

# 韓國牡牛의 Cholinesterase 活性度에 對하여

서울 農業 大學  
南 治 州  
서울 大學 校 農科 大學  
鄭 昌 國

## I 緒 論

酵素는 生體內에서 生成되어 細胞內 化學反應의 觸媒로서 生體內 物質代謝에 重要한 役割을 지니고 있음은 널리 알려져 있는 事實이고 近來 酵素化學은 크게 發展하고 있으며 醫學分野에서도 各種 疾病診斷에 널리 應用되고 있다. 이와같이 生體에 重要한 酵素들의 活性度는 動物의 品種, 個體, 性別, 年齡, 營養等 여러 要因에 따라 多少 變異가 있을 것이지만 健康한 動物에서는 一定한 動搖範圍를 維持하고 있는 것이다. 그러나 動物이 疾患 등으로 因하여 正常 生理條件에 變化가 일어나면 그 酵素 活性度에도 相當한 變異가 일어날 것이므로 酵素活性度の 測定値는 疾病의 診斷과 治療에 있어서 매우 重要한 指針이 되고 있다.

Cholinesterase(ChE)는 交感神經 및 副交感神經의 末端纖維를 刺戟함으로써 遊離되는 Acetylcholine(Ach)을 Choline 및 acetic acid로 分解시키는 酵素로서 血液 및 其他 여러 組織內에 널리 分布되어 있는데 이들은 神經組織 및 赤血球等에 存在하는 眞性酵素(True ChE)와 血漿, 血清, 肝臟, 脾臟等에 存在하는 偽性酵素(Pseudo ChE)로 區別할 수 있다(8).

ChE는 1932年 Stedman et al.(20)이 報告한 以來 여러 研究者들에 依하여 發表되었으며 獸醫學分野에서도 ChE活性度에 關한 研究는 活發히 進行되어왔다(6, 9, 11, 13, 16). 그러나 아직도 韓牛의 ChE活性度에 關한 發表에는 接한바 없었다.

著者는 이에 着眼하여, 1) 現在까지 알려져 있지 않은 韓牛의 ChE活性度を 測定함으로써 韓國固有의 品種인 韓國牛의 ChE值를 알아봄과 同時에, 2) 그 值의 季節的 變動性 有無를 檢討하고, 3) 血清 ChE活性도와 赤血球 ChE活性도와의 數值的 差異를 求하여, 4) 臨床學의 面에서의 應用性 與否를 確認할 目的으로 이 研究에 着手하였다.

## II 材料 및 方法

### 1. 實驗材料

#### 가. 實驗動物의 選定

京畿道 水原과 安養地方에서 飼育하고 있는 韓牛中 臨床적으로 健康하다고 認定된 2-6歲의 牡牛 8頭를 選定하여 一年間 繼續 實驗 對象牛로 삼았다.

#### 나. 實驗材料의 採取

實驗材料인 血液의 採取는 1966年 9월부터 1967年 8월에 이르는 一個年間に 걸쳐 各季節의 中心月이 되는 10월, 1월, 4월, 7월의 中旬에서 實施하였으며 採血時間은 午前 10時에서 12時사이로 하였고 採血經路는 頸靜脈을 擇하였다. 血清 ChE 活性度 測定에 쓰여질 血液은 乾燥滅菌한 硝子 試驗管에 1.0ml씩을 取한 後 靜置하여 凝固시켰고 一方 赤血球 ChE 活性度 測定에 쓰여질 血液은 2.5% sodium citrate溶液 1.0ml을 넣어 乾燥시킨 有栓瓶에 血液 9.0ml을 取하여 잘 混和한 다음 이들 血液을 봄, 여름, 가을에는 ice box에 넣어서 實驗室로 運搬하였고 겨울에는 血液의 凍結을 防止하기 爲한 保溫裝置를 하여 實驗室로 運搬하였다. 實驗血清은 室溫에서 靜置 分離한 後 4°C 冷藏庫內에 保存하였고 赤血球 ChE 活性度 測定을 爲한 全血은 2,000rpm에서 15分間 遠沈하여 分離된 上層인 血漿은 버리고 赤血球는 그 容積의 倍가 되도록 生理的 食鹽水를 添加하여 50%赤血球 浮游液을 만들어서 亦是 4°C 冷藏庫에 靜置하였다가 ChE 活性度 測定에 使用하였다.

