

紫河車 약침이 흰쥐의 혈액성상과 항산화효소의 활성화에 미치는 영향

이준무

상지대학교 한의학과 경락경혈학교실

Effects of *Hominis placenta* pharmacopuncture on the blood picture and antioxidative activity in rats

Joonmoo Lee*

Dept. of Meridian & Acupoint, College of Oriental Medicine, Sangji University

Abstract

Objectives: To investigate the effects of *Hominis placenta* pharmacopuncture on the blood picture and antioxidative activity in rats.

Methods: Sprague-Dawley rats were divided into 3 groups; normal control (n=5), pharmacopuncture at CV12 (CV12 group, n=5), and pharmacopuncture at ST36 (ST36 group, n=5) once every other day for 4 weeks. Blood cell counting was performed and liver superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-Px) activities were analyzed.

Results: Values of red blood cell and plasma cell volume were significantly higher in the ST36 group than the normal control. Values of hematocrit, total protein, and albumin were not significantly different among groups. White blood cell count and the percentage of neutrophils, lymphocytes, and eosinophils were not significantly different among groups. However, monocytes and basophils were significantly increased in the ST36, and CV12 groups, respectively. SOD and CAT in the CV12 and ST36 groups were significantly activated than in the normal control group, while the activity of GSH-Px showed no significant difference among groups.

Conclusions: Based on the findings of this study, *Hominis placenta* pharmacopuncture may have positive impact on antioxidative capacity, thus activate various functions of the body.

Key words: pharmacopuncture; *Hominis placenta*; antioxidant.

1. 서론

현대 사회는 다양한 스트레스에 노출되기 쉬운 환경이며 따라서 질병발생의 많은 부분에 스트레스가 원인을 제공하는 경우가 많다. 그러한 과정에 관여하는 여러 기전

가운데 인체에 가해지는 스트레스는 혈액 내의 epinephrine, norepinephrine 및 cortisol 등의 호르몬 농도를 증가시키고, 백혈구 총수 및 호중구의 증가와 lymphocytes가 감소하는 혈구 분포를 나타내며, 면역체계를 비롯한 여러 생체기능에 영향을 미친다¹⁻³⁾. 스트레스로 인한 초기의 증상은 흔히 食慾不振, 頭痛, 慢性疲勞, 不

· 교신저자: 이준무, 강원 원주시 우산동 660번지 상지대학교 한의과대학 경혈학교실, Tel. 033-730-0662, Fax. 033-730-0653, E-mail: jmlee@sangji.ac.kr

· 투고 : 2009/05/27 심사 : 2009/06/13 채택 : 2009/06/21

眠 및 意慾喪失 등이 나타날 수 있으며, 장기간 방치하면 우울증 등의 精神的 疾患과 함께 암을 유발하거나 노화를 촉진할 수도 있다. 따라서 스트레스성 질환은 예방 및 초기의 적극적 대응이 대단히 중요하며, 질환의 정도가 심할 경우에는 심리적 治療法과 함께 藥物을 겸한 여러 임상적 治療法을 並行하여 治療效果를 향상시켜 대응해야 한다.

최근 스트레스성 질환의 증가와 더불어 스트레스를 예방하거나 치료하기 위한 연구가 여러 연구자들에 의해 다양하게 수행되었다⁴⁻⁹⁾. 이와 같은 연구의 결과들은 한방 요법에 의한 스트레스성 질환의 치료개선 효과의 가능성을 제시했으며, 한편으로는 보다 더 많은 연구의 필요성을 인식시켜주었다.

紫河車(*Hominis placenta*)는 건강한 사람의 태반을 건조한 것으로 性은 溫, 無毒하고, 味는 甘鹹하며 肺, 肝, 腎經에 들어가 補氣, 養血, 益精하여 오래된 병으로 인한 신체허약이나 체질허약과 氣血不足 및 腎虛精虧 등 證을 치료하는 효능이 있어 肺結核, 神經衰弱, 貧血, 氣管支喘息 등 만성병에 응용되어 왔으며^{10,11)}, 최근 들어 골다공증¹²⁾, 관절염¹³⁾ 및 월경통¹⁴⁾ 등의 치료효과를 개선시키는 연구가 수행되어 紫河車(*Hominis placenta*)의 응용가능성을 한층 더 넓혀주었다.

