

반추수 심장질환의 진단을 위한 혈액화학적 연구

김덕환 · 이교영 · 장석진 · 송근호 · 이윤경 · 윤상보*

충남대학교 수의과대학
축산기술연구소*
(1995년 2월 17일 접수)

Blood chemical research for the diagnosis of cardiac disease in ruminant

Duck-hwan Kim, Kyo-young Lee, Seuk-jin Chang, Kun-ho Song,
Yoon-kyung Lee, Sang-bo Yoon*

College Veterinary Medicine, Chungnam National University
National Livestock Research Institute*

(Received Feb 17, 1995)

Abstract : In order to clarify the significance of serum CPK for the diagnosis of the cardiac disease in ruminant, the fluctuation of serum total CPK activities and CPK isoenzyme fractions was examined before and after operation in Korean native goats with artificially induced cardiac injury.

In the change of serum total CPK activities, those of experimental group were changed with higher values than those of control group and significant increase was found on 2-week after operation($P<0.05$).

In the fluctuation of serum CPK isoenzyme fractions, significant increase of both CK1 and CK3 fractions was observed on 2-week after operation in experimental group($P<0.05$), but significant difference was not found in CK2 fraction between experimental and control groups.

From these findings, it is considered that taking note of increase of not only serum total CPK activities but also CK1 and CK3 fractions is important for the diagnosis of traumatic cardiac disease in ruminant.

Key words : blood chemical, diagnosis, cardiac disease, ruminant

서 론

가축의 심장질환은 선천적인 것과 후천적인 것이 있으나 그 중에서도 후천적인 심장질환이 많이 발생하는

데, 특히 반추수의 경우는 제 2위에 섭취한 이물이 정체하기 쉬운 특이한 해부학적 구조를 지니고 있어 창상성 심낭염을 비롯한 여러가지 창상성 질환이 많이 발생하고 있으며, 이러한 질병은 조기에 발견되지 않으면

* 이 연구는 1993년도 학술진흥재단 지방대 육성중점과제 연구비 지원에 의해 수행되었음.

Address reprint requests to Dr Duck-hwan Kim, College of Veterinary Medicine, Chungnam National University, Taejeon 305-764, Republic of Korea.

치료가 어렵고 예후가 불량하여 이로인한 경제적인 손실이 크다^{1,2}.

혈청의 transaminase 및 여러 효소의 변화는 병인의 해명, 병태의 파악과 예후판정에 이용되고 있으며, 특히 효소의 isoenzyme의 임상적 응용의 평가는 높다^{3,4,5,6,7,8,9}.

Creatine kinase(CK)라고도 불리는 creatine phosphokinase(CPK)에는 3가지 종류의 isoenzyme 즉, 주로 중추신경계에 존재하는 CK1, 주로 심근과 골격근에 존재하는 CK2, 그리고 골격근과 심근에 많이 존재하는 CK3가 알려져 있는데, 혈청 CPK 총활성 및 CPK isoenzyme 분획은 사람에게 있어 특히 심장질환, 근육질환 및 중추신경계 질환의 진단에 이용되고 있다^{3,4,6,10,11,12,13,14}.

동물의 CPK에 관하여는 혈청 CPK 총활성^{15,16,17,18}, 혈청^{19,20,21,22,23} 및 장기조직^{19,23,24}의 CPK isoenzyme 분획에 대한 검토가 각각 이루어져 동물에 있어서도 사람에서와 마찬가지로 혈청 및 장기조직에 각각 CK1, CK2 및 CK3의 3가지 isoenzyme 분획이 존재하는 것으로 밝혀졌다.

