

寄生 蠕虫類 Lactic Dehydrogenase 活性에 관한 研究*

서울대학교 醫科大學 寄生虫學敎室 및 風土病研究所

<指導 徐 丙 高 敎授>

李 純 炯

= Abstract =

Studies on Lactic Dehydrogenase Activity in Parasitic Helminths**

Soon Hyung Lee

Department of Parasitology and Institute of Endemic Diseases

College of Medicine, Seoul National University

(Director: prof. Byong Seol Seo)

A series of experiments was performed to determine the lactic dehydrogenase activity of various parasitic helminths. The enzyme activity was determined by the modified method of Wroblewski & LaDue (1955) using tissue homogenate of 16 kinds of worm parasites.

The worms were mostly collected alive from local abattoir and removed from the organ or tissues of the naturally infected animal host and some materials were also obtained from the human hosts. They were thoroughly washed and homogenized in chilled glass tissue grinder, and then centrifuged. The supernatants were designated as enzyme preparations, and their enzyme activity was measured by spectrophotometry at the wave length of 340 millimicron. In order to know the effects of temperature and substrate concentration on the enzyme activity, the extinction of reduced Coenzyme I (NADH) was measured at the various conditions of incubation temperature and substrate concentration.

The results of this experiments were as follows:

1. The lactic dehydrogenase activity occurred over all kinds of parasites used in this study.
2. Most worms of nematodes and trematodes displayed their maximum activity in the range of pH 2.7~3.5, and cestodes revealed their maximum activity in the ranges of both pH 2.7~3.5 and pH 7.4.
3. In nematodes and trematodes, the lactic dehydrogenase activity increased slowly as incubation temperature increases except in the case of *Eurytrema pancreaticum*, while the activity in cestodes decreased inversely.
4. The lactic dehydrogenase activity increased in proportion to the increase of substrate concentration in most of worm parasites.

* 本論文의 要旨는 1967年度 大韓寄生虫學會 春季學術大會에서 發表하였음

** This indistigation was partially supported by Grant from the China Medical Board in New York, Inc.

緒 論

生體組織內 炭水化物代謝에서 嫌氣의 解糖過程의 最終段階인 $\text{pyruvate} \rightleftharpoons \text{lactate}$ 反應을 觸媒하는 酵素인 lactic dehydrogenase (LDH)는 nicotinamide adenine dinucleotide (NAD; Coenzyme I)를 補酵素로 하며 또 生物學的 酸化過程에서 電子傳達系의 一環으로 重要な 作用을 한다.

이 LDH의 存在는 現在까지 無脊椎動物의 組織을 비롯하여 高等動物이나 사람의 血清內 및 組織에서 發見되었고, 動物의 種에 따라 特有한 isozyme들이 分離되어 動物의 分類 및 進化를 研究하는데 새로운 方向을 提示하게 되었다.

動物에 있어서는 Goldberg等(1963)이 snail에서, Niellands (1952), Futterman等 (1959), Wroblewski等 (1955), Markert等 (1962), Lindsay (1963) 등이 脊椎動物 各 組織에서 여러가지 LDH의 isozyme을 證明하였고 Weimer等 (1959), Riley等 (1960), Allen (1961), Notkins等 (1963), Nam等 (1967)은 病이나 其他 生理學的 條件이 變하였을때 動物體 各 組織에서의 LDH 活性의 變化를 觀察하였다.

人體組織에서는 Plagemann等 (1960), Lowenthal等 (1961)이 LDH의 여러가지 isozyme을 分離하고 그 活性을 動物組織과 比較하였으며, Vesell (1961)은 人體 各 組織의 LDH 分子構造의 相異함을 觀察하고 그 重要性에 對하여 論하였다. 또 Vestling等 (1956)은 LDH 活性을 抑制하는 因子에 對해서 研究한 바 있다.

臨牀적으로는 急性心筋硬塞症때 血清內에 增量되며 (Hsieh等, 1956; Siegel等, 1956; Wacker等, 1956), 以外 肝臟疾患 (Wroblewski等, 1956; Zimmermann等, 1956), 腎臟疾患 (West等, 1958) 및 癌과 白血病때 血清 LDH 活性이 上昇하며 Leptospirosis (Areen等, 1964) 때에도 增量되는 것으로 알려졌다.

寄生虫에 있어서 LDH의 活性은 原虫類中 몇種의 Plasmodium (Speck等, 1945, 1946; McKee等 1946; Marshall, 1948; Sherman, 1961, 1962), Trypanosome (Ryley, 1951; D'Alesandro等, 1964; Lehmann, 1965)과 그리고 *Trichomonas vaginalis* (Baernstein, 1958) 및 *Toxoplasma gondii* (Capella等, 1964)에서 發見되었으며 蠕虫類中에서는 *Schistosoma* (Bueding, 1949; Mansour等, 1953, 1954; Henion等, 1955; Conde-del Pino等, 1966)와 몇 種類의 條虫類 (Read, 1951; Von Brand等, 1961; Waitz, 1963; Esch, 1964) 및 鈎頭虫 (Dunagan等, 1966)에서 活性 또는 그 代謝產物을 證明한 바 있고 Smith等 (1963)은 *Ascaris* 卵子에서 活性을 追究하였다.

Collier (1940)는 驅虫劑 phenothiazine이 線虫類의 LDH를 비롯한 酵素系에 抑制的으로 作用한다는 것을 發見하였다. 그러나 아직까지 寄生蠕虫類中 大部分의 虫體에서 LDH 活性이 알려지지 않았고 더욱이 最適 pH나 最適溫度 또는 基質濃度에 따르는 變化를 究明한 業績은 많지 않다.

Kaplan等 (1960, 1961)은 動物의 種이나 組織에 따라 LDH 分子의 構造가 相異함을 發見하고 動物을 分類할때 從來의 形態學的 또는 生理學的인 方式外에 그 動物의 酵素의 特性을 參酌하여야 된다고 主張하고 新 種樹立時 酵素構造의 重要性을 強調하였다.

이러한 見地에서, 이 實驗에서는 寄生蠕虫類 LDH 活性의 存在 및 pH와 溫度, 그리고 基質濃度의 變化에 따르는 相異點을 究明하기 위하여 16種의 虫體 homogenate를 만들었으며 그 cell-free extract에서 活性을 測定하였다.

實驗材料 및 方法

虫體蒐集: 이 實驗에 使用된 蠕虫類는 16種으로 線虫類로는 *Ascaris lumbricoides*, *Ascaridia galli* 및 *Dirofilaria immitis*의 3種, 吸虫類로는 *Fasciola hepatica*, *Eurytrema pancreaticum*, *Paramphistomum* sp., *Clonorchis sinensis* 및 *Paragonimus westermani*의 5種, 그리고 *Taenia saginata*, *Taenia solium*, *Taenia pisiformis*, *Dipylidium caninum*, *Diphyllobothrium mansonii*等 5種의 條虫類와 *Sparganum*, *Cysticercus cellulosae*, *Cysticercus fasciolaris*等 3種의 條虫類 幼虫의 虫體로서 Lee (1967), Park (1967)의 實驗에서와 같은 方法으로 蒐集하였다.

即 *F. hepatica*, *E. pancreaticum* 및 *Paramphistomum* sp.는 屠殺場에서 소의 肝, 脾, 胃로부터 採取하였고 *A. lumbricoides*는 돼지의 腸에서 얻었으며 *D. immitis*, *T. pisiformis*, *D. caninum* 및 *D. mansonii*는 自然感染된 개의 心臟과 腸에서 採取하였다. 또 *P. westermani* 및 *C. sinensis*는 미리 metacercaria로 人工感染시킨 개와 家兎의 肺 및 肝에서 各各 採取하였다. 그리고 *A. galli*는 닭의 腸에서, *C. fasciolaris*는 쥐의 肝에서 自然感染된 虫體를 얻었으며 그밖에 *Sparganum*, *C. cellulosae*는 人體에서 手術的으로 摘出した 虫體를 使用하였고 *T. saginata*는 自然排出된 受胎片節을, *T. solium*은 驅虫劑를 써서 排出된 虫體를 實驗에 使用하였다.