따라서 본 연구는 스트레스로 인한 慢性 疲勞 및 意慾喪失症에 대한 예방 및 治療에 紫河車의 이용 가능성을 살펴보기 위하여 흰쥐의 中脘(CV12) 및 足三里(ST36)에 상

응하는 부위에 紫河車 약침을 처리한 후 혈액성상의 변화와 항산화효소의 활성을 검토하여 다음과 같은 유의한 결과를 얻어 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 實驗動物, 食餌 및 實驗群

平均体重이 168.53±2.15g인 Sprague-Dawley계의 숫컷 15두를 일주일간 食餌 (Table 1) 및 環境에 적응시킨 후, 대조군 (正常群), 中脘(CV12) 약침군 및 足三里(ST36) 약침군 으로 나누고, 各 處理群 당 5頭씩 平均体重이 類似하게 任意配置했다. 식이급여는 4週間の 實驗期間동안 各 處理群別 平均食餌攝取量의 差異가 5% 前後가 되도록 給与量을 制限하였다. 물은 自由給与하였다.

Table 1. Composition of experimental diets.

Ingredients (%)	Basal diet
Casein	20.0
α-Corn starch	35.0
Sucrose	11.0
Lard	4.0
Corn oil	1.0
Mineral mix1)	3.5
Vitamin mix2)	1.0
Cellulose powder	23.5
DL-methione	0.3

¹⁾Mineral mix.(g/kg diet): CaCO₃, 29.29; CaHPO₄·2H₂O, 0.43; KH₂PO₄, 34.30; NaCl, 25.06; MgSO₄·7H₂O, 9.98; Ferric citrate hexahydrate, 0.623; CUSO₄·5H₂O, 0.516; MnSO₄·H₂O, 0.121; ZnCl₂, 0.02; KI, 0.005; (NH₄)₆ Mo₇O₂₄·4H₂O, 0.0025.

²⁾Vitamin mix(mg/kg diet): Thiamine-HCl, 12; riboflavin, 40; Pyridoxin-HCl, 8; Vitamin-B12, 0.005; Ascorbic acid, 300; D-biotin, 0.2; Menadione, 52; Folic acid, 2; Dicalciumpantothenate, 50; Paminobenzoic acid, 50; Nicotinic acid, 60; Cholinchloride, 2000 (IU/kg diet); Rethinylacetate, 5000 (IU/kg diet); Cholecalciferol, 250 (IU/kg diet).

2. 紫河車 약침액의 조제

약침액은 100g의 紫河車를 둥근 flask에 2ℓ의 증류수와 함께 넣어 수증기 증류법으로 1600ml의 증류액을 만든 후, 냉각, 여과하고, 이 여액을 100ml되게 감압, 농축하여, pH 7로 조정, 냉장 보관했다.

3. 약침처리 및 취혈

대조군을 제외한 2개 약침처리군(中脘(CV12), 足三里(ST36))들은 4주 동안, 격일로 오후 6시에 각 처리군 별로 약침 처리를 하였으며, 약침처리의 스트레스를 줄이기 위해 1.5m의 합판에 10개의 보정축을 설치한 보정틀을 제작, 이용했다. 취혈은 인체의 中脘(CV12) 및 足三里(ST36)에 상응하는 부위를 WHO의 표준경혈정위법¹⁵⁾의 방법에 준해 취혈하였다.

4. 採血 및 간장채취

채혈은 실험종료일에 12시간 절식을 시킨 후, 심장천자법에 의해 약 7ml를 하였으며, 채취한 혈액을 분석항목별로 나누어 각각의 시료로 사용하였다. 간장은 채혈을 마친 후, 채취하여 각각의 분석항목별 처리방법에 따라 처리 한 후, -80 ℃에 냉동 보관하였다.

5. 혈액 分析

혈액 total protein 및 albumin 농도는 혈액자동분석기(Boehringer Mannheim, 독일)

로, Hemoglobin량과 hematocrit치는 각각 Hb-meter와 microhematocrit centrifuge를 사용하여 측정하였으며, 적혈구와 백혈구 수는 counting chamber를 이용하여 직접 계수하였다. 백혈구의 구성종류는 Giemsa염색을 한 도말표본을 만들어 검경, 계수하였다. 구성비는 백혈구 200개를 기준으로 하였다.