血清 및 赤血球 ChE 活性液 測定은 모두 採血後 一週日 以內에 施行하였다.

### 2. 實驗方法

#### 가. 試 藥

(1) 1/15M phosphate buffer液(pH 7.4)

(a) 1/15M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>溶液

(b) 1/15M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>溶液

(上記 (a)溶液과 (b)溶液을 8:2比率로 混和하여 buffer液으로 만들어 使用함)

(2) 0.1M acetylcholine chloride溶液(冷藏庫에 貯藏)

(3) 2M hydroxylamine hydrochloride溶液(冷藏庫

에 貯藏)

- (4) 3.5N NaOH溶液
- (5) 稀鹽酸(3倍 稀釋液)
- (6) 0.37M ferric chloride溶液(1/10 HCl溶液에 溶解)
- (7) 0.037M ferric chloride溶液(1/10N HCl溶液으로 溶解, 酵素測定 直前に 만들어 使用함)
- (8) 0.95% saline溶液

나. 測定方法

血清 및 赤血球 ChE 活性도는 Kuroda et al.<sup>(10)</sup>法에 依하여 測定하였다.

(1) 血清 ChE 活性도

試驗管에 稀血清(血清 0.5ml+蒸溜水 2.0ml) 0.5ml와 phosphate buffer液 1.0ml를 加하여 잘 混和시킨 後 5分間 38°C 恒溫器속에 넣어 두었다가 여기에 0.1M acetylcholine chloride溶液 0.5ml를 加하고 다시 60分間 38°C 恒溫器속에 放置하였다가 2M hydroxylamine hydrochloride溶液과 3.5N NaOH溶液을 同量 混合한 混合液(使用前30分 以內에 만들어 使用)2.0ml를 加하고 3分內에 3倍 稀鹽酸液 1.0ml와 0.37M ferric chloride溶液 1.0ml를 加한다. 0.037M ferric chloride溶液 10.0ml에 上記 混合液의 濾過液 2.0ml를 加한다. 實驗用으로는 稀血清 代身에 蒸溜水를 加한 것과 對照用으로는 hydroxylamine hydrochloride溶液과 3.5N NaOH溶液의 混合液을 加한 다음에 稀血清을 넣은것을 使用하여 光電分光光度計(Coleman製品 Junior城)로 15分 以內 波長 530mμ에서 吸光度를 測定하고 다음과 같이 活性도를 算出하였다.

血清 cholinesterase에 依해 分解된 Ach mg量

$$= \frac{\text{對照液의 吸光度} - \text{可檢液의 吸光度}}{\text{對照液의 吸光度}} \times 9.0835 \times 10$$

(2) 赤血球 ChE活性도

赤血球 ChE 活性도 測定은 稀血清 代身에 稀赤血球 浮游液(50%, 赤血球 浮游液 0.5ml+saline溶液2.0ml) 0.5ml를 試料로 한 點탄 틀리머 모든 操作은 血清 ChE 活性도 測定法과 同一하여 다음과 같이 計算하여 算出 하였다.

赤血球 cholinesterase에 依해 分解된 Ach mg量

$$= \frac{\text{對照液의 吸光度} - \text{可檢液의 吸光度}}{\text{對照液의 吸光度}} \times 9.0835 \times 10 \times 2$$

ChE活性도는 血清 및 赤血球 1.0ml에 對하여 38°C에서 60分間 分解된 Acetylcholine chloride量으로서 表示된다.

## II. 實驗成績

1966年 9月부터 1967年 8月에 이르는 一年間 同一한 8頭의 韓國牡牛를 試驗牛로 使用하여 各季節別로 血清과 赤血球 ChE活性도를 測定하였던 바 다음과 같은 成績을 얻었다.

1. 血清 ChE 活性도

被檢牛 8頭에 對한 血清 ChE 活性도의 各季節別 個別值, 年間動搖範圍 및 季節的 變動性은 Table 1 및 Fig. 1에 表示된 바와 같다.

即 血清 ChE 活性도의 年間動搖限界는 0.64 mg/hr/ml에서 8.26mg/hr/ml에 이르렀으며 年間平均値는 3.69±0.25mg/hr/ml였다. 또 季節別 平均値는 가을이 5.55±0.78mg/hr/ml로서 가장 높고 여름이 2.07±0.40 mg/hr/ml로 제일 낮았다. 季節的 變動性은 高度의 有意性을 보여 주었다(p<0.01).