동물의 심장질환의 진단을 위한 혈액화학적 연구로는 정과 김²²의 인공유발 심근경색전에서의 CPK 총활성과 CPK isoenzyme 분획의 변화에 대한 보고, 김 등⁵이 조사한 한국재래 산양의 인공유발 창상성 심낭염에 있어서 LDH 및 LDH isoenzyme 분획 변화의 의의에 대한 검토 그리고 정 등²⁵이 수행한 인위적 창상성 심낭염의 CPK, LDH 및 AST 등의 활성 변화에 대한 조사 보고가 있을 뿐, 효소의 isoenzyme에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 반추수의 심장질환에 있어서 CPK의 진단적 의의를 밝힐 목적으로, 반추수 질병의 모델로서 한국재래산양을 대상으로 심장손상을 인공적으로 유발하여 혈청 CPK 총활성 및 CPK isoenzyme 분획의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

실험동물 : 농가에서 사육된 임상적으로 건강한 6~12개월령, 체중 9.0~14.4kg의 한국 재래산양(이하 재래산양) 6두(암컷 4두 및 수컷 2두)를 실험군(3두) 및 대조군(3두)으로 나누어 실험에 공하였다. 재래산양은 실험에 사용하기전 3주동안 예비사육을 하였으며, 예비사육시 구충제(닐잔과립, 현대약품)로 구충하였다. 또한 세균성 질환의 예방목적으로 항균제(코파마이신, 한국동물약품)를 3일간(1회/1일, 10mg/kg) 근육으로

투여 하였다.

실험방법

실험군의 처치 : 창상성 심장 손상의 유발은 실험군 총 3두를 복부정중선 절개부위를 전도한 다음 Rum-pun(0.1~0.3mg/kg: 한국바이엘화학 주식회사)으로 진정, 마취시킨 후 피부, 근육 및 복막순으로 절개하여 제 2위를 노출시켰다. 그후 준비한 철사(길이 약 10cm 및 굵기 약 0.1cm)를 제 2위에 자입한 다음 제 2위와 철사를 함께 잡고 횡격막을 관통시켜 심장으로 자입하였다.

심장자입후 철사로 심박동을 느낀 후 가봉합하여 X-ray 촬영으로 심장천자를 확인하였다. 그리고 절개의 역순으로 봉합하고 베타딘으로 창면을 소독한 후 항생제(동물용 푸로나펜, 한국화이자 주식회사)를 1일 1회(2만 IU/kg) 3일간 근육 주사하였으며 10일 후 발사하였다.

대조군의 처치 : 대조군의 처치는 총 3두를 복부정중선에서 복막까지 실험군과 동일한 방법으로 절개한 후 곧바로 폐쇄 봉합하였으며, 소독, 항생제 처치 및 발사도 실험군과 동일하게 처치하였다.

혈액의 채취 : 실험군 및 대조군을 수술전, 수술후 6시간, 24시간, 72시간, 1주, 2주 및 4주간격으로 각각 경정맥으로 부터 약 5ml를 채혈하여 실온에서 응고시킨 후, 원심(1,500rpm, 20분)하여 혈청을 분리한 다음 CPK 총활성 및 CPK isoenzyme용으로 나누어 동결보존(-20℃)하였다가 측정에 공하였다.

혈청 CPK 총활성의 측정 : 혈청 CPK 총활성의 측정은 실험군 및 대조군에서 얻은 각각의 혈청을 시판용 CPK 측정용 시액키트(CPK-S, 아산제약주식회사)를 사용하여 효소법(creatine phosphate 기질법)으로 분광광도계(UVIDEC-88, Japan)를 이용, 560nm에서 흡광도를 측정하여 환산하였다.

혈청 CPK isoenzyme 분획의 측정 : 혈청 CPK isoenzyme 분획의 측정은 agarose gel film을 이용한 전기영동법으로 실시하였는데^{22,26}, 전기영동법에 필요한 제반 장비 및 시약은 Corning회사제품(Corning Medical, USA)을 이용하였다. 우선 전기영동상의 양측 chamber에 MOPS완충액(3-(N-morphino)-2-hydroxy propanesulfonic acid 24.5g을 증류수 2l에 용해한 것, pH 7.8)을 각각 95ml씩 채우고 isoenzyme 측정용 agarose gel film의 sample well에 샘플분주기를 이용하여 혈청 2μl를 각각 분주한 다음 90 kV로 20분간 전기영동을 하였다.

