

개에서 실험적으로 유발시킨 급성 췌장염에 있어서 혈액화학치와 췌장의 초음파학적 변화

윤영민 · 박수진 · 윤정희 · 윤화영 · 최희인

서울대학교 수의과대학
(1998년 4월 30일 접수)

Study on clinico-pathological and ultrasonographic changes for experimental induced-acute pancreatitis in dogs

Young-min Yun, Su-jin Park, Jung-hee Yoon, Hwa-young Youn, Hee-in Choi

College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea

(Received Apr 30, 1998)

Abstract : In acute pancreatitis group, all the dogs are showed increase of amylase and lipase after the 1st day of surgery, and amylase and lipase activity were significantly more increased than those of control group. The methemalbumin was increased significantly after the 2nd day of surgery in the acute pancreatitis group. In pancreatitis group, ultrasonographic findings included thickened duodenal wall and poorly circumscribed hyperechoic lesion of pancreatic mass after the 2nd day of surgery. And the lesion was exacerbated until the 4th day and reduced after the 6th day of surgery. To identify the lesion of pancreas, it is considered that transverse view is more useful than sagittal view.

Gross findings showed increase of pancreatic parenchymal consistency, surface nodule, and extensive pancreatic necrosis. Necrosis of peripancreatic fat tissue was also a prominent feature. The microscopic appearance of the pancreas was characterized by pancreatic acinar cell necrosis, hemorrhage, infiltration of the inflammatory cell and fat necrosis and saponification were also observed.

Key words : acute pancreatitis, amylase, lipase, ultrasonography, dog.

서론

췌장은 탄수화물의 대사에 관여하는 호르몬인 인슐린과 글루카곤을 분비하는 내분비부와 protease, amylase 및 lipase 등의 소화효소를 분비하는 외분비부로 구성되어 있다^{1,4}. 췌장은 비활성화 형태(zymogen)의 소화효소를 합성하고 분비하며, 이와 함께 특이 효소억제물질(inhibitor)을 합성, 저장 및 분비하여 단백분해효소로부터 자신을 보호한다⁵. 그러나 여러가지 원인에 의해 이러한 정상적인 방어기전이 파괴될 때 췌장염이 발생한다.

췌장염의 발생과 그 기전을 알아보기 위해서 여러 학자들이 동물모델을 이용하여 실험적으로 췌장염을 유발시켰는데, 주로 사염화탄소⁶, 십이지장 유미즙 및 trypsin 혼합물을 이용하여 췌장의 파괴 정도에 따른 효소치의 변화를 관찰한 이래, 췌관의 결찰법⁷, trypsin과 bile acid의 주입법^{8,9}이 사용되어 왔다. 또한 Attix *et al*¹⁰과 Strombeck *et al*¹¹은 외과적 수술로 췌장의 부도관(accessory duct)에 oleic acid를 주입함으로써 성공적으로 실험적 췌장염을 유발하였는데 이는 지방식에 의한 췌장염과 발병기전 및 임상증상이 유사하였다.

췌장염은 여러가지 유발인자에 의한 복합적인 질병이고, 그 임상증상이 다른 일반 소화기 질병에서 흔히 관찰되는 구토, 설사 및 복통 등이기 때문에 단순한 임상증상 관찰만으로는 감별하기 어려우며 아직까지 확실한 평가를 내릴만한 특이적인 진단방법이 없다^{4,12,13}. 현재 이용되는 진단방법으로 환축의 병력 및 임상증상, 혈액학적 검사, 혈청화학적 검사¹⁴, lipase와 amylase 활성도, 복부의 방사선촬영^{15,16}이나 초음파 검사¹⁷가 있지만 최근에는 혈청 isoamylase의 측정¹⁸, methemalbumin 농도의 측정^{9,19,20}과 trypsin-like immunoassay(TLI)²¹ 등이 췌장염 진단에 유용하게 사용되고 있다¹.