Table 1. Individual Values of Serum ChE Activity in Korean Cattle.

Year Season	1966		1967		Average for four seasons
	Fall	Winter	Spring	Summer	
1	4.18	4.36	3.31	0.64	3.12
2	3.21	1.91	2.13	3.54	2.70
3	2.22	3.90	3.49	2.82	3.11
4	5.34	4.45	0.71	3.12	3.41
5	7.85	5.18	2.83	1.44	4.47
6	5.89	5.90	4.25	0.73	4.22
7	8.26	2.00	4.12	1.44	3.95
8	7.36	5.90	2.10	2.81	4.54

No. of Sample                      8                      8                      8                      8                      8

Maximum	8.26	5.90	4.25	3.54	4.54
Minimum	2.22	1.91	0.71	0.64	2.70
Total	44.40	34.23	22.94	16.54	29.52
Mean	5.55	4.28	2.87	2.07	3.69
S. D.	2.22	1.63	1.19	1.13	0.69
S. E.	0.78	0.58	0.42	0.40	0.25
F-Value	7.38**				

\*\* : P < 0.01

## 2. 赤血球 ChE 活性度

被檢牛 8頭에 對한 赤血球 ChE 活性度の 年間個別值 年間動搖範圍 및 季節的 變動性은 Table 2와 Fig. 1에 表示한 바와 같다.

即 赤血球 ChE 活性度の 年間動搖限界는 29.78mg/hr/ml에서 48.88mg/hr/ml에 이르렀으며 年間平均値

는 38.37±1.11mg/hr/ml였다.

또 季節別 平均値는 가을이 41.82±1.89mg/hr/ml로 서 제일 높았고 봄이 36.21±2.03mg/hr/ml로 가장 낮은 値를 보였다. 季節的 變動性은 有意差를 認定할 수 없었다.

Table 2. Individual Values of Erythrocytes ChE Activity in Korean Cattle.

Year Season	1966		1967		Average for four Seasons
	Fall	Winter	Spring	Summer	
1	44.82	39.42	48.50	45.42	44.54
2	40.12	43.42	37.42	39.47	40.12
3	31.48	32.16	37.76	35.06	34.12
4	44.26	35.41	37.42	37.94	38.75
5	37.76	42.52	31.78	36.33	37.10
6	48.88	39.42	33.60	35.06	39.24
7	44.80	32.16	33.42	34.51	39.22
8	42.46	35.41	29.78	39.97	36.91
No. of Sample	8	8	8	8	8
Maximum	48.88	43.42	48.50	45.42	44.54
Minimum	31.48	32.16	29.78	34.51	34.12
Total	334.58	299.92	289.68	303.76	306.99
Mean	41.82	37.49	36.21	37.97	38.37
S. D.	5.35	4.37	5.75	3.65	3.13
S. E.	1.89	1.54	2.03	1.29	1.11
F-Value	1.98		N. S.		

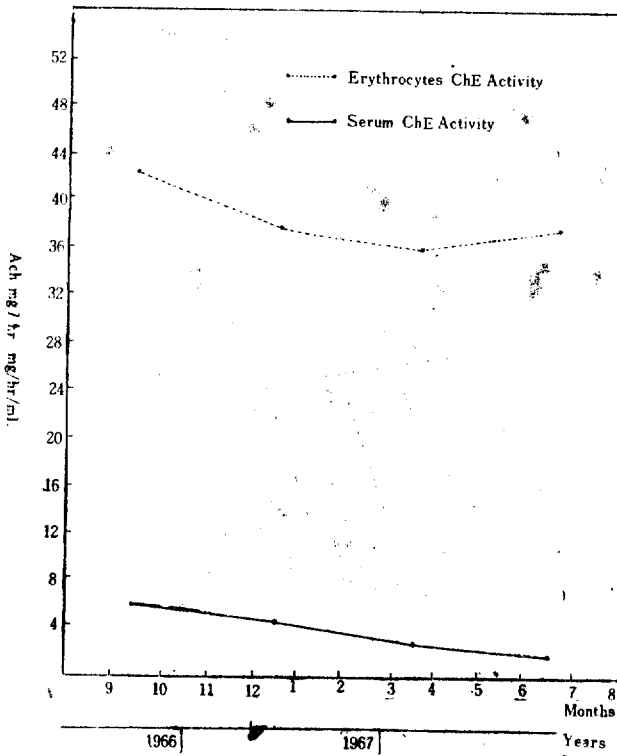
N. S. None Significance

## IV 考 察

著者는 韓國杜牛의 血清 및 赤血球 ChE 活性度を 各季節別로 測定하여 各各 其 個別值를 求하였고 血清 ChE 活性도와 赤血球 ChE 活性度の 季節的 變動性과

