저항력이 강하다는 견해 때문에

과거에는 방사선 치료시 방사선에 의한 간장해는 흔히 무시<sup>11)</sup>되어 왔다. 그러나 난소암의 복강내 전이 및 상복부 악성림프종 등 각종 복부 종양에 X선 혹은 <sup>60</sup>Co  $\gamma$ 선 원격조사에서 간이 조사야에 포함되는 경우, 방사선 치료 후 간장해가 유발되는 경우가 적지 않았으며, 방사선 간염으로 사망한 예들이 보고됨에 따라 복부 종양의 치료를 위한 방사선 조사시에는 간 일부의 차폐는 물론, 방사선 방호물질의 투여, 분할조사방식의 선택등 간손상을 다소라도 감소시켜 치명적인 간장해를 피하기 위한 노력이 행해지고 있다.<sup>11, 16)</sup>

Ingold 등<sup>6)</sup>은 간전체를 포함하는 상복부 방사선 치료를 시행한 난소암, Hodgkin씨병 등 40증례의 환자중 13예에서 방사선 간염이 출현하였으며, 이 중 35 Gy 이상이 조사된 3예에서 방사선 간염으로 사망하였다고 하였다. 이때 명명된 방사선 간염은 간종대, 황달, 복수 및 위상복부동통, 전신 권태감 등의 소견이 있는 경우로서 대부분은 방사선 조사 후 4~6주 이내에 나타난다고 하였다. 간장해는 조사된 방사선량과 조사기간 사이에 상호 관계가 있으므로 3~4 주간에 30~35 Gy정도가 안전한 한계라고 하였다.

본 연구에서는 방사선에 의한 간의 손상과 방사선 간장해를 알아보기 위하여 간손상의 지표로 이용되고 있는 혈중 alanine amino-transferase와 aspartate aminotransferase 및 간조직 malondialdehyde의 함량을 측정하였다.

먼저 간조직 손상시 혈중으로 다량 유출되는 것으로 알려져 있어, 간실질세포의 손상 정도 판정에 이용되고 있는 alanine amino-transferase와 aspartate aminotransferase의 활성<sup>36)</sup>은 방사선조사 후 초기 1주에는 alanine aminotransferase 및 aspartate amino-transferase 모두 조사선량에 관계없이 저하하였다가 시간이 경과됨에 따라 유의하게 증가 하였으며, 특히 20 Gy조사 후 8주에서는 현저한 증가가 관찰되었다. 또한 생체막손상의 지표로 이용되는 과산화지질<sup>37)</sup>의 함량 역시 조사된 방사선량과 시간

경과에 따라 증가한 것으로 보아 방사선 조사로 인해 간실질세포의 손상과 더불어 간실질세포의 막이 손상된 것으로 사료되며, 특히 20 Gy조사군에서 그 정도가 현저함을 확인할 수 있었다.

이는 Shapiro<sup>23)</sup> 및 Dalrymple 등<sup>24)</sup>의 방사선 조사에 의한 급성 생리적 효과로 alanine aminotransferase와 aspartate aminotransferase가 증가한다는 보고와 유사한 것으로, 방사선 조사로 인하여 간 실질세포가 심하게 손상 받았다는 것을 암시하고 있다.

이상의 실험성적과 문헌상의 지견들을 종합해 볼 때 간 일부에 조사된 방사선으로 인한 간의 기능적변화는 조사선량에 따라 10 및 15 Gy에서는 시간경과와 함께 다소 회복되는 경향이 있었으나, 20 Gy에서는 오히려 증가된 것으로 보아 부분조사에서도 20 Gy가 한계선량임을 확인할 수 있었으며, 방사선 치료시 간의 일부가 조사야에 포함되었을 경우에도 간장해가 유발될 수 있으므로 복부종양의 방사선 치료시 조사야 선정에 특별한 주의가 필요하다고 생각된다.

## V. 결 론

방사선이 간에 미치는 영향을 검토하기 위하여 선형가속장치에 의한 4MV X선 10, 15 및 20 Gy를 원격의 간 일부에 각각 조사한 후 1, 2, 4 및 8주에 간손상의 지표로 이용되고 있는 혈중 alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase 및 간조직 malondialdehyde의 함량을 측정 검토하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

혈중 alanine aminotransferase 및 aspartate aminotransferase활성은 전조사선량에서 상승하였으며, 특히 20 Gy 8주군에서 현저하게 상승하였다. 그리고 간조직 malondialdehyde의 함량도 전 선량에서 조사된 선량에 따라 유의하게 상승하였다.

이상의 실험 성적을 종합해 볼 때, 방사선 조

사로 인한 간의 기능적 변화는 조사된 선량에 따라 10 및 15 Gy군에서는 기간 경과와 함께 다소 회복되는 경향이었으나, 20 Gy군에서는 오히려 증가 된 것으로 보아 부분조사에서도 20 Gy가 한계선량임을 확인할 수 있었으며, 방사선치료시 간의 일부가 조사야에 포함되지 않도록 하는 주의가 필요하다고 생각된다.