이렇게 蒐集한 虫體는 그 全體를 homogenate 만드는데 使用하였는데 그 中 條虫類에서 *T. solium* 및 *T. pisiformis*만은 大略 未成熟, 成熟, 受胎片節로 區分하여 實驗하였으며 *T. saginata*는 受胎片節만 使用하였다.

虫體組織抽出液: 蒐集한 各虫體를 即時 冷 saline 으로 充分히 洗滌한 다음 torsion balance 로 秤量하여 ml 당 虫體組織 約 1 g 程度가 含有되도록 buffer solution 을 加하여 homogenate 를 만들었다. 即 秤量한 虫體組織을 어름이 든 beaker 內에 裝置한 glass homogenizer 에 넣고 充分히 磨碎한 다음 5,000×g 에서 30 分間 遠心沈澱하여 沈渣를 除去시킨 上清 即 cell-free extract 를 酵素活性測定에 使用하였다. 以上の 모든 操作은 되도록 낮은 溫度에서 施行하였다.

酵素活性測定: 各虫體 抽出液으로 부터 Wroblewski & LaDue (1955) 및 Kornberg (1955) 의 方法을 若干 變形시켜서 LDH 活性을 測定하였다. 即 0.1 ml 의 虫體抽出液을 2.7 ml 의 0.1 M Tris (hydroxymethyl) aminomethane buffer (Tris buffer) 或은 0.1 M citrate buffer (Lillie, 1948) 및 0.1 ml NADH 溶液 (2.5 mg/ml) 과 1 cm 直徑의 cuvette 에서 混合하고 20 分間 室溫 (20°C) 에 放置하였다가 0.1 ml 의 sodium pyruvate 溶液 (2.5 mg/ml) 을 加하고 Spectronic "20" Spectrophotometer 로 340 mμ 에서 optical density (O.D.) 의 變化를 每 30 秒마다 3 分間 읽고 이것을 平均하여 1 分間의 O.D. 로 定하였다. 이때 blank tube 로는 sample tube 에서 NADH 를 同量의 buffer 溶液으로 代置한 것을 使用하였고 單位實驗當 6 個의 sample tube 를 만들어 그 O.D. 의 平均을 測定値로 하였다.

酵素活性의 pH 에 따르는 變化를 보기 위해서는 citrate buffer 의 pH 를 1.4, 2.7, 3.5, 4.2, 5.2 로 Tris buffer 는 7.4, 8.2, 9.3, 10.2, 11.6 으로 만들어 20°C 에서 2.5 mg/ml 의 基質을 加하여 實驗하였고, 溫度에 따르는 變化는 buffer 의 pH 7.4, 基質濃度는 2.5 mg/ml 로 固定한 뒤, 基質을 加하기 前에 測定物을 20°, 30°, 40°, 50°C 의 Dubnoff metabolic incubator 에서 30 分間 incubation 한 後 測定하였다. 또 基質濃度の 變化에 따르는 LDH 活性의 變化를 觀察하기 위해서 sodium pyruvate 를 0.25 mg/ml, 2.5 mg/ml, 25 mg/ml 溶液으로 만들어 buffer 의 pH 7.4, 反應溫度 20°C 로 固定한 뒤 實驗하였다.

이 實驗에서 LDH 活性은 虫體組織 1 g/ml 의 抽出液에서 mg nitrogen 에 對한 1 分間의 O.D. 變化로서 表示하였으며, 虫體抽出液의 nitrogen 量은 micro-Kjeldahl 法 (Frankel 等, 1963) 으로 測定하였다.

實驗成績

(I) LDH 活性의 pH 에 따르는 變化

各虫體 extract 에서 나타난 LDH 活性과 pH 와의 關係를 보면 <第 1, 2 表> 와 같다.

1. 線虫類: 線虫類에서는 <第 1 圖> 에 나타난 바와 같이 3 種의 虫體가 모두 pH 3.5 에서 最高의 活性을 보였다. 이中 *A. lumbricoides* 가 가장 活性이 높았으며 다음이 *D. immitis*, 그리고 *A. galli* 에서 가장 낮았다. 또 *A. lumbricoides* 에서는 pH 7.4 에서 뚜렷한 peak 를 보였으나 *A. galli* 와 *D. immitis* 두 虫體는 alkline pH 에서는 酸性側에서 보다 活性이 弱하였다. 酵素의 活性이 顯著하게 높아 最適 pH 라 생각되는 곳을 列擧하면 <第 2 表> 와 같다. 即 *A. lumbricoides* 에서는 2 개, *A. galli* 에서는 1 개, *D. immitis* 에서도 1 개의 peak 가 나타났다.

2. 吸虫類: 大部分의 虫體가 線虫類에서와 恰似하게 LDH 活性이 增加하였다 (<第 2 圖>). 이들中 *E. pancreaticum* 과 *Paramphistomum* sp. 는 pH 2.7 에서, *F. hepatica* 와 *C. sinensis* 는 pH 3.5 에서, 그리고 *P. westermani* 는 pH 4.2 에서 最高值에 達하였으며 活性은 *E. pancreaticum* 에서 O.D. 變化가 mgN 에 對하여 2.65 로 第一 높았다. alkaline 側 pH 에서는 *E. pancreaticum* 이 pH 7.4 에서 *P. westermani* 가 9.3 에서 peak 를 보였으나 酸性側의 peak 보다는 낮은 값이 었다.

3. 條虫類: 條虫類에서의 pH 에 따르는 LDH 活性의 變化는 <第 3, 4, 5, 6 圖> 에 나타난 바와 같다.

即 最高의 活性은 主로 두 곳 (*D. caninum* 과 *T. solium* 에서는 pH 3.5 에서, *T. pisiformis*, *T. saginata* 및 *D. mansoni* 는 pH 7.4) 에서 觀察되었다 (<第 3 圖>). 그리고 全虫體가 2 개 以上の 뚜렷한 peak 를 나타내었다 (<第 2 表>). 各 虫體의 最適 pH 에서의 LDH 活性을 比較하여 보면 條虫類 幼虫인 Sparganum 에서 가장 높았으나 *C. cellulosae* 나 *C. fasciolaris* 는 pH 7.4 에서

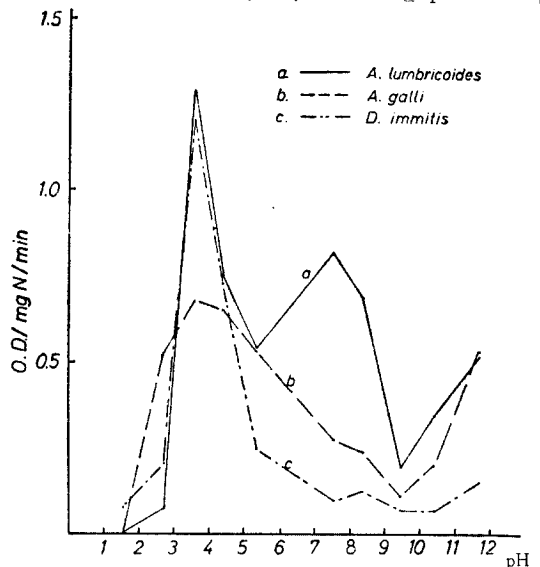


Fig. 1. LDH activity in 3 kinds of Nematodes

Table 1. Lactic Dehydrogenase Activity in Various Helminths.