6. 간장 Glutathione peroxidase activity (GSH-Px) 측정

간장 GSH-Px 활성은 Levander 등¹⁶⁾의 방법에 준해 분석하였다. 일정량의 간장절편을 생리식염수로 세척하여 혈액을 제거시킨 후, 0.15M KCl 수용액과 함께 homogenizer로 20% homogenate가 되도록 마쇄하여 9,000xg에서 15분간 원심분리하였다. 이 상층액을 다시 15,000xg에서 1시간 동안 원심분리 한 후, 상층액을 단백질의 함량이 100-200 μ g이 되도록 취하여 분석에 사용하였다. 원심분리시의 온도는 4℃를 유지하였으며, 조제한 시료를 stock solution(K buffer, 40mM glutathione, KH buffer, ml당 1 Unit의 glutathione reductase)에 넣어 37℃에서 10분간 항온시킨 후, 20 mM NADPH를 첨가하여 다시 2분 동안 방치시켰다. 그리고 15 mM t-butyl hydroperoxide를 가하여 그 반응을 340 nm에서 1분간 흡광도가 감소하는 속도를 측정하였다. GSH-Px활성도의 unit는 mg protein당 1분 동안 NADPH가 NADH로 산화되는 nmol수로 나타내었다.

7. 간장 Superoxide dismutase activity (SOD) 측정

간장 SOD 측정은 Xanthine oxidase에 의해 Superoxide를 생성하고, 이 superoxide가 ferricytochrome C (Fe^{3+})를 ferrouscytochrome C (Fe^{2+})로 환원시키는데 이때 SOD가 존재하면 SOD가 superoxide에 대해 경쟁하여 cytochrome c의 환원속도가 감소되는 원리를 이용한 Flohe 등¹⁷⁾의 방법으로 측정했다. 본 실험에서는 Fe^{3+} 의 환원이 방해되는 정도를 550 nm에서 30초 간격으로 3분간 비색정량한 후 Fe^{3+} 의 환원을 50% 방해하는 SOD의 양을 1 unit로 하여 분당 활성정도를 나타내었다.

8. 간장 Catalase activity 측정

간장 catalase활성을 측정하기 위하여 간장 0.2 g을 20배의 25 mM KH_2PO_4 -NaOH buffer (pH 7.0)에 넣어 균질화 시키고 이 homogenate를 같은 buffer로 60배 희석한 후 ice bath 상태에서 ultrasonicator (Heat System Ultrasonics. Inc., Ultrasonic Professor W-385)로 15초씩 2회 반복하여 이 시료를 Spectrophotometer(550 nm)에서 흡광도를 측정한 후 formaldehyde를 표준용액으로 하여 얻은 표준곡선으로부터 활성을 계산했다¹⁸⁾.

9. 통계처리

실험결과는 SPSS package를 이용하여 one-way ANOVA검정을 수행하였으며, 각 처리군 간의 유의성 검정은 Duncan's multiple range test 에 의해 $P<0.05$ 수준에서 실시했다.

III. 結果

1. 적혈구 총수(RBC), hemoglobin 농도 및 plasma cell volume (PCV)

RBC는 전 처리군에서 7.05×10^6 - 8.51×10^6 /ml의 변동 범위를 나타내었으며, 足三里(ST36) 紫河車약침처리군이 가장 높은 값을 나타내었다 ($P<0.05$). Hemoglobin농도는 전 처리군에서 12.11-15.31mg/dl의 범위를 나타내었으며, 처리군 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다 ($P>0.05$). PCV는 전 처리군에서 43.64-46.27%의 범위를 나타내었으며, 최고치는 足三里(ST36) 紫河車 약침처리군이었다 ($P<0.05$).

Table 2. Effects of *Hominis placenta* pharmacopuncture on the counts of RBC, Hb concentration and PCV in rats.