血清 및 赤血球에 含有되는 ChE 活性度の 測定值를 相互 比較하여 보았다. 一般的으로 血清 ChE 의 合成臟器는 肝臟으로 알려져 있으며 血清 ChE 活性도는 肝疾患<sup>(1, 2, 4, 8, 23)</sup>이라던가 營養障害 및 貧血症이 있는 例<sup>(8)</sup>에서는 減少를 보이는데 特히 家畜의 有機磷劑中毒症에

Fig 1. Seasonal Trends of Serum and Erythrocytes ChE Activity.



있어서는 그 값이 顯著히 低下되는 것으로 알려져 있다 (6 12 16). 一方 腎臟疾患(8 23)이든가 各種 神經性疾患의 境遇(14) ChE活性度の 測定値는 增加한다고 한다. 따라서 以上과 같은 疾患에 수반하여 ChE活性度は 變動하는 까닭에 ChE活性度 測定은 다른 種類의 血液化學值 및 血液學值의 測定과 아울러 外科 및 内科의 疾患診斷에 크게 도움이 될 수 있는 診斷補助方法이라고 할 수 있을 것이다.

本試驗을 통하여 韓國牡牛의 血清ChE 活性도와 赤血球ChE 活性도를 서로 比較檢討할때 血清ChE 活性度の 年間 最低値는 0.64mg/hr/ml였고 最高値는 8.26mg/hr/ml였으며 8頭의 年間 平均値는 3.69±0.25mg/hr/ml에서 比較的 낮은 値를 보였다고 하였으나 赤血球ChE 活性度の 年間 平均 最低値는 29.78mg/hr/ml, 最高値는 48.88mg/hr/ml였으며 8頭의 年間 平均値는 38.37±1.11mg/hr/ml에서 赤血球ChE 活性度の 測定値는 血清의 그것에 比하여 매우 高値로 測定되었음을 알 수 있다. 이러한 結果는 stedman等(19)이나 stowe等(21)이 報告한 것과 같이 反芻類의 血清ChE 活性度は 매우 낮은 値를 보였음에 反하여 赤血球ChE 活性度は 상당히 높은 測定値를 보였다고 하는 事實과 一致되는 것이라고 하겠다.

다음에 血清ChE 活性도와 赤血球ChE 活性度の 季節的 變動性을 보면 血清ChE의 경우 여름이 2.07±0.40mg/hr/ml였고, 가을이 5.55±0.78mg/hr/ml에서 가을이 高値를 차지 하였는데, 이러한 結果는 季節이 冬季, 春季 및 夏季에 移行함에 따라 그 値는 漸次 下落했다가 가을에 다시 上昇하는 傾向을 보여 주었는데 (Fig. 1參照), 이러한 血清ChE 活性度の 季節的 變動性은 統計學的으로 高度의 有意性을 보여 주었다(p<0.01). Giomiyama(7)가 測定한 犬의 血清ChE 活性度도 亦是 冬季에 下落된 値를 報告하였는데 韓牛에 있어서 冬季에 下落된 現象을 나타낸 確實한 理由는 證明할 수 없다.

一方 赤血球ChE 活性度の 季節的 變化를 보면 봄이 36.21±2.03mg/hr/ml로서 季節中 가장 低値를 보였고 가을이 41.82±1.89mg/hr/ml로서 最高値를 보여 秋季에 高値를 보였다가 冬 및 春季에는 下落하고 夏季에는 다시 上昇하는 傾向을 나타내고 있으나 統計學的으로 檢討한 바 季節的 變動性에는 有意性을 認定할 수 없는 것으로 보아 赤血球ChE 活性度は 四季를 通하여 比較的 그 値가 安定된 狀態에 있다고 하겠다.