(Changes of optical density per milligram nitrogen of worm tissue per minute)

species \ pH	1.4	2.7	3.5	4.2	5.2	7.4	8.2	9.3	10.2	11.6
<i>A. lumbricoides</i>	0	0.06	1.34	0.72	0.56	0.82	0.70	0.23	0.36	0.52
<i>A. galli</i>	0	0.54	0.70	0.68	0.55	0.28	0.25	0.12	0.23	0.53
<i>D. immitis</i>	0.05	0.16	1.29	0.67	0.26	0.11	0.15	0.09	0.09	0.14
<i>F. hepatica</i>	0	0.46	0.99	0.59	0.17	0.16	0.22	0.17	0.15	0.23
<i>E. pancreaticum</i>	0	2.65	0.50	0.48	0.14	2.40	1.83	0.63	0.12	0.35
<i>Paramphistomum</i> sp.	0.07	0.98	0.63	0.21	0.32	0.23	0.23	0.22	0.16	0.31
<i>P. westermani</i>	0	0.10	0.44	0.78	0.15	0.36	0.53	0.56	0.40	0.34
<i>C. sinensis</i>	0.10	0.41	2.00	1.03	0.69	0.19	0.33	0.22	0.50	0.33
<i>C. cellulosae</i>	—	—	—	—	—	0.09	—	—	—	—
<i>C. fasciolaris</i>	—	—	—	—	—	0.19	—	—	—	—
<i>Sparganum</i>	—	2.83	1.72	1.17	2.17	2.69	0.12	1.76	0.46	0.24
<i>T. saginata</i> (G)	0	0	0.48	0.20	0.18	0.91	0.16	0.01	0.13	0.13
<i>T. solium</i> (I)	0	0	0.45	0.33	0.20	0.29	0.09	0.05	0.06	0.16
" (M)	0	0	0.71	0.41	0.37	0.44	0.14	0.07	0.17	0.22
" (G)	0	0	0.91	0.42	0.40	0.69	0.27	0.10	0.08	0.22
<i>T. pisiformis</i> (I)	0	0.37	0.30	0.19	0.23	0.49	0.34	0.15	0.12	0.23
" (M)	0	0.39	0.32	0.25	0.64	0.98	0.59	0.26	0.17	0.72
" (G)	0	0.56	0.42	0.47	1.02	1.29	1.04	0.33	0.25	0.92
<i>D. caninum</i>	0	1.69	0.98	0.65	0.91	0.68	0.43	0.34	0.22	0.40
<i>D. mansoni</i>	0	0.64	0.54	0.36	0.50	0.96	0.61	0.36	0.26	0.44

Substrate concentration: 2.5 mg/ml

Incubation temperature: 20 °C

(I) : Immature proglottids,

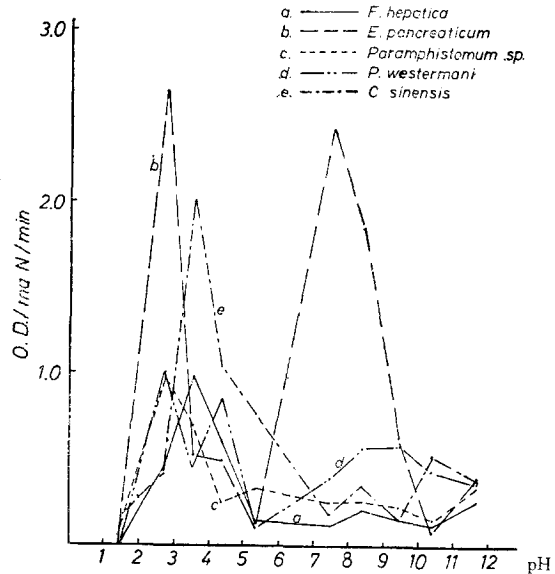
(M) : Mature proglottids

(G) : Gravid proglottids

Table 2. Optimal pH of LDH Activity

species \ peak	1	2	3
<i>A. lumbricoides</i>	3.5	7.4	—
<i>A. galli</i>	3.5	—	—
<i>D. immitis</i>	3.5	—	—
<i>F. hepatica</i>	3.5	—	—
<i>E. pancreaticum</i>	2.7	7.4	—
<i>Paramphistomum</i>	2.7	—	—
<i>P. westermani</i>	4.2	9.3	—
<i>C. sinensis</i>	3.5	—	—
<i>T. saginata</i>	3.5	7.4	—
<i>T. solium</i>	3.5	7.4	—
<i>T. pisiformis</i>	2.7	7.4	11.6
<i>D. caninum</i>	3.5	5.2	—
<i>D. mansoni</i>	2.7	7.4	—
<i>Sparganum</i>	2.7	7.4	9.3

Conc.: 2.5 mg/ml, Incubation temperature: 20 °C

**Fig. 2.** LDH activity in 5 kinds of Trematodes.

成虫보다 낮은 값을 보였다 <第 1表>. *Taenia* sp. 3 種의 受胎片節中에서는 *T. pisiformis*가 가장 活性이 높았다 <第 3圖>. *T. solium*과 *T. pisiformis*에서와 같이 虫體를 未成熟, 成熟, 受胎片節로 區分하여 實驗한 虫體에서는 그 部分에 따라 若干의 差異를 보였다. 두 種類의 虫體에서 同一하게 受胎片節의 LDH 活性이 가장 높았으며 다음에 成熟, 未成熟片節의 順으로 높았는데 같은 部位에서는 *T. solium* 보다는 *T. pisiformis*의 活性이 더 强하였다. 또 세 部位에서의 活性이 모두 一致하여 2 peak를 이루었는데 *T. solium*은 酸性에서, *T. pisiformis*는 alkali 쪽에서의 peak가 더 높은 活性을 나타내었다 <第 4, 5圖>.

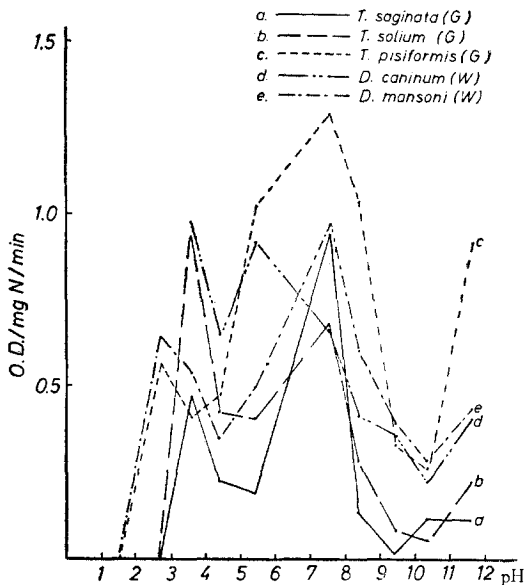


Fig. 3. LDH activity in 5 kinds of cestodes

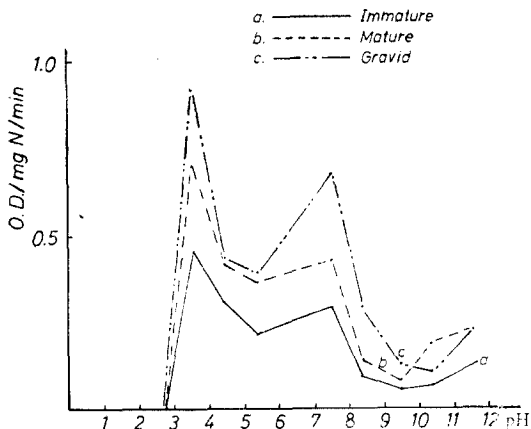


Fig. 4. LDH activity in *Taenia solium*

그리고 成虫과 幼虫時期에 對한 比較로 *Sparganum*과 *D. mansoni*를 보면 *Sparganum*에서 그 活性이 현저하게 높으며 <第 6圖> *Sparganum*은 뚜렷한 3 peak를 이루고 *D. mansoni*는 2개의 peak를 이루는 差異는 있으나 그 最適 pH는 2.7과 7.4에서 一致하고 있다 <第 2表>.