Group	RBC (10^6 /ml)	Hb (mg/dl)	PCV (%)
Control	7.05±0.44 ^a	12.11±3.05	43.64±1.21 ^a
CV12	7.88±0.71 ^{ab}	15.31±3.18	44.75±1.45 ^{ab}
ST36	8.51±0.56 ^b	14.97±3.59	46.27±1.72 ^b

RBC, red blood cell; Hb, hemoglobin; PCV, plasma cell volume; Control, normal condition; CV12, pharmacopuncture at CV12; ST36, pharmacopuncture at ST36.

^{ab}, means in the same column with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

2. Plasma total protein, plasma albumin 및 albumin/globulin (A/G)

Plasma total protein 농도는 각 처리군 별 7.52-7.81g/dl의 범위를 나타내었으나, 처리군 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다 ($P>0.05$). Albumin 농도도 4.47-4.85g/dl의 농도를 보였으나 처리군 간에 유의한 차이를 나타내지는 않았다 ($P>0.05$). A/G 비는 1.47에서 1.64를 나타내었으며, 足三里 (ST36) 紫河車 약침 처리군이 가장 높은 수치를 보였다.

Table 3. Effects of *Hominis placenta* pharmacopuncture on the concentration of plasma total protein, and albumin, and the ratio of albumin/globulin in rats.

Group	Plasma total protein (g/dl)	Plasma albumin (g/dl)	Albumin/Globulin
Control	7.52±0.88	4.47±0.74	1.47
CV12	7.73±0.82	4.69±0.87	1.54
ST36	7.81±1.05	4.85±0.71	1.64

Control, normal condition; CV12, pharmacopuncture at CV12; ST36, pharmacopuncture at ST36.

3. 백혈구 총수(WBC) 및 구성

백혈구는 전 처리군에서 6.71×10^3 -7.15 $\times 10^3$ /ml의 변동 범위를 보여주었으나, 처리군 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다 ($P>0.05$). Neutrophils, lymphocytes 및

eosinophils의 구성비도 처리군 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다 ($P>0.05$). Monocytes는 足三里(ST36) 紫河車 약침 처리군이 대조군보다 높았으며 ($P<0.05$), basophils는 足三里(ST36) 紫河車 약침 처리군이 높은 경향을 나타내었으나 대조군과 유의한 차이를 나타내지는 않았다 ($P>0.05$).

4. Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) 및 glutathione peroxidase (GSH-Px) 활성

SOD 및 CAT 활성치는 紫河車 약침 처리군 모두가 대조군보다 높았으며, 약침 처리군 간에는 유의한 차이를 나타내지 않았다 ($P>0.05$). GSH-Px 활성치는 전 처리군 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다 ($P>0.05$).

Table 5. Effects of *Hominis placenta* pharmacopuncture on SOD, CAT, and GSH-Px activities in rats.

Group	SOD (Unit/mg protein)	CAT (μ moles (H ₂ O ₂) min/mg/protein)	GSH-Px (n moles/min/mg /protein)
Control	13.75±1.58 ^a	121.52±6.93 ^a	221.71±18.56
CV12	17.86±1.91 ^b	142.27±7.52 ^b	237.24±21.77
ST36	18.05±1.82 ^b	155.35±6.24 ^b	215.47±17.39

SOD, superoxide dismutase; CAT, catalase; GSH-Px, glutathione peroxidase; Control, normal condition; CV12, pharmacopuncture at CV12; ST36, pharmacopuncture at ST36. ^{ab}, means in the same column with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

Table 4. Effects of *Hominis placenta* pharmacopuncture on the counts of WBC, and its composition in rats.

Group	WBC(10^3 /ml)	Neutrophils(%)	Lymphocytes(%)	Monocytes(%)	Basophils(%)	Eosinophils(%)
Control	7.15±1.92	38.09±3.79	54.52±4.29	2.14±0.29 ^a	1.73±0.38 ^{ab}	3.52±0.54
CV12	7.02±1.54	38.20±3.59	54.64±4.55	2.67±0.41 ^{ab}	1.02±0.31 ^a	3.47±0.72
ST36	6.71±1.77	36.01±4.03	55.85±4.29	2.95±0.37 ^b	1.78±0.47 ^b	3.41±0.47

WBC, white blood cell; Control, normal condition; CV12, pharmacopuncture at CV12; ST36, pharmacopuncture at ST36.

