

한우의 혈장 및 조직중의 lactate dehydrogenase의 활성치와 isoenzyme의 분포

김 기 석 · 조 종 후

전북대학교 수의과대학

(1989. 7. 25 접수)

Lactate dehydrogenase activity and isoenzyme distribution in plasma and tissue of Korean native cattle

Ki-seog Kim, Jong-hoo Cho

College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University

(Received July 25, 1989)

Abstract: The activity of lactate dehydrogenase in plasma and various tissues (skeletal muscle, cardiac muscle, liver, lung, kidney and spleen) of Korean native cattle in a Chonju abattoir, the Breeding Stock Farm and Animal Farm of Chonbuk University was determined by using ultra violet method. Using polyacrylamide gel electrophoresis, the lactate dehydrogenase isoenzyme distribution of plasma and various tissues in Korean native cattle was studied.

The plasma lactate dehydrogenase activity of Korean native cattle was 554.80 ± 92.70 IU/l and the lactate dehydrogenase activity of male plasma was 543.96 ± 97.89 IU/l, which was lower than that of female plasma, 579.19 ± 78.09 IU/l. The plasma lactate dehydrogenase activity of calf was 557.31 ± 110.27 IU/l and was no significantly different from that of adult Korean native cattle. But the range of calf lactate dehydrogenase activity was larger than that of adult Korean native cattle.

In tissues, the lactate dehydrogenase activity was decreased in order of lung, kidney, spleen, liver, heart and skeletal muscle. The lung had the greatest activity and the skeletal muscle had the least.

Lactate dehydrogenase isoenzymes in plasma and tissues were found to have a characteristic distribution and quantitative isoenzyme patterns. In plasma, the LDH1 usually had the greatest activity and other isoenzymes showed a decreasing tendency in order of LDH2, LDH3, LDH4 and LDH5.

The distribution of lactate dehydrogenase isoenzymes had a wide variation in tissues. But the distribution of LDH isoenzymes in plasma was similar to that in kidney, and also cardiac muscle and spleen had similar pattern in LDH isoenzymes distribution.

Key words: lactate dehydrogenase, isoenzyme, Korean native cattle.

서 론

Lactate dehydrogenase(LDH)는 인체와 거의 모든

동물체의 세포에 존재하는 효소로서 세포질 내에서 그 기능을 발휘하며 각 조직 및 장기에 따라 그 활성이 다르므로 특정 장기조직의 이상에 대한 진단을 위하여

또는 치유효과를 검사할 목적으로 혈중 LDH 효소 활성의 추정이 임상적으로 많이 이용되고 있다.¹⁻³ 그리고 Neilands⁴가 포유류에서 LDH의 isoenzyme으로 정의되는 다섯가지의 유전적으로 다른 분자형태가 존재함을 보고한 이래 Vesell과 Bearn⁵ Pfeiderer와 Wachsmuth⁶ 그리고 Rodwell et al⁷이 LDH는 5종의 isoenzyme으로 구성된다는 것을 확인하였으며 조직에 따라 LDH isoenzyme 조성은 다르다고 하였다.

Vesell과 Bearn⁵은 특히 혈청내에 나타나는 LDH isoenzyme의 조성이 손상된 장기로부터 방출되는 LDH isoenzyme 조성에 의하여 영향을 받기 때문에 혈중 LDH isoenzyme 조성의 측정은 특정 장기 진단에 필요하다고 하였으며 Prasse⁸는 건강한 성우에서 혈청중의 isoenzyme 조성의 검사로서 특정 질병의 진단에 이용할 수 있음을 보고하였다.

그러나 LDH isoenzyme 측정이 인체의 심근경색, 간 질환과 같은 장기 손상의 진단에 널리 이용되고 있는데 비하여 가축질병의 진단에는 널리 이용되고 있지 않은 실정이다. 더욱이 우리나라의 독특한 사육환경에서 사육되고 있는 한우에 대한 LDH 활성 및 LDH

isoenzyme 조성에 관한 연구는 거의 이루어지고 있지 않은 상태이다.