以上과 같이 pH의 變化에 따라 LDH 活性이 여러개의 peak를 이루는 것은 각 虫體 特有한 isozyme에 의한 것이 아닌가 생각된다.

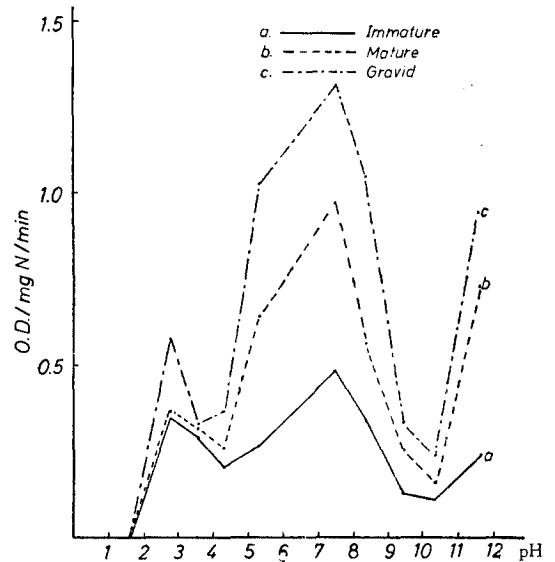


Fig. 5. LDH activity in *Taenia pisiformis*

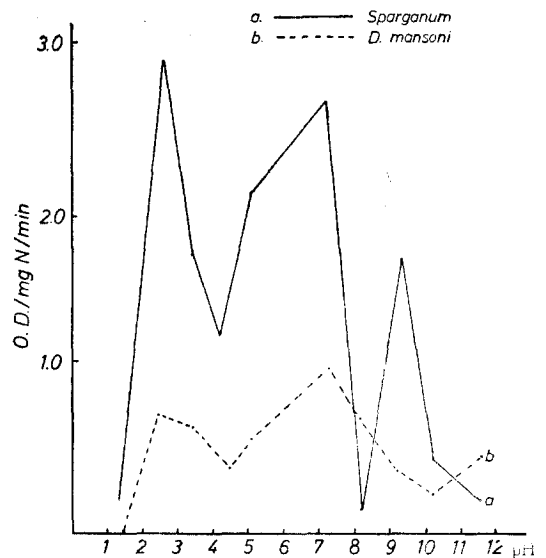


Fig. 6. LDH activity in *Sparganum* and *Diphylobothrium mansoni*

〔II〕 LDH 活性和 溫度와의 關係

溫度的 變化에 對한 各 虫體 LDH 活性的 反應은 <第 3表>에 나타난 바와 같다.

Table 3. Effects of the Incubation Temperature on the Activity of LDH.

(Changes of O.D./mgN/min)

species	temperature	20°C	30°C	40°C	50°C
<i>A. lumbricoides</i>		0.82	0.92	1.04	1.02
<i>A. galli</i>		0.28	0.35	0.26	0.27
<i>D. immitis</i>		0.11	0.17	0.15	0.21
<i>F. hepatica</i>		0.16	0.20	0.26	0.39
<i>E. pancreaticum</i>		2.40	2.14	1.88	0.42
<i>Paramphistomum</i>		0.23	0.25	0.14	0.33
<i>P. westermani</i>		0.36	0.84	0.84	1.01
<i>C. sinensis</i>		0.19	0.27	0.33	0.44
<i>C. cellulosae</i>		0.09	—	—	—
<i>C. fasciolaris</i>		0.19	—	—	—
<i>Sparganum</i>		2.69	2.40	1.80	1.68
<i>T. saginata</i> (G)		0.91	0.33	0.29	0.16
<i>T. solium</i> (G)		0.69	0.25	0.15	0.15
<i>T. pisiformis</i> (G)		1.21	0.31	0.09	0.05
<i>D. caninum</i>		0.68	0.22	0.32	0.43
<i>D. mansoni</i>		0.96	0.81	0.62	0.21

Incubation period: 30 min

pH: 7.4
Conc: 2.5 mg/ml

1. 線虫類; 一般的으로 溫度的 上昇에 따라 酵素의 活性이 增加함에도 不拘하고 線虫類 LDH에서는 急激

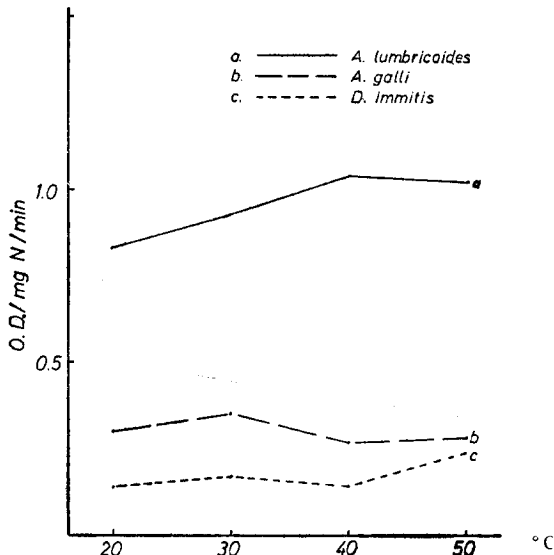


Fig. 7. Relation between LDH activity and incubation temperature in Nematodes

한 活性的 增加는 없었다. 即 *A. lumbricoides* 는 20°C 에서 40°C 사이에 溫度上昇에 比例하여 活性이 增加하였으나 50°C에서는 40°C에서 보다 減少하였으며 *A. galli* 는 30°C에서 가장 活性이 높았고 *D. immitis* 는 50°C 까지 繼續 增加하였다<第 7圖>.

2. 吸虫類; 3가지 虫體 即 *F. hepatica*, *Paramphistomum* sp., *C. sinensis*에서는 溫度上昇에 따라 徐徐히 그 活性이 增加하였으나, *P. westermani*에서는 더 急히 增加하였고 *E. pancreaticum*에서는 아주 急激히 減少되었다<第 8圖>.

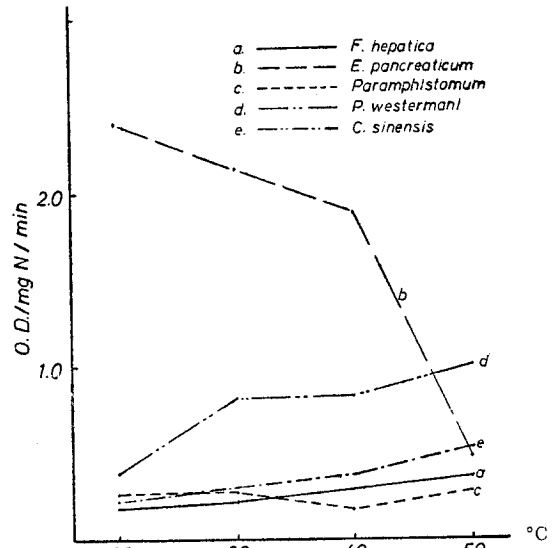


Fig. 8. Relation between LDH activity and incubation temperature in Trematodes

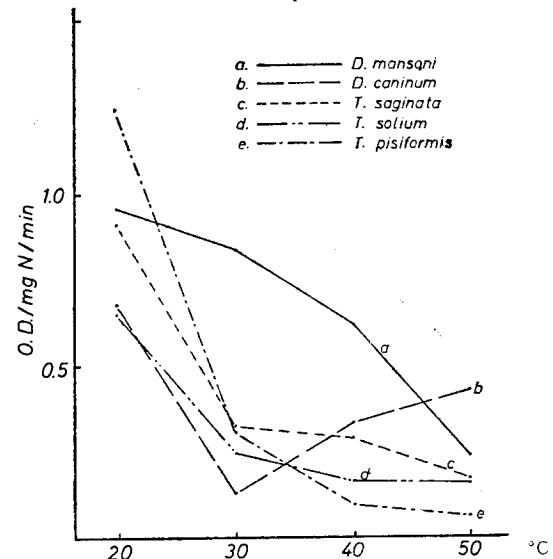


Fig. 9. Relation between LDH activity and incubation temperature in Cestodes.