^{ab}, means in the same column with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

IV. 考察

최근 들어 스트레스로 인한 소화불량, 불면증 및 우울증 등의 환자들이 증가하고 있으며, 이러한 환자들을 보다 효과적으로 치료하기 위한 임상대응법이 절실히 필요하다. 따라서 본 연구에서는 스트레스성 질환의 예방 및 조기치료법을 개발하기 위한 기초연구의 일환으로 肺, 肝, 腎經에 들어가 補氣, 養血, 益精에 효과적이라고 알려진 紫河車를 선택하였고 이를 시술할 경혈로는 응용범위가 광범위하고 상용되는 中脘(CV12) 및 足三里(ST36)를 선택하였다. 그리하여 흰쥐의 中脘(CV12) 및 足三里(ST36)에 상응하는 부위에 약침을 처리한 후, 혈액성상과 항산화효소의 활성을 검토했다.

그 결과 RBC, hemoglobin 및 PCV (Table 2)의 수치는 紫河車 약침 처리군 모두가 대조군과 비교하여 증가하는 경향이 있었다. 특히 足三里(ST36) 약침처리군은 RBC 및 PCV가 대조군보다 유의하게 높았다. 혈액내 적혈구 총수와 hemoglobin량의 증가는 생체 내에서 조직으로의 산소운반과 기능성 물질의 이용효율을 향상시킬 수 있는 한 요인이 될 수 있다. 이러한 점을 고려해 보면 紫河車 약침으로 인한 RBC, hemoglobin 및 PCV의 증가는 스트레스로 인한 생체기능의 저하효과를 어느 정도 보완해 줄 것으로 사료된다. Plasma total protein 및 albumin 농도 (Table 3)는 전 처리군에서 유의한 차이를 나타내지는 않았으나, 紫河車 약침처리군들이 대조군보다 높은 경향을 보였으며, albumin/globulin 비도 紫河車 약침처리군

들이 대조군보다 높게 나타나서 紫河車 약침이 스트레스로 인한 면역체계 이상에 어떤 영향을 줄 가능성을 시사했다.

WBC, neutrophils, lymphocytes 및 eosinophils의 구성비율(Table 4)은 전 처리군 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. 이러한 결과는 紫河車 약침 처리가 백혈구 총수나 구성비에는 직접적으로 영향을 주지 않았음을 시사해 준다. Monocytes 및 basophils는 3% 이하의 낮은 수치에서 足三里(ST36) 약침 처리군에서 높은 경향을 보였으나, 그 수치가 미미하여 생체 내 다른 요인 들을 고려한 보다 더 구체적인 검토가 필요할 것으로 생각된다.

항산화효소 활성치는 glutathione peroxidase (GSH-Px) 활성치가 유의한 차이를 나타내지는 않았으나, SOD 및 CAT의 활성치는 紫河車 약침 처리군 모두가 대조군보다 유의하게 높았다 (Table 5). 이러한 결과는 紫河車 약침이 항산화능을 향상시켜 줄 가능성을 시사한다.

본 연구 결과를 종합해 볼 때 흰쥐에서 中脘(CV12) 및 足三里(ST36)에 상응하는 부위에 약침을 처리하는 경우 足三里(ST36)에 상응하는 부위에 약침을 처리하는 것이 혈액성상과 항산화효소의 활성 측면에서 紫河車 약침이 항산화증을 향상시킬 가능성이 보다 큰 것으로 생각되며 약침시술에서 혈위의 중요성을 보여주는 결과의 하나로 보인다. 이는 또한 足三里(ST36)의 다양한 주치 및 치료범위와도 관련이 있는 것으로 생각되며 임상에서도 이를 이용한 다양한 응용 가능성을 열어주었다고 할 수 있겠다.

V. 結論

스트레스성 질환의 예방 및 조기치료법을 개발하기 위한 기초연구의 일환으로 紫河車 약침을 흰쥐의 中脘(CV12) 및 足三里(ST36)에 상응하는 부위에 처리한 후, 혈액성상과 항산화효소의 활성을 검토했다.