그러므로 본 연구에서는 한우의 혈장중 정상적인 LDH 활성에 대한 기초조사를 실시하고 혈장 LDH isoenzyme의 조성비를 확립하고자 하였다. 아울러 각 장기 조직중의 LDH 활성과 LDH isoenzyme 조성을 조사하여 각 장기의 손상에 따른 혈장 LDH isoenzyme의 변화의 차이를 추정할 수 있도록 하였으며 특히 어느 장기의 진단에 더 활용할 수 있을 것인지에 대해서도 추구하였다.

재료 및 방법

공시 혈장 및 조직 : 공시혈액은 전북 전주시 소재 도축장에 계류중인 한우와 전북 종축장의 한우 중 성우 및 전북대학교 부속 목장에 사육하고 있는 송아지로부터 채혈하여 heparin을 가하고 혈장을 분리한 다음 실험에 사용하였다. 조직은 전주시 도축장에서 도살되는 한우에서 간, 신장, 비장, 폐, 심장 및 근육을 채취하여 ice box에 넣어 실험실에 옮긴 후 Clark와 Switzer⁹의 방법에 따라 조직 추출액을 만들었다. 즉

Table 1. Formulas for stock solutions, buffer and gels for lactate dehydrogenase isoenzymes

A. Stock electrophoresis buffer				
Upper electrode		Lower electrode	Gel	
Tris 1M		Tris 1M	Tris 1.5M	
Glycine 1M		HCl 0.5M	Temed 0.02M	
adjusted to pH 8.9		adjusted to pH 8.1	HCl 0.24M	
H ₂ O to 1L		H ₂ O to 1L	adjusted to pH 8.9	
			H ₂ O to 1L	
B. Electrophoresis buffer				
Upper electrode		Lower electrode	Gel	
20×buffer		10×buffer	Gel buffer	
C. Stock solution for gels				
Acrylamide solutions		Gel initiator solutions	A	B
Acrylamide	20g	Ammonium persulfate	0.4g	0.6g
Bis	0.67g	Sucrose	10g	10g
Final volume	100ml	Final volume	100ml	100ml
D. Polymerization mixtures				
Concentrating gel		Resolving gel		
(4w/v% acrylamide)		(5w/v% acrylamide)		
Acrylamide	2.0	Acrylamide	4.0ml	
Gel buffer	1.0ml	Gel buffer	5.5ml	
Initiator	3.0ml(B)	Initiator	5.5ml(A)	
H ₂ O	4.0ml		—	

조직 200mg당 0.85% NaCl용액 1ml을 혼합하여 Universal homogenizer(Tokyo Nihon seiki Seisakusho Co., Japan)를 사용하여 균질 마쇄한 후 4,000rpm에서 30분간 원심 분리하고 그 상층액을 취하여 즉시 실험에 사용하였다.

혈장과 각 조직 추출액 중의 LDH활성의 측정: 혈장과 각 조직추출액 중의 LDH활성의 측정은 Wahlefeld¹⁰의 방법에 준하였다. 즉, silica cell(투과길이 10 mm)에 6.5mMβ-NAD용액 0.1ml와 112mM tris buffer에 52mM sodium lactate를 용해한 기질용액 2.4ml를 가하여 혼합한 후 UV/VIS kinetics spectrophotometer (Pye Unicam, PU8610)의 cell holder에 넣어 온도를 30°C로 조절하였다. 여기에 혈장 또는 조직 추출액 0.1ml를 가하여 혼합한 후 즉시 파장 339nm에서의 흡광도 변화를 측정하여 분당흡광도 변화($\Delta A/min$)를 구하고 식 $LDH \text{ unit/l} = 4.127 \times 10^3 \times \Delta A / \Delta t$ 에 의하여 시료액 1l당 LDH의 unit를 산출하였다.