췌장염의 진단에는 혈청 amylase와 lipase 활성도의 측정⁶이 매우 중요한데, 혈청 lipase 활성도의 증가를 고려하지 않은 amylase 활성도만의 증가는 진단적 효용성이 낮다¹¹. Parent²²는 dexamethasone을 투여한 개에서 췌장염의 소견이 없이도 혈청 lipase와 amylase 활성도가 증가할 수 있다고 하였으며, Polzin *et al*²³은 신부전과 간기능 이상이 있는 개에서 혈청 lipase와 amylase 활성도가 증가할 수 있다고 보고하였다²⁴. 그리고 lipase는 신장을 통해서 배설되는데 만약 췌뇨(oliguria) 또는 무뇨(anuria)가 있으

면 혈청 lipase 활성도는 증가한다. 따라서 췌장염의 진단은 단순한 혈청 amylase 활성도 혹은 lipase 활성도 측정만으로는 확진하기 어렵다.

혈청 methemalbumin(MHA)은 부종성 췌장염과 급성 출혈성 췌장염을 감별진단하는데 결정적인 지표로 사용되며²⁵, MHA의 증가는 췌장내 출혈성 형태를 나타내며 높은 치사율을 보이기 때문에 예후를 파악하는데 매우 효과적이다^{19,20}.

또한 초음파 검사는 비침습적이며 안전하고 지속적인 조사가 가능하며 X-선상에서 발견되는 췌장의 이상부위를 감별하는데 효과적이어서 널리 사용되고 있는데, 사람에서 초음파는 췌장질환의 평가에 있어서 효과적인 진단방법으로 그 이용이 증가되고 있다²⁶⁻²⁸. 췌장부위에서 감소된 에코성의 초음파상은 부종, 출혈과 염증성 삼출을 의미하며 급성 췌장염에서 볼 수 있다²⁹. 또한 Nyland *et al*³¹은 실험적으로 급성 췌장염을 유발시킨 후 초음파를 이용하여 가장 효과적으로 췌장을 찾는 방법 및 질병의 경과를 보고한 바 있다.

우리나라에서는 현재 소동물 임상에서 췌장염으로 의심이 되지만 정확한 진단을 내리지 못하는 경우가 대부분이며, 췌장염의 진단에 중요한 성분인 혈청 amylase와 lipase의 활성도 및 methemalbumin 농도의 정상범위 확립뿐 아니라 췌장염의 발생, 진단 및 치료에 대한 연구가 이루어진 바 없다. 따라서 본 연구에서는 지방식에 의한 췌장염과 유사한 췌장염 모델에서 혈청 amylase와 lipase 활성도 및 methemalbumin 농도의 변화 정도를 알아 보고 췌장의 초음파 소견과 췌장조직의 육안적 및 병리조직학적 소견을 비교하여 진단에 이용하고자 본 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

실험동물 : 건강한 생후 1년령 이상의 체중 3~8kg(4.5±1.79), 개 11두(암컷: 5, 수컷: 6)를 암수 구별없이 급성췌장염 유발군에 6두 그리고 대조군에 각 5두씩 배치하였다. 각 실험동물은 케이지에 한 마리씩 사육하면서 2주일간 기초사육하였으며, 실험시작전 일반신체검사, 혈액학적 및 혈청화학적 검사 그리고 초음파 검사를 실시하여 건강 이상유무를 확인하였다.

실험방법 :

1) 급성 췌장염 유발 : 24시간 절식하였으며, 수술전

처치는 통상적인 방법으로 행하였다. 마취는 atropine sulfate(아트로핀®, 제일제약) 0.05mg/kg으로 전마취하고 10분 후에 ketamine HCl(ketalar®, 유한양행) 10mg/kg과 propionylpromazine(Combelen®, 바이엘 화학) 0.03ml/kg을 병용투여하였고, 양와자세로 고정하여 술야소독후 상복부를 정중절개하여 개복하였다.

췌장의 부도관(pancreatic accessory duct)을 췌관이 개구하고 있는 십이지장 부근에서 둔성분리하여 catheter의 삽입에 도움이 되도록 부도관 주변에 먼저 견사로 가결찰하였다. 췌장의 부도관에 IV용 24gauge 유치카테터를 삽입한 후, oleic acid의 역류를 막기 위해서 미리 설치해 둔 도관주위의 견사로 부분결찰하였다. 설치된 카테터를 통해 oleic acid(0.5ml/kg)를 췌장으로 서서히 주입하였다. Oleic acid 주입후 카테터를 제거하면서 췌장부도관을 완전결찰하였다. 대조군은 실험군과 동일한 방법으로 마취·개복하고 췌장과 소장을 육안적으로 검사하고 손으로 유사하게 조작한 후에 정복하였다.