전기영동이 끝난 agarose film은 미리 조제한 isoen-

zyme용 형광시약(fluorometric creatine kinase isoenzyme substrate 1병을 0.05M, pH6.2인 morphino ethane sulfonic acid 1ml로 용해시킨 것)을 고무 도포하고 부란기(39℃)에서 20분간 반응시킨 후 건열기(65℃)에서 30분간 건조시켰다. 건조된 agarose film은 densitometer(Corning-720, densitometer)를 이용하여 CPK isoenzyme 각 분획의 백분비를 구하였다.

통계분석 : 실험군과 대조군간의 유의성 검정은 t-test로 분석하였다.

결 과

혈청 CPK 총활성의 변화 : 실험군과 대조군에 있어서의 CPK 총활성의 변화를 보면 Fig 1에 나타낸 바와 같다. 즉, 대조군에 있어서는 수술전 105.0±26.0 IU/l이었는데 이후 증가하여 6시간째에 최고치(330.3±83.2 IU/l)에 달하였다가 이후 계속 감소하는 추세를 보여 2주째 최저치(47.3±7.1 IU/l)를 나타내었으며 4주째(87.0±33.5 IU/l)에 약간 증가하였다.

한편 실험군에 있어서는 수술전 79.3±17.5 IU/l이었는데, 수술후 6시간에 최고치(633.3±480.9 IU/l)에

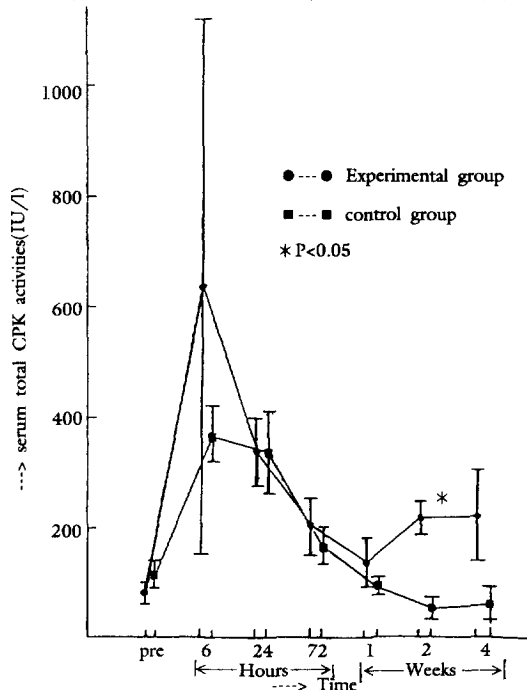


Fig 1. Fluctuation of serum total CPK activities in experimental and control groups of Korean native goats.

달하였다가 이후 1주까지는 대조군과 마찬가지로 계속 감소하는 추세를 나타내었고, 이후 증가하여 2주(206.3±34.8 IU/l)와 4주(212.5±88.5 IU/l)째에는 유사한 성적을 나타내었으나 대조군 보다 높은 수준에 변동하였다. CPK 총활성의 군간 유의성 검정에서는 2주째에만 실험군이 대조군보다 유의성 있는 고치를 나타내었다($p < 0.05$).

혈청 CPK isoenzyme 분획의 변화 : 각 CPK isoenzyme 분획의 변화는 Fig 2, Fig 3 및 Fig 4에 나타낸 바와 같다.

CK1 분획의 변화 : 대조군에 있어서 CK1 분획의 변화를 보면 수술전이 3.9±1.2 IU/l이었으며 6시간에 약간 증가(9.6±3.8 IU/l)하였다가 이후 1주째까지는 검출되지 않았는데, 이후 CK1이 출현하기 시작하여 4주째에는 24.6±19.0 IU/l이었다.