혈장과 각 조직 추출액 중의 LDH isoenzyme 조성의 측정: LDH isoenzyme의 분리는 Glover¹¹의 polyacrylamide gel 전기 영동법에 따랐다. 요약하면 polyacrylamide gel의 제조를 위한 시약과 용량은 Table 1과 같으며 동시에 다수 시료의 분리를 위하여 slab gel을 만들었다. 이때 resolving gel의 길이는 9cm로 하였고 concentrating gel의 길이는 3cm로 하였다. 여기에 Cooper¹²의 방법에 따라 만든 혈장 또는 조직 추출액 시료 10μl을 gel위에 적용하여 5°C에서 전기 영동시켰다. 먼저 10mA에서 약 30분간 전기영동하여 시료를 농축시킨 후 20mA로 올려 약 3시간 30

분동안 표시 염료(bromphenol blue)가 하단에 도달할 때까지 전기영동 시켰다. 전기영동이 끝나면 Clark와 Switzer⁹의 방법에 따라 gel을 분리하여 완충액을 닦아내고 암실에 1분간 방치한 후, 0.3% nitroblue tetrazolium 7.0ml, 0.3% phenazine methosulfate 0.7ml, 50% β-NAD 2.0ml, 60% sodium lactate 0.7ml로 조성된 염색용액에 넣어 15초 동안 반응시켰다. 다음에 염색된 gel을 꺼내어 실온에서 5~10분간 방치한 다음 5% acetic acid에 10분간 고정시켰다. 발색된 각각의 LDH분획을 chromatogram densitometer(DESAGA CS930)을 이용하여 546nm에서 각 isoenzyme 조성비를 구하고 그 조성비에 의하여 총 LDH활성으로부터 각 isoenzyme활성을 산출하였다.

결 과

혈장의 LDH활성은 Table 2와 같다. 즉 숫소보다 암소의 LDH활성이 더 높았으며($p < 0.05$), 송아지의

Table 2. Total lactate dehydrogenase activities in plasma of Korean cattle

Groups	No. of cattle	Total LDH(U/L)	
		Mean±S.D.	Range
Male	27	543.96±97.89	420.95—774.44
Female	25	579.19±78.09*	442.95—686.32
Calf	11	557.31±110.27	369.70—734.60
Total	63	554.80±92.70	369.70—774.44

* $p < 0.05$.

Table 3. Absolute activities of lactate dehydrogenase isoenzymes in plasma and tissue extracts of Korean native cattle

Tissue	No. tested	LDH activities, U/g·mean(range)					
		LDH1	LDH2	LDH3	LDH4	LDH5	Total LDH
Skeletal muscle	20	0.11 (0.28—0.008)	0.16 (0.38—0.008)	0.36 (0.63—0.14)	0.28 (0.59—0.16)	2.13 (2.59—1.27)	2.95 (4.12—2.08)
Heart	20	1.34 (1.93—0.78)	1.14 (1.67—0.85)	0.75 (1.00—0.52)	0.32 (0.74—0.03)	1.06 (1.42—0.27)	4.66 (6.93—3.60)
Liver	20	1.05 (1.88—0.41)	1.20 (2.04—0.43)	1.22 (1.98—0.63)	0.90 (2.09—0.58)	1.56 (2.86—0.55)	5.95 (7.55—4.07)
Lung	20	1.65 (2.99—0.93)	0.95 (1.55—0.64)	1.15 (1.69—0.44)	0.88 (1.39—0.30)	2.59 (4.23—1.12)	7.25 (8.85—5.09)
Kidney	20	3.61 (4.00—3.09)	0.96 (1.34—0.52)	0.60 (0.91—0.44)	0.54 (1.01—0.26)	0.47 (1.09—0.40)	6.31 (8.70—4.09)
Spleen	20	2.14 (3.19—1.29)	1.18 (1.79—0.45)	0.93 (1.52—0.61)	0.73 (1.36—0.18)	1.07 (1.55—0.59)	6.16 (7.64—4.54)
Plasma*	52	232.06 (301.2—168.1)	161.87 (207.4—116.5)	91.76 (154.7—49.9)	39.17 (96.5—10.5)	23.44 (47.1—4.43)	554.80 (774.44—420.95)

* In plasma, units/L

LDH활성은 성우와 유의차가 없었으나 암소보다는 낮고 숫소보다는 높은 경향이였다. 평균 LDH활성은 $554.80 \pm 92.70 \text{ I.U./l}$ 이었으며 특히 송아지에서는 개체 차이가 큰 경향이였다.