3. 條虫類; <第 9圖>에 나타난 바와 같이 各虫體의 LDH 活性은 溫度가 上昇함에 따라 一齊히 激減하였다. 다섯 虫體中에 *D. caninum* 만이 30°C에서 가장 낮은 값을 나타내었다가 다시 50°C까지 增加하는 樣相을 보였다.

위의 結果로서 溫度에 따르는 LDH 活性을 一律적으로 概括하기는 困難하나 이러한 差異는 各虫體 特有的 酵素의 最適溫度 및 非働化되는 溫度의 相違에서 起因하지 않나 생각된다. 各虫體 LDH 活性 測定時 control tube로서 虫體의 抽出液을 100°C에 處理한 것을 使用하였을때 LDH 活性은 觀察되지 않았다.

Table 4. Substrate Concentration and Lactic Dehydrogenase Activity

species	conc.	(changes of O.D./mgN/min)		
		0.25mg/ml	2.5 mg/ml	25 mg/ml
<i>A. lumbricoides</i>		0.88	0.82	0.58
<i>A. galli</i>		0.17	0.28	0.34
<i>D. immitis</i>		0.01	0.11	0.12
<i>F. hepatica</i>		0.14	0.16	1.00
<i>E. pancreaticum</i>		0.99	2.40	4.72
<i>Paramphistomum</i>		0.06	0.23	0.46
<i>P. westermani</i>		0.21	0.36	0.75
<i>C. sinensis</i>		0.14	0.19	0.43
<i>C. cellulosae</i>		—	0.09	—
<i>C. fasciolaris</i>		—	0.19	—
<i>Sparganum</i>		1.53	2.69	3.93
<i>T. saginata</i> (G)		0.54	0.91	1.51
<i>T. solium</i> (G)		0.36	0.69	1.36
<i>T. pisiformis</i> (G)		0.35	1.29	1.32
<i>D. caninum</i>		0.13	0.68	0.78
<i>D. mansoni</i>		0.15	0.96	1.11

Incubation temp. ; 20°C, pH ; 7.4

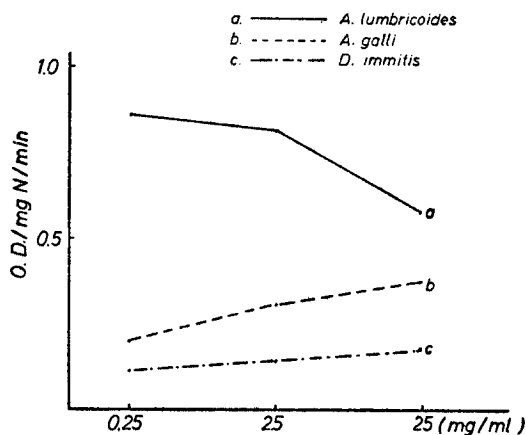


Fig. 10. Effects of the substrate concentration on the LDH activity in Nematodes

[III] LDH 活性과 基質濃度와의 關係

大部分의 虫體에서 基質濃度の 上昇에 따라 LDH 活性이 增加되었다<第 4表>.

1. 線虫類; 線虫類 3種中 LDH 活性이 *A. lumbricoides*에서만 濃도가 上昇함에도 不拘하고 低下하였고, *A. galli* 및 *D. immitis*에서는 천천히 增加하였다<第10圖>.

2. 吸虫類; 基質濃도가 처음 濃度の 10배, 100배로

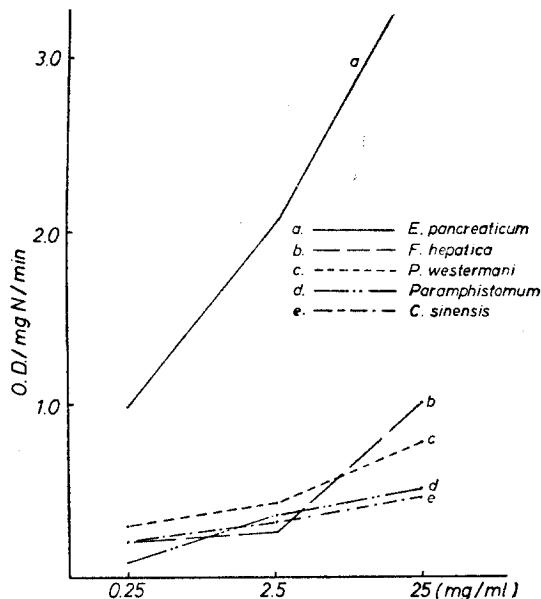


Fig. 11. Effects of the substrate concentration on the LDH activity in Trematodes

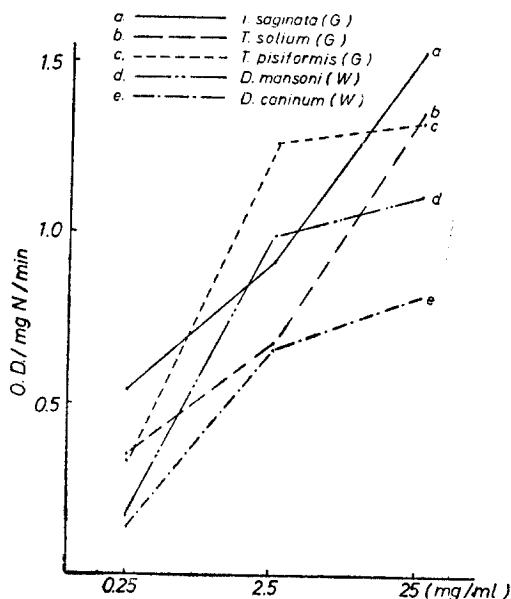


Fig. 12. Effects of the substrate concentration on the LDH activity in Cestodes

增加함에 따라 LDH 活性도 차츰上昇하나 가장急激히上昇한 *E. pancreaticum*에 있어서도 基質濃度 100 倍 增加에 LDH 活性은 約 5 倍 增加에 不遇하였다 (第 11 圖).

3. 條虫類: 條虫類中 *T. saginata*, *T. solium*은 濃度 上昇에 比例하여 繼續 增加하고 있으나 *T. pisiformis*, *D. caninum* 및 *D. mansoni*에서는 2.5 mg/ml 까지 急히 上昇하다가 25 mg/ml 에 이르기 까지 徐徐히 增加하였다 (第 12 圖).

Lee (1967)의 實驗에서 MDH 活性은 基質濃度の 增加가 오히려 酵素作用을 抑制한다는 印象을 받았다 하였는데 이 實驗에서는 看過되지 않았다.

考 察

寄生虫은 各己 그 固有宿主의 特定臟器에서 寄生棲息하므로 그 生活環境에 따라 特殊한 代謝를 營爲한다. 따라서 그 代謝에 關係하는 酵素系의 特殊性和 宿主動物의 그것과의 比較는 寄生現象을 解明하는데 重要な 意義를 갖는다. 이런 觀點에서 酵素系의 特異性을 究明하는 것은 比較生化學, 比較生物學 및 合理的 化學療法의 重要な 基礎의 課題가 되어 왔다.