한편 실험군에 있어서는 수술전 3.0±1.0 IU/l이었으며, 이후 계속 증가의 경향을 나타내어 2주째에 최고치(94.9±49.7 IU/l)에 달하였고, 4주째는 (90.0±105.3 IU/l) 2주와 유사한 성격이었는데 대조군보다 높은 수준에서 변동하였다(Fig 2). 군간의 유의성 검정에서는 2주째에만 실험군이 대조군보다 유의성 있는 고치를 나타내었다($P < 0.05$).

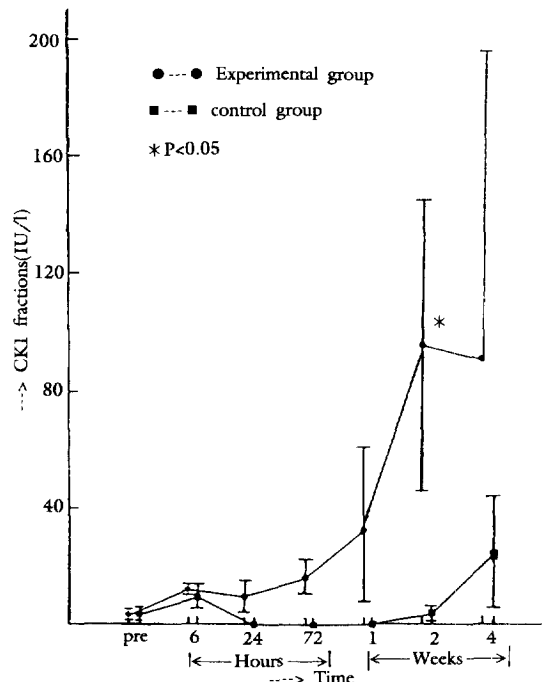


Fig 2. Fluctuation of serum CK1 fractions in experimental and control groups of Korean native goats.

CK2 분획의 변화 : 대조군에 있어서는 수술전(5.5±4.8 IU/l)부터 4주째(1.1±0.4 IU/l)까지 일정한 경향이 없는 증감의 변화를 나타내었다.

한편 실험군에 있어서는 수술전 1.8±2.4 IU/l이었고, 6시간째에 최고치(30.8±25.2 IU/l)를 나타내었다가 72시간까지 감소하는 경향이었으나 이후 4주째(19.5±24.8 IU/l)까지 일정한 경향이 없는 증감의 변화를 나타내었다. 군간의 유의성 검정에서는 유의성이 인정되지 않았다(Fig 3).

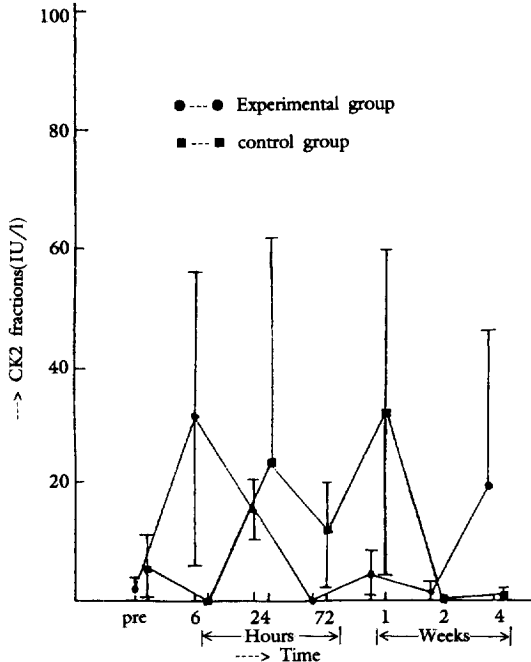


Fig 3. Fluctuation of serum CK2 fractions in experimental and control groups of Korean native goats.