### 참 고 문 헌

1. Lee, M. G. and Lee, J.I., : Radiochemistry and Radiopharmacology. Daehak seorim publishers, Seoul, 1982.
2. Hall, C. C. and Whipple, G.H., Roentgen ray intoxication : Disturbance in metabolism produced by deep massive dose of hard roentgen rays. Am. J. M. Sc., 195 : 453, 1919.
3. Warren, S. L. and Whipple, G.H., Roentgen ray intoxication : A study of sequence of clinical, anatomical and histological changes following a unit dose of X rays. J. Esper. Med., 35 : 203, 1922.
4. Martin, C. L. and Rogers, F. T., Intestinal reaction to erythema dose. Am.J.Roentgenol., 10 : 11, 1923.
5. Doub, H.P., Bolliger, A. and Hartman, F.W., Relative sensitivity of the kidney to irradiation. Radiology, 8 : 142, 1927.
6. Ingold, J.A., Reed, G. B., Kaplan, H. S. and Bagshaw, M. A., Radiation hepatitis. Am. J. Roentgenol., 93 : 200, 1965.
7. Casarett, G. W., Cellular basis and aetiology of late somatic effects of ionizing radiations. Academic press., New York, 1963.
8. Rubin, R. and Casaret, G., Clinical radiation pathology vol.1, WB Saunders, Philadelphia, 1968.
9. Hall, E.J., Radiobiology for the radiologist (second edition). Harper & Row, publishers, New York, 1978.
10. Hall, E. J., Radiobiology for the radiologist (third edition). J. B. Lippincott Company, Philadelphia, 1988.
11. Chung, W.K. and Yoo, H.J., An experimental study on the effects of Roentgen irradiation upon the liver of the rabbit. J. Korea univ., 12 : 263-273, 1975.
12. Kang, I. W., Radiation hepatitis in rat. Seoul National Univ. Graduate school. Seoul, 1980.
13. Ogata, K., Hizawa, K., Yoshida, M., Kitamura, T., Akagi, G., Kagawa, K. and Fukuda, F., Hepatic injury following irradiation : a morphologic study. Tokushima J. Exp. Med., 9 : 240, 1963.
14. Reed, G. B. and Cox, A. J., The human liver after radiation injury. A form of veno-occlusive disease. Am.J.Pathol., 48 : 597, 1966.
15. Lewin, K. and Millis, R. R., Human radiation hepatitis. A morphologic study with emphasis on the late changes. Arch. Pathol., 96 : 21, 1973.
16. Park, S. H., Choi, K. S., Kim, B.K., Kwon, Y. J. and Lee, J.B., Effect of Single or Fractionated X-Irradiation on the NP-SH and NP-SS of Rabbit Liver and Lung Tissues. Kor.J.physio., 4 : 131-137, 1970.
17. Hebard, D. W., Jackson, K.L. and Christensen, G. M., The chronological development of late radiation injury in the liver of the rat. Radiat.Res., 81 : 441, 1980.
18. Zook, B. C., Bradley, E. W., Casarett, G. W., Hitzelberg, R. A. and Rogers, C.C., The pathologic effects of fractionated fast neutron or photons on canine liver. cancer clin. trials, 4 : 47, 1981.
19. Lim, C. S., A study on the effects of X-irradiation causing morphological changes of

- the rat liver. Chonbuk national univ. Graduate school. Chonju, 1985.
20. Cho, Y. H., The effect of X-ray irradiation on liver tissue & serum lipoprotein content of rat. Ewha womans univ. Graduate School. Seoul, 1986.
  21. Hiroki. T., Evaluation of radiation induced hepatic injury using scintigraphic methods. *Jap.J.Nuc. Med.*, 24 : 373-381, 1987.
  22. Lee, J. I., A nuclear medicine study on the effect of high energy gamma irradiation on rabbit liver. Taegu univ. Graduate School. Taegu, 1988.
  23. Shapiro. B., Biochemical mechanisms in the action of radiation : The Biological Basis of Radiation Therapy. J.B.Lippincott Co. Philadelphia, 1966.
  24. Dalrymple, G. V., Gaulden, M. E., Kollmorgen,G.M. and Vogel,H.H., Medical radiation biology(1st Ed.). V.W.Saunders Co., Philadelphia, 1973.
  25. Wharton, J. T., Delclos, L., Gallager, S. and Smith, J. P., Radiation hepatitis induced by abdominal irradiation with the cobalt-60 moving strip technique. *Am.J.Roentgenol.*, 117 : 73, 1973.
  26. Kim,Y.H., A study on the Utilization of high cost radiation therapy units in Korea. Seoul national univ. Public health graduate school. Seoul, 1989.
  27. Kim,Y.I., Radiation therapy. Sinkwang publishers, Seoul, 1992.
  28. Nam, Y. S., A study on the immune regulatory effects of the liver factor liberated from experimentally damaged hepatocytes. Hanyang univ. Graduate school. Seoul, 1987.
  29. Lee, K. J., An experimental study on the condition of irradiation and the skin reaction by 6 MV X-ray. Ewha womans univ. Graduate school. Seoul, 1984.
  30. Saris, N. E., Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin.Chem.*, 24 : 720-721, 1978.
  31. Bergmeyer, H. U., Scheibe, P., Wahlefeld,A. W., Optimization of methods for aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. *Clin.Chem.*, 24 : 58-73, 1978.
  32. DuPont, Dimension clinical chemistry system procedure manuals DuPont Co., 1992.
  33. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K., Assay for lipid peroxides in animals tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, 95 : 351, 1979.
  34. Harkness, R. D., Regeneration of liver. *Brit. Med.Bull.*, 13 : 87, 1957.
  35. Weinbren, K., Regeneration of the liver. *Gastroent.*, 37 : 657, 1959.
  36. Gutman, A. B., Serum alkaline phosphatase activity in disease of the skeletal and hepatobiliary system, *Am.J.Med.*, 27 : 875, 1959.
  37. Plaa, G. L. and Witschin, H, Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Am.Rev. Toxicol.Pharmacol.*, 16 : 125-141, 1976.