以上에서 血清 및 赤血球ChE 活性도를 相互檢討해 본 結果 血清ChE 活性度の 季節的 變動性은 높은 有意性을 보인데 反하여 赤血球ChE 活性度は 有意性을 設定할 수 없음으로 미루어 赤血球ChE 活性度は 年中을 通하여 外來의 環境變化에 反應하는 程度가 그다지 크지 않고 比較的 安定된 狀態를 維持하고 있는 것이라고 推則할 수 있으며 따라서 血清ChE와 赤血球ChE 活性度の 季節的 變動性 사이에는 相互間 密接한 關聯度은 보이지 않는 것으로 思料된다. 이러한 結果는 血清ChE와 赤血球ChE의 生成이 서로 다른 臟器에서 由來함을 暗示하여 주는 것이라고도 推則할 수 있다.

報文(3 14)에 依하면 血清 및 赤血球ChE 活性度は 年齡에 따라 큰 差異는 나타나지 않았다고 하며, 性別差에 있어서는 女性보다 男性의 値가 약간 높았다고 하나(3 14 18), 性別 差異를 發見할 수 없었다는 報告도 있다(11). 또한 妊娠中에 있어서는 血清ChE 活性度は 正常보다 低下되며 더욱이 妊娠中毒症의 경우는 매우 低値를 나타내었다고 한다(5 15 22).

따라서 本試驗에서 測定한 血清 및 赤血球ChE 活性度の 各季節에서 보여준 個體別 測定値의 差는 年齡에 基因하는 差異라기 보다는 個體別 差異라고 認定하는 것이 適當한 것이다.

以上을 要約하면 韓國牡牛의 血清ChE 活性度は Kuroda et al.測定法(10)으로는 매우 낮은 値를 보였으며 個別値와 季節的 變動性에는 變化가 많았음에 反하여 赤血球ChE 活性度は 높은 値를 維持하였고 個體別

値의 差나 季節度에 있어서도 큰 差異는 發見할 수 없었다.

따라서 今後 韓牛에 對한 血中 ChE 活性度의 測定 用에 있어서는 赤血球 ChE 活性度 測定을 擇하는 便이 더 有利하다고 思料된다.

## V 結 論

1966年 9월부터 1967年 8월에 이르는 一年間 臨床上 健康하다고 說定된 同一한 韓國杜牛 8頭를 대상으로 各 季節에 따라 血清 및 赤血球 ChE 活性度を 測定하여 個別值, 年間動搖範圍 및 그 季節的 變動性을 調査하였던 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 血清ChE活性度の 年間動搖限界는 0.64mg/hr/ml에서 8.26mg/hr/ml에 이르렀으며 年間平均値는 3.69±0.25mg/hr/ml였고, 季節的 變動性에는 높은 有意性이 認定되었다.

2. 赤血球ChE 活性度の 年間動搖限界는 29.78mg/hr/ml에서부터 48.88mg/hr/ml에 이르렀으며 年間平均値는 38.37±1.11mg/hr/ml였고, 季節的 變動性에는 有意性을 認定할 수 없었다.

3. 韓牛의 血清ChE 活性度は 極히 低值를 보였고 個體別差 및 季節別 變動의 程度가 심하였으나 赤血球ChE 活性度は 個體別差 및 季節的 變動性의 程度가 뚜렷하지 않고 比較的 安定된 狀態에 있었다.

## VI 參 考 文 獻

1. 赤屈四郎 : 臨床酵素學 3版, 朝倉書店, 東京(1965) : 339.
2. Alcalde, J. : Serum Cholinesterase Determination in the Differential Diagnosis of Joundice. *J. Lab. & Clin. Med.*, 36, (1950) : 391
3. Alfred, R. J., Hodges, J. L., Swader, J. and Wiggins, A. D. : Plasma and Red Cell Cholinesterase in 800 Healthy Blood Donors. *J. Lab. & Clin. Med.*, 50, (1957) : 376
4. Antopol, W., Tuchman, L. and Schifrin, A. : Decreased Cholinesterase Activity of Serum in Joundice and in Biliary Disease. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 36, (1937) : 46
5. Barnes, A. C. and Epperson, J. W. : Studies in the Cholinesterase-Hormone Relationship. *Am. J. Obst. & Gynec.*, 63, (1952) : 326
6. Cox, D. H. and Barker, B. R. : A Diagnostic Test for Organic Phosphate Insecticidal Poisoning of Cattle. *J. A. V. M. A.*, 123, (1958) : 385