CK3 분획의 변화 : 대조군에 있어서는 수술전 95.6±27.2 IU/l이었고, 이후 증가하여 6시간째에 최고치(354.7±45.3 IU/l)를 나타내었다가 이후 2주째까지(44.4±7.0 IU/l) 계속 감소하는 추세를 보이다가 4주째(61.4±15.2 IU/l)에 약간 증가하였다.

한편 실험군에 있어서는 손상 유발전에 73.8±18.1 IU/l이었는데, 손상 유발후 급격히 증가하여 6시간째에 최고치(590.1±455.4 IU/l)를 나타내었으며, 이후 대조군과 거의 유사하게 1주까지 감소하는 경향을 나타내다가 2주(104.4±18.2 IU/l)와 4주째(103.2±3.6 IU/l)에는 증가소견을 나타내었다(Fig.4).

군간 유의성 검정에서는 2주째가 실험군이 대조군보

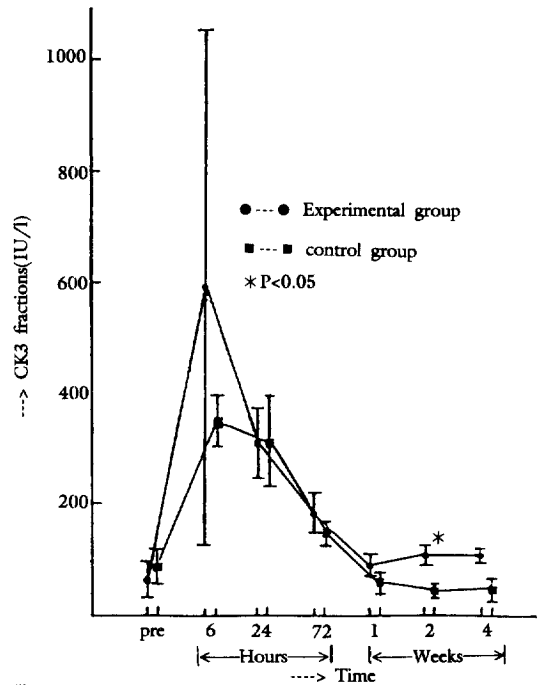


Fig 4. Fluctuation of serum CK3 fractions in experimental and control groups of Korean native goats.

다 유의한 고치를 나타내었다($P<0.05$).

고 찰

사람에 있어서는 혈청 CPK 총활성이 신경계 질병, 근육질병 및 심장질병에서 증가하므로 이들 질병의 진단지표로 CPK 총활성의 측정이 이용되고 있다.^{27,28,29,30}

본 연구에서는 반추수에 다발하는 창상성 심장 손상의 진단지표로서 CPK 측정의 의의를 규명하고자 인위적 창상성 심장손상을 재래산양을 대상으로 유발하여 CPK 총활성의 변화를 조사하였다. 그 결과 실험군에 있어서 수술후 2주째에 대조군에 비하여 CPK 총활성의 유의한 증가소견이 인정되었다.

사람의 심장질병에 있어서는 특히 심근경색환자의 혈청 CPK 총활성이 증가하는 것으로 알려져 있으며,^{28,29} 정 등²⁵도 재래산양의 인공유발 창상성 심낭염시 실험군에서 혈청 CPK 총활성의 증가소견을 밝힌 바 있어, 본 연구의 결과와 일치하였다. 또한 윤과 김²⁶은 임상적으로 건강한 재래산양의 장기조직을 대상으로 CPK 총활성을 조사하여, 골격근, 제 2위, 횡격막 및 심장조직을 비롯한 여러 장기조직에 상당 수준의 CPK 활성이 존재하는 사실을 밝힌 바 있다. 따라서 본 연구에서 손상유

발 후 혈청 CPK 총활성의 증가는 제 2위, 횡격막 및 심장에 존재하는 CPK 활성의 반영에 기인된 것으로 판단된다.