2) 수술후 관리 : 실험군은 수술후 설사, 구토에 의한 수분손실방지와 쇼크방지를 위하여 lactated Ringer's solution을 90ml/kg/day로 4일간 정맥 투여하였다. 수액을 하는 동안(4일)은 경구적으로 아무것도 투여하지 않았으며, 이후 사료와 음수를 자유급식시켰다. 수술후 4일 동안은 하루 세번 ampicillin(비도날®, 바이엘화학) 22mg/kg을 피하주사하였다. 대조군도 실험군과 동일한 처치를 실시하였다.

3) 시료채취 : 혈액은 오전 11~12시 사이에 수술전 2일, 수술당일 그리고 수술후 1, 2, 4 및 6일에 각각 경정맥으로부터 채혈하여 혈액 및 혈청검사에 사용하였다. 실험기간 동안 폐사한 개체와 수술후 7일째에 각 군 모두를 포화 MgSO₄ 용액의 정맥주사로 안락사하여 육안적 및 병리조직학적 소견을 관찰하였다.

4) 임상증상 및 임상검사 : 수술전 2일부터 수술후 6일까지 매일 구토, 설사, 활동상태, 피부탄력도, 직장체온과 복부통증유무 등의 임상증상을 관찰하였다. Packed cell volume(PCV)은 microhematocrit법으로, 총백혈구수(WBC)는 혈구계산법에 준하여 측정하였다. Amylase 활성도는 modified Caraway법(EMBIEL AMYLASE Kit, 한국)으로 lipase 활성도는 enzymatic method(Kodak Ektachem DT Analyzers, USA)으로 측정하였다.

5) Methemalbumin 농도측정 :

(1) 검량선 작성 : Hemin(British Drug House) 10mg을

1M NaOH 1ml에 녹여서 만든 hematin 용액을 bovine serum albumin(4%(w/v))으로 희석하여 methemalbumin의 농도가 0, 0.625, 1.25, 2.5, 5와 10mg/100ml이 되도록 계단희석하여 300~700nm에서 스캔한 결과 615nm에서 최대 흡광도를 얻었으며 이 과정에서 모든 시료를 측정하여 검량선을 얻었다(Fig 1).

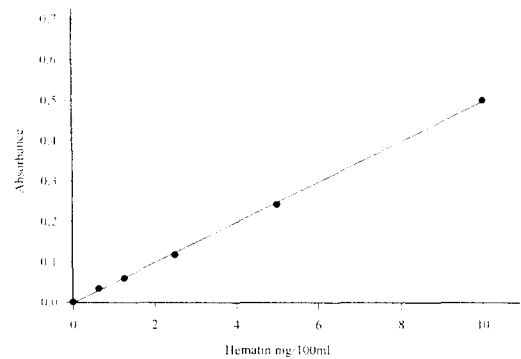


Fig 1. Standard graph by plotting known concentrations of a standard hematin(0~10mg/100ml as hematin) vs the corresponding absorbance at 615nm.

(2) Methemalbumin 농도 측정 : 혈청 600μl을 0.1M phosphate buffer(pH 7.4) 300μl에 희석하여 5분간 원심분리하였다. 상층액을 취하여 1ml cuvette에 넣은 후 spectrophotometer로 615nm에서 흡광도를 읽고나서 약 2mg의 dithionite를 첨가하여 잘 용해시킨 후 실온에서 5분간 방치하였다가 615nm에서 다시 흡광도를 측정하였다. MHA 농도는 dithionite로 환원시키기 전과 후의 흡광도의 차이를 hematin mg/100ml로 환원하여 계산하였다.

6) 초음파 검사 : 본 실험에 사용된 초음파 진단장비는 Sonorex[(주)메디슨, 한국]에 장착된 6.5MHz convex형 탐촉자를 사용하였으며, 기록은 감열지(UPP-110HD, SONY, Japan)가 내장된 HD200(SONY, Japan)기종 프린터를 이용하였다.