혈장과 조직 추출액의 LDH활성과 LDH isoenzyme 활성은 Table 3과 같았으며 조성비는 Table 4와 같다. 즉, 조직중의 LDH활성은 폐, 신장, 비장, 간, 심장, 골격근의 순서로 폐에서 가장 높았고 골격근에서 가장 낮았다. LDH isoenzyme의 조성은 조직에 따라 차이가 있었으며 Fig. 1과 Fig. 2에서 보여주는 바와 같이 혈장과 각 조직액의 LDH isoenzyme의 전기 영동상으로부터 작성한 densitogram에서 명백한 차이를 보였다.

혈장 LDH isoenzyme의 활성은 LDH1이 가장 높았고 다음으로 LDH2였으며 LDH3, LDH4, LDH5의 순으로 모두 낮은 수준을 나타내었다.

골격근의 LDH isoenzyme의 활성은 LDH5가 특히 높았고 LDH3, LDH4, LDH2, LDH1의 순서로 감소하였으나 LDH5에 비하여 이들 모두 매우 낮았다.

심장의 LDH isoenzyme의 활성은 LDH1, LDH2, LDH5, LDH3, LDH4의 순서로 LDH1에서 가장 높았고 LDH4에서 가장 낮았으나 대체로 모든 isoenzyme의 활성이 높은 경향이였다.

간의 LDH isoenzyme의 활성은 LDH5, LDH3, LDH2, LDH1, LDH4의 순서로 LDH5에서 가장 높았고 LDH4에서 가장 낮았으나, LDH3, LDH2, LDH1은 비슷한 수준으로 비교적 높았다.

폐의 LDH isoenzyme활성은 LDH5, LDH1, LDH3, LDH2, LDH4의 순서로 LDH5를 제외한 나머지 isoenzyme의 조성은 비슷한 수준으로 높았다.

신장의 LDH isoenzyme 활성은 LDH1이 다른

Table 4. Relative activities of lactate dehydrogenase isoenzymes in plasma and tissue extracts of Korean native cattle

Tissue	No. tested	LDH activities, %(Mean+SD)							
		LDH1		LDH2		LDH3		LDH4	
Skeletal muscle	20	3.86± 3.35	5.56± 4.22	12.32± 6.51	9.66±4.69	68.25±15.17			100
Heart	20	28.65± 7.68	24.40± 6.60	16.16± 3.78	6.98±4.32	22.84± 9.32			100
Liver	20	17.54± 9.23	20.15±11.60	20.50±10.19	15.06±9.48	26.15±16.03			100
Lung	20	22.74± 7.88	13.10± 4.46	15.89± 5.48	12.11±5.40	35.73±13.13			100
Kidney	20	57.25± 4.61	15.21± 4.77	9.49± 2.55	8.61±4.97	9.02± 3.33			100
Spleen	20	34.75±12.88	19.18±11.75	15.10± 4.87	11.81±6.83	17.51± 6.51			100
Plasma	52	41.82± 5.81	29.18± 4.50	16.54± 4.83	7.06±3.54	4.23± 2.36			100

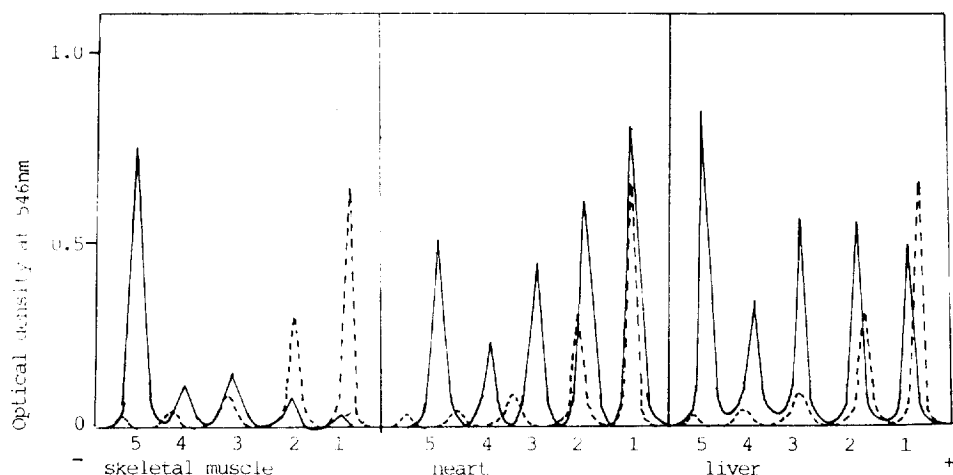


Fig 1. Densitometric tracing of disc-gel electrophoregram of lactate dehydrogenase isoenzymes in plasma and tissue extracts of Korean native cattle. plasma: ---, tissue extract: —