한편 CPK isoenzyme 분획의 변화를 보면, 수술 2주째에 실험군이 대조군에 비하여 CK1 및 CK3 분획의 유의한 증가를 나타내었다.

윤과 김²⁶은 임상적으로 건강한 재래산양을 대상으로 여러 장기조직의 CPK isoenzyme 분획의 패턴을 조사하여 심장의 CK3)CK2, 횡격막은 CK3)CK1)CK2, 그리고 제 2위는 CK1)CK2)CK3의 패턴을 나타내었다고 보고한 바 있다. 따라서 본 연구에서 인위적 심장손상시 CK1 및 CK3 분획의 유의한 증가소견이 인정되었는데, 이는 반추수의 창상성 심장질환의 경우 예리한 이물이 제 2위벽과 횡격막을 관통하여 심장에 손상을 일으켜 발병한다는 사실을 고려해 볼 때, 심장은 물론 횡격막과 제 2위에 존재하는 CPK isoenzyme 분획이 함께 반영되어 증가된 것으로 생각된다.

이상의 사실을 종합해 보면, 반추수 창상성 심장질환의 진단에 있어 혈청 CPK 총활성은 물론 CK1 및 CK3 분획의 유의한 증가 소견에 주목해야 할 것으로 생각된다.

결 론

반추수의 심장질환에 있어서 혈청 CPK의 진단적 의의를 밝힐 목적으로 한국재래산양을 대상으로 심장손상을 인공적으로 유발하여 혈청 CPK 총활성과 CPK isoenzyme 분획의 변화를 경시적으로 조사하였다.

혈청 CPK 총활성의 변화는 실험군이 대조군 보다 높은 수준에서 변화하였으며 수술후 2주째에 유의성 있는 증가소견이 인정되었다($P<0.05$).

혈청 CPK isoenzyme 분획의 변화는 CK1 및 CK3분획에서는 수술후 2주째에 실험군이 대조군에 비하여 유의한 증가소견을 나타내었으나($P<0.05$), CK2 분획에서는 유의성이 인정되지 않았다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 반추수 창상성 심장질환의 진단에 있어 혈청 CPK 총활성의 증가는 물론 CPK isoenzyme 분획 특히 CK1 및 CK3 분획의 증가소견에 주목해야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Maddy KT. Incidence of perforation of bovine reticulum. *JAVMA* 1954; 124: 113.
2. Maddy KT. Traumatic gastritis in sheep and goats. *JAVMA* 1954; 124: 124.
3. Eisen AA, Sherwin AL. Serum creatine phosphokinase activity in cerebral infarction. *Neurology* 1968; 18: 263-268.
4. Eshchar J, Zimmerman HI. Creatine phosphokinase in disease. *Am J Med Sci* 1967; 253: 272-282.
5. 김덕환, 김 교준, 전 무형 등. 반추수의 창상성 심낭염의 진단에 관한 연구. II. 인공유발 창상성 심낭염에 있어서 LDH 총활성 및 LDH isoenzyme의 변화. *한국임상수의학회지* 1988; 5: 87-94.
6. King JO, Zapf P. A review of the value of creatine phosphokinase estimations in clinical medicine. *Med J Australia* 1972; 1: 699-703.
7. Smith JB, Healy PJ. Elevated serum creatine phosphokinase activity in disease of the central nervous system in sheep. *Clin Chim Acta* 1968; 21: 295-296.
8. 友田勇. 臨床血液化學検査の考え方(IX) V. 血液酵素 3. アルカリフォスファターゼ. *日獣會誌* 1979; 32: 93-103.
9. 友田勇. 臨床血液化學検査の考え方(X) 血清酵素 4. 乳酸脱水素酵素. *日獣會誌* 1979; 32: 281-292.
10. Dubo H, Park DC, Pennington RJT, et al. Serum creatine-kinase in case of stroke, head injury and meningitis. *Lancet* 1967; 7: 743-748.
11. Ebashi SY, Momoi H, Sugita H. High creatine phosphokinase activity of sera of progressive muscular dystrophy. *J Biochem* 1959; 46: 103-104.
12. Hess JW, Macdonald RP, Frederck RJ, et al. Serum creatine phosphokinase(CPK) activity in disorders of heart and skeletal muscle. *Ann Int Med* 1964; 61: 1015-1028.
13. Isaacs JS, Yesavage JA. Serum creatine phosphokinase levels and assaultive behaviour of psychotic patients. *Psychol Med* 1984; 14: 229-231.
14. Savignano T, Hanok A, Kuo J. Creatine phosphokinase activity, a study of normal and abnormal levels. *Amer J Clin Pathol* 1969; 51: 76-85.