초음파 검사는 술전, 술후 2일, 4일과 6일에 각각 실시하였으며, 환측의 준비는 통상적인 방법에 준하여 실시하였다. 스캔부위는 실험동물을 양와자세를 취한 후, 복부정중선 우측에서 스캔하기 시작하여 횡단 및 종단상을 영상화하였다. 위장관내의 가스로 인해 영상화에 지장을 받는 경우에 창이 있는 plexiglass table을 이용하여 동물을 복와자세나 횡와자세를 취하도록 한 후 테이블

아래에서 스캔하였다.

7) 육안 및 병리조직학적 소견 : 급성 췌장염군과 대조군 모두를 수술후 7일째에 안락사시킨 후 부검하여 췌장과 주변장기를 육안적으로 확인하였으며, 병리조직학적 검사를 위해서 췌장을 10% 중성 포르말린에 고정시켰다. 고정된 각각의 장기를 일반적인 조직처리 과정을 거쳐 파라핀 포매한후 4 μ m 두께로 절편하여 hematoxylin & eosin 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

8) 통계처리 : 처치후 각 군에서의 동일시기에 대한 각 군간의 측정치 변화에 대한 유의성을 검정하기 위해 student's *t*-Test를 이용하였고, 일별에 따른 변화는 Tukey의 다중검정을 5% 수준에서 실시하였다.

결 과

실험적으로 급성 췌장염을 유발시켜 관찰한 임상증상, 혈청화학치, methalbumin 농도, 초음파상 그리고 췌장조직의 육안적 및 조직학적 변화를 관찰한 결과는 다음과 같다.

임상증상 : 급성 췌장염군(6두)은 수술후 1일째부터 모두가 침울, 복부축진시 긴장감과 통증을 나타내었으며, 총 6두중 4두가 구토를, 3두가 연변을 보였다. 수술후 2일째에는 5두가 침울, 유연, 심한 구토를 나타내었으며 4두가 연변을 보였다. 이후 모두가 서서히 회복되는 경향을 보였으나 4일 이후부터는 대부분의 개체가 강한 식욕을 나타내었으며 분변은 대부분이 연변이었다. 그리고 수술후 4일과 6일째에 각 1두가 폐사하였다. 대조군은 수술후 1일째 가벼운 침울을 나타낸 후 모두가 회복되었으며 설사, 구토, 발열과 복통을 보이는 개체는 없었다(Table 1).

Table 1. Clinical signs in acute pancreatitis and control group

Group	No. of dogs	Clinical signs	Days				
			0	1	2	4	6
Acute Pancreatitis	6	Depression	0	6	5	3	1
		Vomiting	0	4	5	1	1
		Diarrhea(mild, soft)	0	3	4	2	2
		Death	0	0	0	1	1
Control	5	Depression	0	4	0	0	0
		Vomiting	0	0	0	0	0
		Diarrhea(mild, soft)	0	0	0	0	0
		Death	0	0	0	0	0

Table 2. Changes of PCV(%) and WBC(/ μ l) in acute pancreatitis and control group (Mean \pm SD)

Days	Group	PCV(%)		WBC(/ μ l)	
		Acute Pancreatitis	Control	Acute Pancreatitis	Control
-2		38.3 \pm 5.2 ^A	38.5 \pm 4.2	10,025 \pm 1,188.0 ^B	9,880 \pm 1,621.2
0		41.8 \pm 4.1 ^A	39.0 \pm 6.9	10,169 \pm 2,129.0 ^B	10,830 \pm 2,639.5
1		39.4 \pm 5.4	37.5 \pm 5.5	13,155 \pm 5,904.0	15,440 \pm 4,093.8
2		35.4 \pm 5.9	39.5 \pm 2.9	17,570 \pm 5,538.9 ^b	18,270 \pm 4,821.8
4		36.2 \pm 5.6	41.7 \pm 4.8	14,910 \pm 7,129.9	13,200 \pm 6,488.1
6		33.1 \pm 5.4 ^a	41.5 \pm 5.8	15,394 \pm 4,240.4	14,010 \pm 3,646.1

^{Aa}PCV, ^{Bb}WBC not sharing a common lettersuperscript differ significantly(p < 0.05).