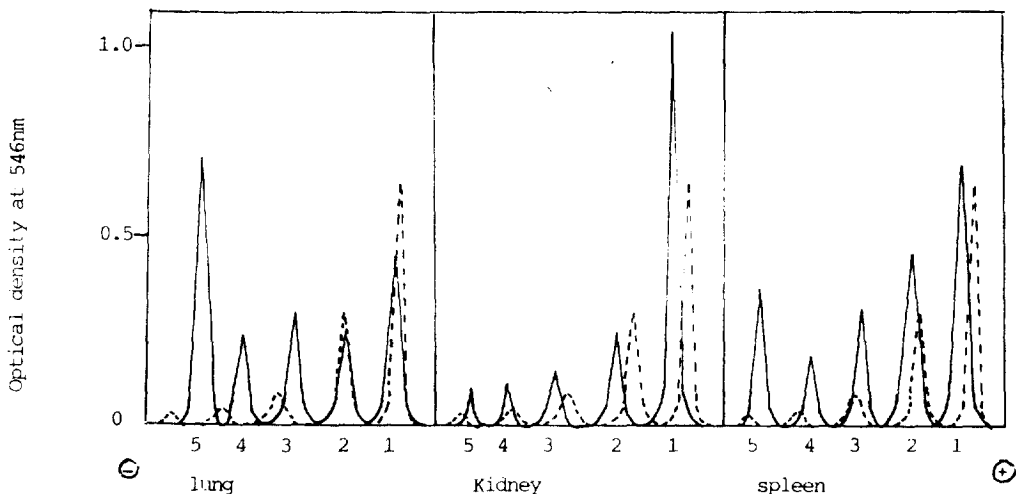


Fig 2. Densitometric tracing of disc-gel electrophoresis of lactate dehydrogenase isoenzymes in plasma and tissue extracts of Korean cattle. plasma: ---, tissue extract: —

isoenzyme에 비하여 특히 높았으며 LDH2, LDH3, LDH5, LDH4의 순서로 감소하였으나 이들 수준은 혈장에서와 같이 낮은 수준이었다.

비장의 LDH isoenzyme 활성은 LDH1이 가장 높았으며 LDH2, LDH5, LDH3, LDH4의 순서로 감소하였고 심장의 isoenzyme 양상과 매우 유사하였다.

이상의 혈장 및 각 조직 추출액중의 LDH isoenzyme 조성을 비교하기 위하여 총 LDH활성을 100으로 하여 각 isoenzyme 조성비를 환산하면 Table 4와 같다.

고 찰

동물과 인체의 대부분의 조직에서 큰 차이없이 LDH LDH의 높은 활성을 보임으로서 혈중 총 LDH활성의 측정만으로는 특정장기질환의 진단에 이용하기 어려운 것으로 생각되어 왔다.¹³ 그럴지라도 인체에서 간질환, 악성종양 및 근육손상 등의 진단목적으로 LDH활성의 측정이 보편적으로 이용되고 있으며^{1,2} 가축에서도 LDH 활성의 임상적 활용에 대한 더 많은 연구가 필요하다고 생각된다.

이와 관련하여 주로 외국에서 소, 양, 돼지, 말 및 닭의 혈청 LDH활성이 보고되었으며 보고자에 따라 활성치가 달라서 그 기준을 정하기 어려운 실정이다.¹⁴

소의 혈장중의 LDH활성 농도에서도 Melby와 Altman¹⁵은 270 IU/l, Mitruka와 Radwansley¹⁴는 155 IU/l, Lumsden et al¹⁶은 406~730 IU/l로 보고자에 따라 다르다. 본 실험에서는 숫소에서 543.96 IU/l, 암소에서 579.19 IU/l로 Lumsden et al¹⁶이 보고한

농도와 비슷한 수준으로 높았고 암소가 숫소보다 높았다. 이러한 성적은 숫소가 암소보다 다소 높은 경향이 나 대체로 같은 농도를 보였다는 Boyd¹⁷의 보고와 차이를 보였는데 아마도 개체 차이가 큰데 기인한 것으로 사려된다.