7. Giomiyama masusei : Studies on the Serum Cholinesterase Activity of the Dog. *Journal of the Veterinary medicine.*, 176, (1956) : 127
8. Harper, H. H. : Review of Physiological Chemistry. 7th ed. Lange Medical Publication, Los Altos, California. (1959) : 108
9. Kim, D. E. : An Influence for the Cholinesterase in Blood of the Canine Following Intake Scabby. *Korean J. Vet. Res.*, 4, (1964) : 15
10. Kuroda, K., Fujino, M. and Idrino, K. : A Portable Micro method of the Determination of Cholinesterase Activity in Blood Serum. *Tokushima J. Exptl. Med.*, 6, (1959) : 73
11. Moncol, D. J. and Batte, E. G. : Cholinesterase Activity in the Normal Blood of Swine. *Vet. Med.*, 59, (1964) : 947
12. Palmer, J. S. : Observation of Brahman and Hereford Cattle Sprayed with Diathion. *J. A. V. M. A.*, 146(1965) : 221
13. Petty, C. S. and Lovell, M. P. : Cholinesterase Activity of Bovine Blood. *Am. J. Vet. Res.*, 19, (1958) : 836
14. Plum, C. M. : Study of Cholinesterase Activity in Nervous and Mental Disorders. *Clinic. Chem.*, 6, (1960) : 332
15. Pritchard, J. A. : Plasma Cholinesterase Activity in Normal Pregnancy and in Eclampsy Toxicemia. *Am. J. Obst. & Gynec.*, 70, (1955) : 1083
16. Radeleff, R. D. and Woodard, C. T. : The Toxicity Organic Phosphorus Insecticides to Livestock. *J. A. V. M. A.*, 130, (1957) : 215
17. Radeleff, R. D. and Woodard, G. T. : Cholinesterase Activity of Normal Blood of Cattle and sheep. *Vet. Med.*, 51, (1956) : 512
18. Reinhold, J. G., Tourigny, L. G. and Yoman, V. L. : Measurement of Serum Cholinesterase Activity. *Am. J. Clin. Path.*, 23, (.953) : 645
19. Stedman, E., Stedman, E. : The Relative Cholinesterase Activity of Serum and Corpuscles from the Blood of Certain Species. *Biochem. J.*, 29, (1935) : 2107
20. Stedman, E., Stedman, E. and Easson, L. H. : Cholinesterase. (An Enzyme Present in the Blood Serum of the Horse.) *Biochem. J.*, 26, (1932) : 2056.

21. Stowe, C.M. : The Curariform Effect of Succinylcholine in the Equine and Bovine Species. *Cornell Veterinarian.*, 45, (1955) : 193
22. Tourtellote, W.W. and Odell, L.D. : Plasma Acetylcholinesterase Activity. *Am. J. Obst. & Gynec.*, 60, (1950) : 1343
23. Vorhaus, L.J. and Kark, R.M. : Serum Cholinesterase in Health and Disease. *Am. J. Med.*, 14, (1953) : 707

## **Observations on the Cholinesterase Activity in Normal Blood of Korean Male Cattle.**

Tchi Chou Nam, D. V. M.

*Seoul Municipal college of Agriculture*

Chang Kook Cheung, D. V. M., M. S., Ph. D.

*College of Agriculture, Seoul National University*

### **ABSTRAT**

The serum and erythrocyte cholinesterase activity and their seasonal variations were determined with 8 males of healthy Korean cattles during one year period from September, 1966 to august, 1967.

The results obtained were as follows :

1. The serum cholinestrse activity showed a range of 0.64mg/hr/ml to 8.26mg/hr/ml with a mean value of  $3.69 \pm 0.25$ mg/hr /ml.

There was highly significant differences in the seasonal variations.

2. The erythrocyte cholinesterase activity ranged from 29.78 mg/hr/ml to 48.88mg/hr/ml with a mean value of  $38.37 \pm 1.11$  mg/hr/ml.

Seasonal variations was not found to be significant.

3. The results showed that the serum cholinesterase activity of Korean cattle had great variations among individual values and significant seasonal variations.

On the other hand, cholinesterase activity of erythrocyte showed a little variations among individual values and no significant seasonal variations.