혈액화학치 변화 :

1) 혈액화학치 : 급성 췌장염군과 대조군 모두에서 PCV 값(평균±표준편차)은 수술전보다 수술후 1일째 다소 감소되었으나 급성 췌장염 유발군에서 수술후 6일째(33.1±5.4) 유의적인 감소(p<0.05)를 보였다. 그러나 두 군간의 일별변화 및 동일시기에는 유의성 있는 차이를 보이지 않았다(Table 2). 총백혈구수는 수술전에 급성 췌장염 유발군이 10,169±2,129.0/μl, 대조군이 10,830±2,639.5/μl이던 것이 수술 2일째에는 각각 17,570±5,538.9/μl, 18,270±4,821.8/μl로 두 군 모두가 유의성 있게 증가하였다. 그러나 급성 췌장염군은 수술후 2일 이후부터는 감소하였다(Table 2).

2) 혈청화학치 : 급성 췌장염군의 수술전 amylase 활성도는 587.4±115.0IU/L였으며, 수술후부터 급격히 증가하기 시작하여 2일째에 유의적인 최고치(11,200.2±2,458.0IU/L)에 달한(p<0.05)후 실험종료 시기인 6일째(2,842.5±1,316.0IU/L)까지 감소하였다. 대조군에서는 처치 전후에 유의성 있는 차이를 보이지 않았다(Fig 2).

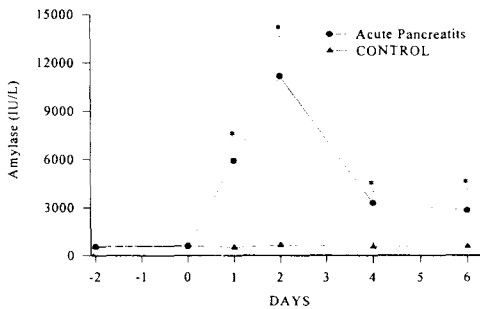


Fig 2. Changes of serum amylase activity(IU/L) in acute pancreatitis and control group.

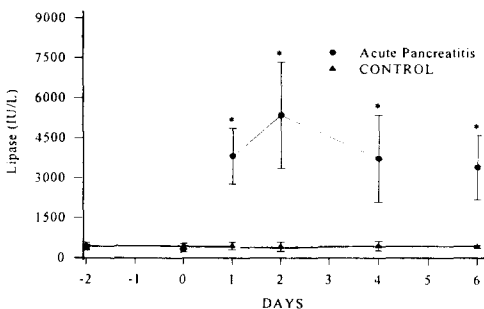


Fig 3. Changes of serum lipase activity(IU/L) in acute pancreatitis and control group(p < 0.05).

Lipase 활성도의 변화에서 급성 췌장염군은 수술후 1일째(3,826.7±1,049.7IU/L)부터 급격히 증가하여 2일째에 유의적인 최고치(5,356.7±1,991.6IU/L)를 나타낸 후 서서히 감소하였다(p<0.05). 대조군에서는 실험기간동안 큰 변화를 보이지 않았다(Fig 3).

3) 혈청 methemalbumin 농도 : 혈청 methemalbumin 농도는 급성췌장염 유발군에서 수술후 2일째(0.41±0.13mg/100ml)에 유의성 있게 증가하였다(p<0.05)가 감소하는 경향을 나타내었으나 정상범위에 있었다. 그리고 대조군에서는 변화를 보이지 않았다(Table 3).