Oda (1963)는 大部分의 寄生虫이 嫌氣의 生活環境속에서 宿主가 吸收하는 榮養素로 嫌氣의 解糖過程을 밟아 energy를 獲得하고 lactic acid, acetic acid를 終產物로 產出한다 하였다. 그러나 이 嫌氣의 解糖過程의 最終段階를 媒介하는 LDH에 關한 研究는 몇몇 虫體에 局限되었을뿐 大部分의 虫體에서는 알려지지 않았다. Speck 等 (1945), Marshall (1948) 等은 *Plasmodium gallinaceum*에서 이 解糖過程의 代謝產物 및 이를 觸媒하는 酵素群을 發見하였고 McKee 等 (1949)은 *Plasmodium knowlesi*에서 LDH 및 lactic acid의 存在를 證明하였으며 Sherman (1961, 1962)은 *Plasmodium lophurae*에서 LDH를 發見하고 宿主細胞의 그것과 質의으로 다르다고 하였다. 또 Kupferberg 等 (1953)은 *T. vaginalis* 培養時에 lactic acid가 蓄積함을 보았으며 Wirtschafter 等 (1956) 및 Baernstein (1958)은 *T. vaginalis*에서 LDH 活性을 觀察하고 그 最適 pH가 7.6 이라 하였다. Capella 等 (1964)은 *T. gondii*에서 組織化學의으로 LDH를 비롯하여 解糖에 關係되는 酵素의 存在를 認定하였다. Trypanosome에서는 Ryley (1951), D'Alesandro 等 (1964), Lehmann (1965) 等이 LDH를 證明하였으며 生殖을 抑制하는 抗體인 Ablastin이 그 活性을 間接的으로 抑制함을 알아 내었다.

寄生蠕虫類에서는 *Schistosoma mansoni* (Bueding, 1949), *Hymenolepis diminuta* (Read, 1949)에서 lactic acid가 代謝終產物로 存在한다는 것이 알려졌고 Man-

sour 等 (1953, 1954)은 *S. mansoni*에서 LDH 活性을 實驗動物의 그것과 比較觀察한 바 있다. 또 Henion 等 (1955)은 *S. mansoni*의 LDH에 對한 抗血清이 虫體 LDH의 活性을 抑制한다고 보고하였다. Conde-del Pino 等 (1966)은 *S. mansoni*의 雌虫 및 雄虫에서 各各 1개의 LDH isozyme을 볼 수 있었으며 그 活性이 雄虫에서 더 높았고 그 cercaria에서는 볼 수 없었다고 하였다. Read (1951)는 *Hymenolepis diminuta*의 虫體組織이 脊椎動物의 Embden-Meyerhof cycle에서 產出되는 것과 同一한 代謝產物을 含有하고 있음을 알았으며 이 E-M cycle에 關與하는 13個의 酵素中 6個를 찾아 내었다. 또 *Taenia taeniformis*에서는 Waitz (1963)가 解糖에 關係되는 酵素들을 檢出하고 Von Brand 等 (1961)은 그 成虫 및 幼虫에서 lactic acid, pyruvic acid가 代謝產物로 產出되는 것을 觀察하였고 成虫과 幼虫間의 代謝의 差異는 質의인 것보다는 차라리 量的인 것이라 主張하였다. Esch (1964)도 *Multiceps serialis*의 成虫과 幼虫 및 虫囊液中에서 LDH를 證明하고 成虫이 幼虫에서 보다 높은 活性을 나타낸다고 밝혔다. Dunagan 等 (1966)은 *Macracanthorhynchus hirudinaceus*에서 LDH의 活性을 electrophoresis를 利用하여 證明하고 動物宿主의 그것과 比較한 바 있다.

本實驗의 結果에서 보던 線虫類 3種은 모두 pH 3.5에서 그 活性이 peak에 達하였는데 Vesell 等 (1961)이 人體組織에서 얻은 最適 pH와는 一致되지 않았다. 이는 이들 寄生虫의 LDH가 人體의 그것과는 다른 isozyme임을 暗示하는 것이라 생각된다. *Ascaris*의 또 하나의 peak가 pH 7.4에서 나타났는데 이것은 人體에 있어서 Kidney LDH의 最適 pH인 pH 7.8에 近似한 값을 보였다. *Ascaris*에서 그 活性을 unit로 換算하여 比較하면 Plagemann 等 (1960)이 測定한 家兔의 RBC의 LDH 活性에 該當하는 값이었다. *Ascaris*는 酵素分壓이 낮은 腸管内에서 寄生하며 獨自의인 嫌氣의 反應에 依하여 解糖過程을 밟으므로 (Von Brand, 1952; Bueding 等, 1952, 1953; Fairbairn, 1957; Entner 等, 1959) LDH 活性이 높을 것으로 생각된다. 그러나 *A. galli*에 있어서는 嫌氣의인 炭水化物 消耗가 더 많음에도 (Von Brand, 1952) 이 實驗에서는 낮은 LDH 活性을 보였다. *Dirofilaria*에 關해서는 알려진 바가 많지 않으나 *Ascaris*에서와 같이 cyanine 等으로 好氣의 代謝를 遮斷했을 때에도 虫體가 오랜동안 生存하는 것으로 미루어 炭水化物代謝에서 비슷한 轉歸를 取하리라 생각되며 실제로 *A. lumbricoides*와 그 最適 pH에서 近似한 活性을 呈示하였다.

吸虫類에서도 다른 寄生蠕虫에서와 같이 Embden-Meyerhof의 解糖을 하며 lactic acid를 生産하나(Smy-

th, 1962), *F. hepatica*에서는 lactic acid가 발견되지 않는다 하였는데 Bryant 등(1962)은亦是 Embden-Meyerhof의 解糖系가 存在함을 알아 내었다. 그러나 嫌氣의 解糖은 다른 虫體에서 보다 낮음이 알려졌고, 이 實驗에서의 LDH 活性도 吸虫類中 比較的 낮았다. 이에 比하여 *E. pancreaticum*은 아주 높은 LDH 活性과 뚜렷한 2 peak를 나타내었는데 이는 isozyme의 存在가 可能함을 말해 주는 것이라 생각되나 이 虫體에 對해서는 아직 알려진 것이 많지 않다. *Paramphistomum sp.*는 *E. pancreaticum*과 같이 pH 2.7에서 最高의 活性을 나타내었으나 活性은 낮았으며 하나의 peak만을 나타내었다. *Paragonimus*는 吸虫中 가장 낮은 活性을 보였으나 pH 4.2와 pH 9.3 두곳에서 peak를 이루었다. 이 虫體에서는 明確한 mitochondria와 TCA cycle의 存在 및 好氣의 代謝가 알려져 있다. *C. sinensis*는 *E. pancreaticum*보다 活性은 낮았으나 最適 pH는 *F. hepatica*와 一致하였다.

條虫類에서는 一般적으로 glycogen이 많이 蓄積되어 있고 특히 *Sparganum*에서는 50%까지 含有될 수 있다고 하였다. 그 中에서도 幼虫時期를 冷血動物宿主에서 지내는 虫體에서 많은 glycogen의 蓄積이 있다고 알려졌다. 그리고 大部分의 條虫類에서는 lactic acid가 代謝의 終產物로 發見되며 (Laurie, 1957; Agosin 등, 1957) TCA cycle의 存在가 分明히 알려진 바가 없고 Agosin 등(1960)에 依하면 pentose-phosphate shunt의 酵素가 生理의 重要性을 갖는다고 하였다. 이런 面에서 미루어 볼때 條虫類 虫體內에서 LDH 活性이 높을 것이 豫想되었고 이 實驗에서도 각 虫體에서 比較的 높은 活性을 보였으며 2개 이상의 最適 pH의 peak가 分明하게 나타났다. 여기서 大部分의 虫體가 宿主 LDH의 最適 pH (Vesell 등, 1961)에 가까운 pH 7.4에서 peak를 이루는 것으로 미루어 線虫이나 吸虫類보다 條虫類는 宿主에 잘 適應하였다고 생각된다.