일반적으로 동물에서 연령이 증가함에 따라 LDH활성이 감소한다고 보고 되었으며^{18,19} 소에서도 Prasse⁸에 의하면 연령증가에 따라 LDH활성이 감소한다고 하였다. 그러나 본 실험에서는 송아지와 성우가 대체로 비슷하였다. 이는 본 실험에서 송아지에 대한 실험에 적었기 때문에 송아지의 평균 농도로 보기에 불충분한 것으로 더 많은 연구가 필요하다고 사려된다.

LDH의 장기별 활성에 차이가 있는지를 조사한 결과 모든 장기에서 비교적 높은 활성을 보였으며, 폐, 신장, 비장, 간, 심장 및 골격근의 순서로 감소하는 경향을 보였다. 이러한 성적은 인체에서 신장, 심장, 골격근, 췌장, 비장, 간, 폐 및 태반의 순서로 감소하는 경향이라는 Wroblewski¹의 보고와 차이를 보였으며 동물의 종류에 따라 다른 것으로 사려된다.

그러므로 본 실험에서 소의 각 장기별 LDH활성의 특성을 조사한 본자료는 임상적으로 응용하면 보다 유용하게 활용할 수 있을 것이다.

혈청 총 LDH활성의 측정은 장기별 특이성이 적어 임상적 활용성이 의심되고 있는 반면 LDH가 각 장기에서 따라 isoenzyme조성이 다르다는 사실이 확인되므로 혈중 LDH isoenzyme조성은 각 장기질환의 임상적 진단에 크게 활용될 수 있을 것으로 예측되었으며

이와 관련한 많은 연구가 진행되고 있다.

소에서도 심장 LDH가 두개의 분획을 가진다는 Meister²⁰의 보고후 Prasse⁸는 LDH활성에서 개체 차이가 크나 장기에 따라 비교적 특징적인 isoenzyme조성을 가진다는 것을 보고하여 LDH활성을 단독으로 분석하기 보다 LDH활성과 함께 isoenzyme조성을 분석함이가 장기질환을 진단하는데 유용하게 이용될 수 있을 것으로 생각되어 왔다.

본 실험에서 이를 확인하였으며 장기별로 독특한 isoenzyme조성을 나타내었다. 그러나 심장과 비장의 isoenzyme의 조성이 매우 유사하였으므로 이의 감별에는 별도의 확인 검사가 필요할 지라도 혈장 LDH isoenzyme 조성의 측정은 각 장기 질환의 진단에 유용하게 활용할 수 있을 것으로 사려된다.

결 론

도축장과 종축장 및 전북대학교 부속축장의 건강한 한우와 성우로부터 채혈분리한 혈장과 조직(골격근, 심장, 간, 폐, 신장, 비장) 등의 총 LDH활성을 자외부 측정법으로, isoenzyme 조성은 polyacrylaidide gel 전기영동법으로 측정하였다.

한우의 혈장 중 LDH활성은 $554.80 \pm 92.70 \text{ I.U./l}$ 였으며, 숫소는 $543.9 \pm 92.89 \text{ I.U./l}$ 로 암소의 $579.19 \pm 78.09 \text{ I.U./l}$ 보다 더 낮았다. 송아지의 LDH활성은 $557.31 \pm 110.27 \text{ I.U./l}$ 로서 성우와 차이가 없었다. 그러나 송아지는 성우보다 개체차가 더 컸다. 각 조직중의 LDH활성은 폐, 신장, 비장, 간, 심장, 골격근의 순서로 폐에서 가장 높았고 골격근에서 가장 낮았다.

한우 혈장중의 LDH isoenzyme의 조성은 LDH1이 가장 높은 활성을 나타내었고 LDH2, LDH3, LDH4, LDH5의 순서로 감소하는 경향을 보였다.