Table 3. Changes of methemalbumin concentration(mg/100ml) in acute pancreatitis and control group(Mean±SD)

Days	Group	Acute pancreatitis	Control
-2		0.21±0.14	0.15±0.10
0		0.15±0.24	0.19±0.12
1		0.19±0.19	0.20±0.17
2		0.41±0.13*	0.19±0.15
4		0.21±0.06	0.20±0.17
6		0.18±0.12	0.16±0.10

* : p < 0.05

초음파상의 변화 : 건강한 동물의 초음파 검사에서는 정상 췌장을 정확하게 찾기에는 어려웠지만 췌장부위에 췌장으로 생각되는 실질을 확인할 수 있었다(Figs 4, 5A). 급성 췌장염 유발군의 초음파 검사에서 유발후 2일째, 하행십이지장을 따라 위치한 대형의 매스(종괴)를 확인함에 의해 급성 췌장염이 유발되었음을 확인할 수 있었다(Figs 4, 5B). 유발후 4일째에는 2일째 초음파상보다 더욱 커진 췌장부 매스를 확인하였으며, 매스는 중앙의 저에코 부위를 주위의 고에코영역이 에워싸고 있는 것으로 관찰되었으며 이로 인해 십이지장은 복측으로 변위되었다(Figs 4, 5C). 유발후 6일째에도 계속 넓은 부위에 걸쳐 췌장부 매스가 관찰되었고 4일째의 것과는 다소 달리 중등도의 에코성 영역에 무에코 부위를 일부 포함하고 있는 것이 확인되었다(Figs 4, 5D).

췌장의 육안적 및 병리조직학적 변화 : 급성 췌장염군은 수술후 7일에 안락사하여 췌장을 육안적으로 관찰한 결과 췌장실질은 경도가 증가되어 있었으며, 췌장 주위 지방조직은 회백색으로 경화(지방괴사)되어 있었고, 불

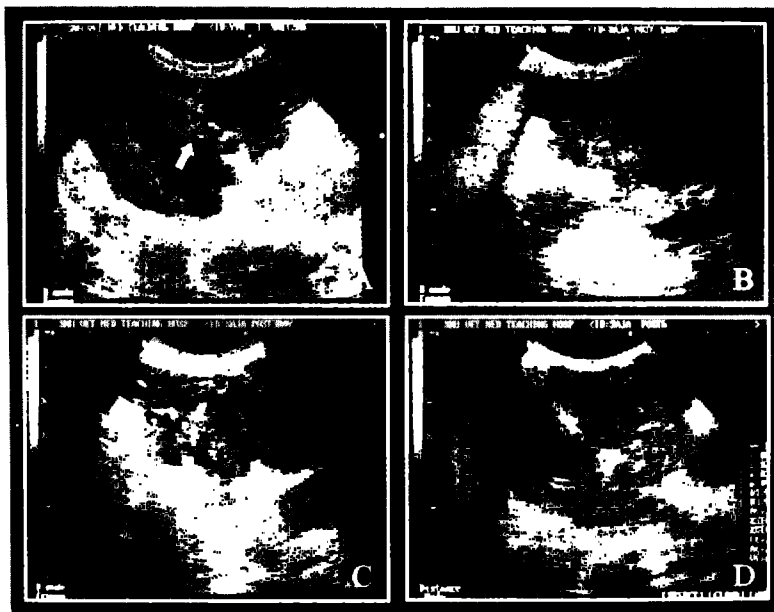


Fig 4. Ultrasonograms of acute pancreatitis induced group. Each scan was performed at transverse view(T). A : before pancreatitis induction. B : 2 days after pancreatitis induction. C : 4 days after pancreatitis induction. D : 6 days after pancreatitis induction. D : duodenum, $\hat{\cup}$: pancreas.