一般적으로 酵素의 反應은 一定範圍內에서는 溫度上昇에 比例하는데 普通 10°C 上昇에 따라 大部分의 生物學的 反應에서 2배의 速度를 나타내며 ($Q_{10}=2$), 動物酵素는 그 體溫가이에서 最適溫度에 達한다. 이 實驗에서 線虫類中 *A. lumbricoides*는 40°C에서 活性이 最高에 達하였으나 *A. galli*에서는 30°C였고 *D. immitis*는 50°C에서 最高値를 나타내어 위의 原理와는 完全히 符合되지 않으나 각 虫體 LDH의 特性에 依한 結果라 생각된다. 吸虫類에 있어서도 각 虫體에 따라 亦是 相異한 結果를 나타내었는데 그中에서 生活環境이 비슷한 *F. hepatica* 및 *C. sinensis*가 相似한 樣狀을 보였다. 條虫類에서는 溫度上昇에 따라 그 活性이 一齊히 低下하였는데 이것은 條虫類 LDH의 最適溫度가

20°C 또는 그 以下이거나 酵素自體가 溫度上昇에 依해서 쉽게 非動化되기 때문이라 생각된다. 그러므로 이 結果대로 미루어 보면 條虫類의 LDH 活性은 溫血動物 宿主內에서는 抑制되고 있는 것으로 解釋이 된다.

理論적으로는 基質濃度の 增加는 反應速度의 增加를 同伴한다. 그러나 어느 程度 높은 濃度の 基質은 오히려 抑制的인 作用을 나타내는 수도 있어 각 虫體 酵素의 特性에 따라 基質濃도에 對한 反應樣相이 다를 것이 豫想된다.

이 實驗에서 大部分의 線虫類와 吸虫類에서는 濃度 增加에 따라 LDH 活性이 徐徐히 上昇하였고 條虫類에서는 急激히 上昇하였다. 여기서 *A. lumbricoides*는 오히려 低下하는 樣相을 나타내었는데 이것은 0.25 mg/ml의 基質이 最適濃度보다도 크기때문이 아닌가 생각되며, *D. immitis*는 이미 0.25 mg/ml의 濃度에서, 또 *T. pisiformis* 및 *D. mansoni*는 2.5 mg/ml에서 最適濃도에 達한 것으로 思料된다. 그밖의 虫體에서는 最適濃도가 더 클 것으로 解釋된다.

一般적으로 蠕虫類 虫體 LDH 活性은 pH, 溫度, 基質濃도에 따라 그 特性에 依하여 固有한 反應을 나타내지만 近緣關係에 依한 反應의 類似點도 觀察할 수 있었다.

結 論

生體內 嫌氣의 解糖過程에서 pyruvate \rightleftharpoons lactate 反應을 媒介하는 酵素인 lactic dehydrogenase (LDH)의 活性을 Wroblewski 및 LaDue (1955)의 變法으로 寄生蠕虫類 16種의 虫體抽出液에서 環元型 nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) 및 sodium pyruvate 存在下에서 測定하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 寄生蠕虫類 16種의 虫體에서 모두 LDH의 活性이 觀察되었다.
2. 線虫類 및 吸虫類는 그 大部分이 pH 2.7~3.5의 酸性側에서 最適 pH를 갖고 있으며 單一 peak를 이루었고 條虫類에서는 酸性側外 pH 7.4에 最適 pH를 各各 갖고 있었다.
3. 最適溫度는 虫體에 따라 一定치 않았으나 어느 程度의 類緣關係는 볼 수 있었다. 即 線虫, 吸虫類에서는 大體로 溫度上昇에 따라 活性이 增加하였고 條虫類에서는 低下하였다.
4. 基質濃度の 上昇에 따라 大部分의 線虫, 吸虫類에서는 徐徐히 活性이 增加하였으나 條虫類에서는 急激히 增加하였다.

<本研究에 있어서 始終 指導鞭撻하여 주시고 論文을 校閲하여 주신 恩師 徐丙高教授에 深甚한 感謝를 드립니다>

参 考 文 献

- Agosin, M. and Aravena, L. (1960). Studies on the metabolism of *Echinococcus granulosus*. IV. Enzymes of the pentose phosphate pathway. Exp. Parasit., **10** : 28-38.
- Agosin, M., von Brand, T., Rivera, G.F. and McMahon, P. (1957). Studies on the metabolism of *Echinococcus granulosus*. I. General chemical composition and respiratory reactions. Exp. Parasit. **6** : 37-51.
- Allen, J.M. (1961). Multiple forms of lactic dehydrogenase in tissues of the mouse; their specificity, cellular localization and response to altered physiological conditions. Ann. N.Y. Acad. Sci. **94** : 937-951.
- Arean, V.M. and Henry, J.B. (1964). Studies on the pathogenesis of Leptospirosis. Am. J. Trop. Med. Hyg. **13** : 430-442.
- Baernstein, H.D. (1958). Lactic dehydrogenase in *Trichomonas vaginalis*. J. Parasit. **45** : 491-498.
- Bryant, C. and Williams, J.P.G. (1962). Some aspects of the metabolism of the liver fluke, *Fasciola hepatica* L. Exp. Parasit. **12** : 372-376.
- Bueding, E. (1949). Metabolism of parasitic helminths. Physiol. Rev. **29** : 195-218 (Cited from von Brand, 1952).
- Bueding, E. and Charm, B. (1952). Cytochrome c, cytochrome oxidase and succinoxidase activities of helminths. J. Biol. Chem. **196** : 615-627.
- Bueding, E. and Most, H. (1953). Helminths, metabolism, nutrition and chemotherapy. Ann. Rev. Microbiol. **7** : 295-326.
- Capella, J.A. and Kaufman, H.E. (1964). Enzyme histochemistry of *Toxoplasma gondii*. Am. J. Trop. Med. Hyg. **13** : 664-666.
- Collier, H.B. (1940). Can. J. Research B **18** : 345-350 (Cited from von Brand, 1952).
- Conde-del Pino, E. Perez-Vilar, M., Cintron-Rivera, A.A. and Seneriz, R. (1966). Studies in *Schistosoma mansoni*. I. Malic and lactic dehydrogenase of adult worms and cercariae. Exp. Parasit. **18** : 320-326.
- D'Alesandro, P.A. and Sherman, I.W. (1964). Changes in lactic dehydrogenase levels of *Trypanosoma lewisi* associated with appearance of ablastic immunity. Exp. Parasit. **15** : 430-438.
- Dunagan, T.T. and de Luque, O. (1966). Isozyme patterns for lactic and malic dehydrogenases in *Macracanthorhynchus hirudinaceus* (Acanthocephala). J. Parasit. **52** : 727-729.
- Entner, N. and Gonzalez, C. (1959). Fate of glucose in *Ascaris lumbricoides*. Exp. Parasit. **8** : 471-479.
- Esch, G.W. (1964). Comparative carbohydrate metabolism of adult and larval *Multiceps serialis*. J. Parasit. **50** : 72-76.
- Fairbairn, D. (1957). The biochemistry of *Ascaris*. Exp. Parasit. **6** : 491-554.
- Frankel, S.F. and Reitman, S. (1963). Clinical laboratory methods and diagnosis. 6th ed. Mosby Co., St. Louis.
- Futterman, S. and Kinoshita, J.H. (1959). Metabolism of the retina. II. Heterogeneity and properties of the lactic dehydrogenase of cattle retina. J. Biol. Chem. **234** : 3174-3178.
- Goldberg, E. and Cather, J.N. (1963). Molecular heterogeneity of lactic dehydrogenase during development of the snail *Argobriccinum oregonense* Redfield. J. Cell. Com. Physiol. **61** : 31-35.
- Henion, W.F., Mansour, T.E. and Bueding, E. (1955). The immunological specificity of lactic dehydrogenase of *Schistosoma mansoni*. Exp. Parasit. **4** : 40-44.
- Hsieh, K.M. and Blumenthal, H.T. (1956). Serum lactic dehydrogenase levels in various disease states. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **91** : 626-630.
- Kaplan, N.O. and Ciotti, M.M. (1961). Evolution and differentiation of dehydrogenases. Ann. N.Y. Acad. Sci. **94** : 701-722.
- Kaplan, N.O., Ciotti, M.M., Hamolsky, M. and Bieber, R.E. (1960). Molecular heterogeneity and evolution of enzymes. Science **131** : 392-397.
- Kornberg, A. (1955). Lactic dehydrogenase of muscle. Methods in Enzymology I. Academic Press, New York.
- Kupferberg, A.B., Singher, H.O., Lampson, G., Levy, L. and Romano, A.H. (1953). Studies on the metabolism of *Trichomonas vaginalis*. Ann. N.Y. Acad. Sci. **56** : 1006-1015.