15. Blackmore KJ, Elton D. Enzyme activity in the serum of thoroughbred horses in the United Kingdom. *Equine Vet J* 1975; 7: 34-39.
16. Garnier, Benoit FE, Jacquet JP, et al. Bleed enzymology in the goat: usual values of CPK, LDH, ICDH and SDH. *Ann Rech Vet* 1984; 15: 55-58.
17. Ruppanner R, Norman BB, Adams CJ, et al. Metabolic and cellular profile testing in calves under feedlot conditions: Minerals, electrolytes and biochemical components-reference values. *Am J Vet Res* 1978; 39: 841-844.
18. Smith ML, Lee R, Sheppard SJ, et al. Reference ovine serum chemistry values. *Am J Vet Res* 1978; 39: 321-322.
19. Beatty EM, Doxey DL. Lactate dehydrogenase and creatine kinase isoenzyme levels in the tissues and serum of normal lambs. *Res Vet Sci* 1983; 35: 325-330.
20. Dibartola SP, Tasker JB. Elevated serum creatine phosphokinase: A study of 53 cases and a review of its diagnostic usefulness in clinical veterinary medicine. *J Am Anim Hosp Assoc* 1977; 13: 744-753.
21. Galitzer SJ, Oehme FW. Creatine kinase isoenzymes in bovine tissue. *Am J Vet Res* 1985; 46: 1427-1429.
22. 정한영, 김덕환. 개의 혈청과 장기조직 및 인공유발 심근경색견의 혈청 creatine phosphokinase (CPK) 총활성과 CPK isoenzyme 분획. 한국임상수의학회지 1992; 9: 157-166.
23. Thoren-Tolling K. Creatine kinase isoenzymes in tissues and serum from pigs. *Zbl Vet Med A* 1982; 29: 89-98.
24. Argiroudis SA, Joyce EK, Blackmore DJ. Observations on the isoenzymes of creatine kinase in equine serum and tissues. *Equine Vet J* 1982; 14: 317-321.
25. 정창국, 남치주, 성재기 등. 반추수의 창상성 심낭심근염에 관한 실험적 연구. 대한수의학회지 1980; 20: 127-134.
26. 윤상보, 김덕환. 반추수의 혈청과 장기조직의 creatine phosphokinase(CPK) 총활성 및 CPK isoenzyme 분획에 관한 연구. 한국임상수의학회지 1992; 9: 173-189.
27. Galen RS, Reiffel JA, Gambino SR. Diagnosis a myocardial infarction. *JAMA* 1975; 232: 145-147.
28. Knottinen A, Somer H. Specificity of serum creatine kinase isoenzyme in diagnosis of acute myocardial infarction. *British Med J* 1978; 1: 386-389.
29. Roberts R, Sobel BE. Creatine kinase isoenzymes in the assessment of heart disease. *American Heart J* 1978; 95: 521-528.
30. Varat MA, Mercer DW. Cardiac specific creatine phosphokinase isoenzyme in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Circulation* 1975; 51: 855-859.