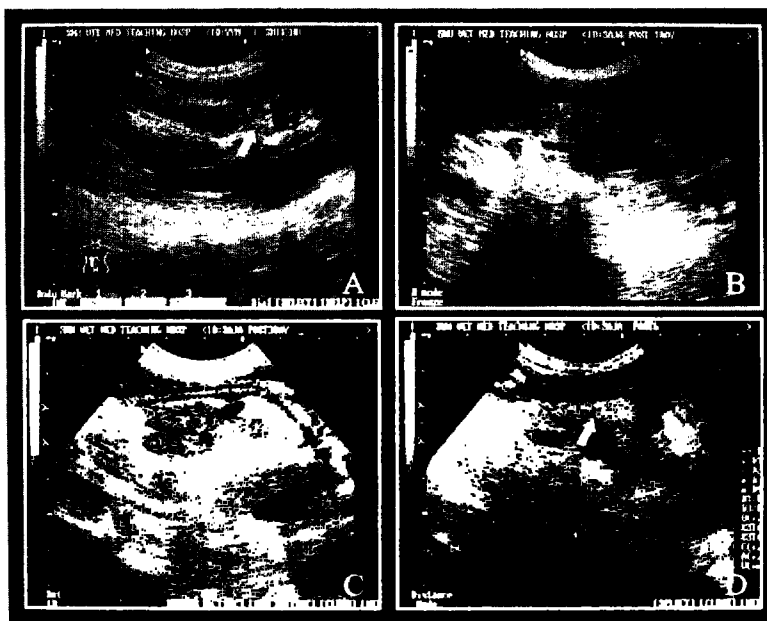


Fig 5. Ultrasonograms of acute pancreatitis induced group. Each scan was performed at sagittal view(S). A : before pancreatitis induction. B : 2 days after pancreatitis induction. C : 4 days after pancreatitis induction. D : 6 days after pancreatitis induction. D : duodenum, $\hat{\cup}$: pancreas.

은 색조의 출혈소가 다발성으로 관찰되었다. 췌장의 단면에서는 다양한 크기의 결절이 관찰되었다(Fig 7). 대조군은 육안적으로 췌장, 신장, 소장에서 육안적 병변은 관찰되지 않았다(Fig 6).

병리조직학적 소견으로 급성 췌장염군의 췌장실질의 소엽 중앙부위에서 다발성의 심한 괴사소가 관찰되었다. 가끔 괴사소는 석회화를 동반하고 있었다. 췌장의 소엽간 조직은 심한 섬유화로 비후되어 있었고, 미만성으로 많은 수의 림프구와 소수의 호중구가 침윤되어 있었다. 췌장주변의 지방조직에서는 호중구의 침윤과 석회화가 동반된 심한 지방괴사가 확인되었다. 혈관은 심하게 충혈되어 있었다(Fig 9). 대조군에서는 췌장의 병리조직학적 변화가 관찰되지 않았다(Fig 8).

고 찰

동물모델을 이용한 췌장염의 실험적 유발은 많은 연구자들에 의해 개발되어왔다. 본 연구에서 급성췌장염의 실험적 유발은 Attix *et al*¹⁰과 Strombeck *et al*¹¹의 방법을 사용하였는데, 이는 외과적 수술로 췌장의 부도관(accessory duct)에 oleic acid를 주입하여 유발시키는 것으로, 이는 지방식에 의한 췌장염과 비교하였을 때 그 발생기전과 임상증상이 유사하나 외과적인 방법으로 췌장 부도관을 노출시키고 도관내로 oleic acid 정확하게 투여해야 하는 고도의 기술이 요구된다. Oleic acid는 췌장염 유발의 기전중 고지방 식이에 따른 혈중 유리지방산의 증가³³⁻³⁵ 또는 급작스런 고지방 식이의 다량섭취시 발생할 수 있는 소장 내용물의 역류^{10,36}를 모방한 모델이다. 즉, oleic acid를 췌장의 부도관으로 주입하면, 이는 췌장의 간질내에 존재하던 lipase에 의해 가수분해되어 free fatty acid가 되고, 이 free fatty acid는 세제(detergent)처럼 높은 표면활성을 지니므로 선세포막의 파괴와 더불어 단백분해효소들의 활성화를 가져와 췌장의 지방괴사를 유발시키게 되는 것이다^{10,19,35}.

급성 췌장염 유발군의 임상증상으로는 유발후 1일째부터 발열과 침윤, 복통, 구토와 연변 등이 관찰되었는데, 연변은 췌장염 유발후 모든 개에서 나타나는 증상은 아니었다. Strombeck *et al*³⁷은 췌장 선세포 기능의 약 85% 이상이 파괴되었을 때 전형적인 외분비 기능부전의 증상이 나타난다고 하였다. 이 실험에 사용한 급성 췌장염 모델에서 췌장 선세포의 파괴가 현저하여 외분비 기