- Laurie, J.S. (1957). The in vitro fermentation of carbohydrates by two species of cestodes and one species of acanthocephala. *Exp. Parasit.* **6** : 245-260.
- Lee, E.H. (1967). Studies on malic dehydrogenase activity in parasitic helminths. In Press.
- Lehmann, D.L. (1965). Some dehydrogenase from five species of south american trypanosoma and leishmania. *Ann. Trop. Med. Parasit.* **59** : 494-495.
- Lillie, R.D. (1948). *Histopathologic Technique*. Blakiston Co., Philadelphia and Toronto.
- Lindsay, D.T. (1963). Isozymic patterns and properties of lactic dehydrogenase from developing tissues of the chicken. *J. Exp. Zool.* **152** : 75-81.
- Lowenthal, A., Van Sande, M. and Karcher, D. (1961). Heterogeneity of lactic and malic dehydrogenase in serum, cerebrospinal fluid, and brain extracts in man and sheep. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **94** : 988-995.
- Mansour, T.E., and Bueding, E. (1953). Kinetics of lactic dehydrogenases of *Schistosoma mansoni* and of rabbit muscle. *Brit. J. Pharmacol.* **8** : 431-434.
- Mansour, T.E. Bueding, E. and Stavitsky, A.B. (1954). The effect of antiserum on the activities of lactic dehydrogenase of mammalian muscle and of *Schistosoma mansoni*. *Brit. J. Pharmacol.* **9** : 182-186.
- Markert, C.L. and Ursprung, H. (1962). The ontogeny of isozyme patterns of lactate dehydrogenase in the mouse. *Develop. Biol.* **5** : 363-369.
- Marshall, P.B. (1948). *Brit. J. Pharmacol.* **3** : 1-7. (Cited from von Brand, 1952).
- McKee, R.W., Ormsbee, R.A., Anfinsen, C.B., Geiman, Q.M. and Ball, E.G. (1946). *J. Exp. Med.* **84** : 569-582 (Cited from von Brand, 1952).
- Nam, J.K. and Lee, Z.S. (1967). Effect of liver injury on serum and liver lactic dehydrogenase activity. *Korean Cent. J. Med.* **12** : 371-378.
- Nielands, J.B. (1952). Studies on lactic dehydrogenase of heart. *J. Biol. Chem.* **199** : 373-381.
- Notkins, A.L., Greenfield, R.E., Marshall, D. and Bane, L. (1963). Multiple enzyme changes in the plasma of normal and tumor-bearing mice, following infection with the lactic dehydrogenase agent. *J. Exp. Med.* **117** : 185-195.
- Oda, T. (1963). Advances in enzyme chemistry in the field of parasitology. *Jap. J. Parasit.* **12** : 267-281.
- Park, C.J. (1967). Studies on phosphatase activity in some parasitic helminths. In Press.
- Plagemann, P.G.W., Gregory, K.F. and Wroblewski, F. (1960). The electrophoretically distinct forms of mammalian lactic dehydrogenase. I. Distribution of lactic dehydrogenase in rabbit and human tissues. *J. Biol. Chem.* **235** : 2282-2287.
- Read, C.P. (1949). *J. Parasit.* **35** (suppl.) : 26-27. (Cited from von Brand, 1952).
- Read, C.P. (1951). Studies on the enzymes and intermediate products of carbohydrate degradation in the cestode *Hymenolepis diminuta*. *Exp. Parasit.* **1** : 1-18.
- Riley, V., and Wroblewski, F. (1960). Serial lactic dehydrogenase activity in plasma of mice with growing or regressing tumors. *Science* **132** : 151-152.
- Ryley, J.F. (1951). Studies on the metabolism of the protozoa. I. Metabolism of the parasitic flagellate *Trypanosoma lewisi*. *Biochem. J.* **49** : 577-585.
- Sherman, I.W. (1961). Molecular heterogeneity of lactic dehydrogenase in avian malaria (*Plasmodium lophurae*). *J. Exp. Med.* **114** : 1049-1062.
- Sherman, I.W. (1962). Heterogeneity of lactic dehydrogenase in intra-erythrocytic parasites. *Trans. N.Y. Acad. Sci. Series II* **24** : 944-953.
- Siegel, A. and Bing, R.J. (1956). Plasma enzyme activity in myocardial infarction in dog and man. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **91** : 604-607.
- Smith, W. Costello, L.C. and Oya, H. (1963). Dehydrogenase activity in unembryonated *Ascaris* eggs. *J. Parasit.* **49**(suppl.) : 51.
- Smyth, J.D. (1962). *Introduction to animal parasitology*. English Univ. Press, London.
- Speck, J.F. and Evans, E.A. (1945). *J. Biol. Chem.* **159** : 71-81. (Cited from von Brand, 1952).
- Speck, J.F., Moulder, J.W. and Evans, E.A. (1946). *J. Biol. Chem.* **164** : 119-144.
- Vesell, E.S. (1961). Significance of the heterogeneity of lactic dehydrogenase activity in human

- tissues. Ann. N.Y. Acad. Sci. **94** : 877-889.
- Vesell, E.S. and Bearn, A.G. (1961). Isozymes of lactic dehydrogenase in human tissues. J. Clin. Invest. **40** : 586-591.
- Vestling, C.S., Terayama, H., Florini, J.B. and Baptist, J.N. (1956). Inhibition of liver lactic dehydrogenase. Fed. Proc. **15** : 375.
- von Brand, T. (1952). Chemical physiology of endoparasitic animals. Academic Press, New York.
- von Brand, T. and Bowman, I.B.R. (1961). Studies on the aerobic and anaerobic metabolism of larval and adult *Taenia taeniformis*. Exp. Parasit. **11** : 276-297.
- Wacker, W.E.C., Ulmer, D.D., and Vallee, B.L. (1956). Metalloenzymes and myocardial infarction. II. Malic and lactic dehydrogenase activities and zinc concentrations in serum. New Eng. J. Med. **255** : 449-456.
- Waitz, J.A. (1963). Glycolytic enzymes of the cestode *Hydatigera taeniaeformis*. J. Parasit. **49** : 285-293.
- Weimer, H.E., Carpenter, C.M., Naylor-Foote, A.W. C., McKee, R.W. and Nishihara, H. (1959). Effects of inanition, protein depletion and repletion serum lactic dehydrogenase levels in rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **101** : 344-346.
- West, M. and Zimmermann, H.J. (1958). Serum enzymes in disease. IV. Lactic dehydrogenase and glutamic-oxaloacetic transaminase levels in renal disease. J. Lab. Clin. Med. **52** : 185-192.
- Wirtschafter, S.K., Saltman, P. and Jahn, T. L. (1956). The metabolism of *Trichomonas vaginalis*. The oxidative pathway. J. Protozool. **3** : 86-88.
- Wroblewski, F. and LaDue, J.S. (1955). Lactic dehydrogenase activity in blood. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **90** : 210-213.
- Wroblewski, F. and LaDue, J.S. (1956). Serum glutamic pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **91** : 569-571.
- Zimmermann, H.J. and Weinstein, H.G. (1956). Lactic dehydrogenase activity in human serum. J. Lab Clin. Med. **48** : 607.