LDH isoenzyme의 조성은 조직의 종류에 따라 크게 달랐다. 그러나 혈장과 신장, 심장과 비장의 조성이 각기 서로 유사한 isoenzyme조성을 보였다.

참 고 문 헌

1. Wroblewski F. The clinical significance of lactic dehydrogenase activity in the milien interienr. *Scand J Clin & Lab Invest* 1957;31 (Suppl 10):230~253.
2. Hill RB, Jordan KT. Serum lactic dehydrogenase activity in mice with translated leukemia. *Cancer Res* 1957;17:144~147.
3. Sorensen DK, Anderson RK, Perman V. WHO conference on comparative studies in lenkemias

Rep. philadelphia: WHO, 1961:26.

4. Neilands JB. The purity of crystalline 'lactic dehydrogenase. *Science* 1952;115:143.
5. Vesell ES, Bearn AG. Isoenzymes of lactic dehydrogenase in human tissues. *J Clin Invest* 1961;40:586~591.
6. Pfeleiderer G, Wachsmuth EG. Alters und funktionsabhängige differenzierung der laktadehydrogenase menschlier organe. *Biochem* 2 1961;334: 185~198.
7. Rodwell VW. General Properties of enzymes. In Martin Jr. DW, et al. ed, *Harper's review of biochemistry*, 20th ed. Los Altos: Lange Medical Publication, 1985;52~64.
8. Prasse KW. Lactic dehydrogenase activity and isoenzyme distribution in serum of normal cattle. *Am J Vet Res* 1969;30(12):2181~2184.
9. Clark Jr JM, Switzer RL. Isoenzymes of lactic dehydrogenase. In *Experimental biochemistry*, 2nd ed. San Francisco: WH Freeman and Co, 1976;119~122.
10. Wahlefeld AW. UV-method with L-lactate and NAD. In: Bergmeyer HV. ed. *Method of enzymatic analysis*, 3rd ed. Florida Basel: Wein Deerfield Beach, 1983;3(2):126~133.
11. Glover J. Fluorescence assay of retinol binding Holoprotein In: *Methods in enzymology*. New York: Academic Press, 1980;67:282~287.
12. Cooper TG. Disc gel electrophoresis of lactate dehydrogenase using nitroblue tetrazolium for enzyme visualization. In: *The tools of biochemistry*. New York: Wiley Interscience Publication, 1977;228~233.
13. Cornelliuss CE. Serum lactate dehydrogenase. In: Kaneko JJ ed. *Clinical biochemistry of domestic animals*. New York: Academic press, 1980;6:242.
14. Mitruka BM, Rawnsley HM. Biochemical reference values of the normal cow. In: *Clinical biochemical and hematological reference values in normal experimental animals and humans*. 2nd ed. New York: Masson publishing USA Inc, 1981;237.
15. Melby EC, Altman NH. Biochemical reference values of the normal cow. In: Mitruka BM,

- Rawnsley HM, ed. *Clinical biochemical and hematological reference values in normal experimental animals and humans*. 2nd ed. New York: Masson publishing USA Inc, 1981;237.
16. Lumsden JH, Mullen K, Rowe R. Biochemical reference values of the normal cow. In: Mitruka BM, Rawnsley HM, ed. *Clinical biochemical and hematological reference values in normal experimental animals and humans*. 2nd ed. New York: Masson publishing USA Inc, 1981;237.
17. Boyd JW. Comparative activity of some enzymes in sheep, cattle and rats: Normal serum and tissue levels and changes during experimental liver necrosis. *Res Vet Sci* 1962;3:256~268.
18. McDaniel LS, Chute HL. Enzyme activity levels in chicken plasma. *Am J Vet* 1961;22:99~103.
19. Keller P. Lactate dehydrogenase isoenzymes in normal bovine serum and during experimental liver and muscle damage. *Res Vet Sci* 1974;7: 49~58.
20. Meister A. Reduction of a., -diketo and a-keto acids catalyzed preparations and by crystalline lactic dehydrogenase. *J Biol Chem* 1950;184: 117~129.