그 결과, RBC 및 PCV는 足三里(ST36) 紫河車약침처리군이 가장 높은 값을 나타내었으며, hemoglobin농도는 처리군 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. Plasma total protein 및 plasma albumin 농도는 처리군들 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. A/G 비는 1.47에서 1.64를 나타내었으며, 足三里(ST36) 紫河車약침처리군이 가장 높은 수치를 나타내었다. WBC, neutrophils, lymphocytes 및 eosinophils의 구성비는 처리군 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. Monocytes 및 basophils의 구성비는 足三里(ST36) 紫河車 약침처리군에서 높은 경향을 나타내었다. SOD 및 CAT 활성치는 紫河車 약침 처리군 모두가 대조군보다 높았으며, 약침 처리군 간에는 유의한 차이를 나타내지 않았다. GSH-Px 활성치는 전 처리군 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다.

이상의 결과를 종합해보면 紫河車 약침은 생체조직의 활성화에 관여하여 생체 내 체기능의 향상에 긍정적으로 작용할 것으로 사료되며 足三里(ST36) 시술이 보다 효과가 좋을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 상지대학교 교내연구비에 의해 지원받았음.

參考文獻

1. Paape MJ, Gwazdauskas FC, Guidry AJ, Weinland BT. Concentration of corticosteroids, leukocytes, and immunoglobulins in blood and milk after administration of ACTH to lactating dairy cattle: effects on phagocytosis of Staphylococcus aureus by polymorphonuclear leukocytes. Am J Vet Res. 1981 ; 42(12) : 2081-7.
2. Selye H. Studies on adaptation. Endocrinology. 1937 ; 21 : 169-85.
3. Dougherty TE, White A. Influence of hormones on lymphoid tissue and function. The role of the pituitary adrenocorticohormone in the regulation of lymphocyte and other cellular elements of the blood. Endocrinology. 1994 ; 35 : 1-16.
4. 芹澤勝助. 鍼灸の科學. 醫齒藥出版社. 1960 : 99-103.
5. 木下晴都. 鍼灸學原論. 日本社. 1976 : 283.
6. 이준무. 육미지황탕과 팔미지황탕이 수송 스트레스를 준 가토의 혈액상에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1992 ; 13(2) : 117-23.
7. 고정수. 신수, 지실 팔미지황탕 수침처리가 수송스트레스를 준 토끼의 혈액상에

- 미치는 영향. 상지대학교 대학원석사논문 : 1995 : 1-33.
8. 장승환. 팔미지황탕이 기아가견의 체중, 체온, 혈청 중 전해질 및 cortisol 변동에 미치는 영향. 원광대학교 석사논문. 1986.
9. 김상우. 팔미원이 성기능과 항피로에 미치는 영향. 경희대학교 석사논문. 1982.
10. 전국한외과대학 본초학교수 공편. 본초학. 서울 : 영림사. 1991 : 567-8.
11. 장중범. 紫河車에 대한 고찰. 대한한외과학회지. 1965 ; 3(5) : 36-8.
12. 육태환, 이창현, 이학인. 홍화자, 녹용, 紫河車 약침이 골다공증에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2001 ; 18(1) : 61-75.
13. 염미정, 강지은, 박희준, 황은주, 심인섭, 이혜정. 흰쥐의 Adjuvant 관절염에 대한 紫河車 약침의 효과. 대한약침학회지. 2002 ; 19(1) : 91-103.
14. 장소영, 김현중, 이동열, 이은용. 紫河車 약침의 월경통에 대한 효과. 대한침구학회지. 2005 ; 22(6) : 85-92.
15. WHO standard acupuncture point locations in the western pacific region. World Health Organization. 2008.
16. Levander OA, DeLoach DP, Morris VC, Moser PB. Platelet glutathione peroxidase activity as an index of selenium status in rats. J Nutr. 1983 : 113(1) : 55-63.
17. Flohe L, Becker R, Brigelius R, Lengfelder E, Otting F. Convenient assay for superoxide dismutase. CRC Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine. 1992 : 287-93.
18. Johansson LH, Borg LA. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. Anal Biochem. 1988 ; 174(1) : 331-6.