능부전으로 진행되기 이전에 실험을 종료하여서 외분비 기능부전에 의한 소화효소의 고갈에 따른 지방변이나 다량의 설사는 그다지 관찰되지 않은 것으로 생각된다. 또한 본 연구에서 수술후 23일에 폐사한 1두는 폐사전까지 왕성한 식욕을 보였으나 체중은 계속 감소하였으며, 분변은 다량의 지방변을 배설하였다. 부검시에는 췌장이 흔적만 있을 뿐 다른 장기의 이상은 확인되지 않았다. 이는 oleic acid의 췌도관 주입에 의한 급성 췌장염이 만성으로 경과되어 췌장 외분비기능부전으로 진행된 것으로 추측할 수 있었다. 수술후 구토는 가장 눈에 띄는 임상증상으로써 수술후 4일째까지 심한 구토를 보였는데, 이는 췌장과 주변의 염증, 급성복통이나 복막, 소장 등의 긴장과 염증자극에 의해 구토증추가 자극된 것으로 생각된다. 급성 췌장염군 6두중에서 1두가 수술후 2일째에 혈액이 섞인 연변을 배설하였는데, 이는 급성췌장염 유발시에 췌장과 인접한 결장부위의 괴사나 염종의 소장으로의 파급 등에 의해 약 80%의 개에서 설사, 약 40%의 개에서 혈변이 관찰되었다는 보고와 같은 결과였다³.

혈액학적 소견에서는 실험군은 수술후 1일째 PCV가 개체에 따라 경미하게 증가하였는데 이는 개체간의 정도의 차이가 있겠지만 구토와 설사로 인한 탈수에 의한 것으로 생각되며 크게 차이를 보이지 않은 것은 수술후 수분손실의 방지를 위해서 lactated Ringer's sol.(90ml/kg)을 4일간 정맥으로 점적주사하여 체액의 손실을 방지한 것에 의한 것으로 사료된다.

총백혈구수는 수술후 2일째까지 두군 모두 증가하였는데 이는 염종의 진행에 의한 것으로 생각되며 2일 이후부터는 증가 정도가 완화되었다.

Amylase의 유래는 췌장조직 이외에 소장점막, 간장, 자궁, 신장, 난소와 전립선 등이 있으나 개에서는 사람과 달리 타액에는 존재하지 않는다. 따라서 이들 장기에 이상이 생기면(만성신부전, 장폐색, 간질환, 난소종양 또는 전립선종양) 혈청 amylase 활성도는 증가하게 된다^{6,7,11,38,39}. Amylase는 췌장에서 분비되는 다른 단백분해효소와는 달리, 활성화된 형태로 분비되어 polysaccharides를 disaccharides와 monosaccharides로 분해하는 효소로서 췌장의 손상이 있는 경우, 혈중에서 그 농도가 상승하는 것으로 알려져 있다^{6,7,11,39}. 개에서는 maltase의 농도가 높기 때문에 인의에서 일반적으로 사용하는 amylase 측정법인 saccharogenic법으로 측정하면 실제보다 높은 측정

치를 얻게 되므로 부정확하다는 보고가 이미 알려져 있었으므로^{18,40}, 이 실험에서는 Rapp의 amylase 측정법⁴⁰인 amyloclastic법으로 측정하였다.

췌장염 발생시에는 혈청 amylase의 농도가 정상에 비하여 3배이상 상승하는 것으로 알려졌는데, 이 실험에서도 실험군에서는 수술후 1일 제부터 급격하게 상승하여 수술후 2일째에 약 10배 정도의 활성의 증가소견을 보인 반면, 대조군에서는 측정치의 변화가 없었으므로 이는 Mia *et al*⁸ 및 Murtaugh *et al*³⁰의 보고와 일치하는 소견이었다.

혈청 lipase는 amylase보다 더 소수의 조직 즉, 췌장을 비롯한 장점막 등에 존재하기 때문에 췌장질환에서는 혈청 amylase 활성보다 lipase 활성이 더 특이적이다. Lipase 역시 활성화된 형태로 췌장에서 분비되며, 중성 지방을 glycerol과 free fatty acid로 가수분해하는 효소이며, 췌장의 손상이 있는 경우, 혈중에서 그 활성도가 증가한다³⁹. 또 Lipase는 신장을 통해서 배설되는데 만약 꾀뇨(oliguria) 또는 무뇨(anuria)가 있으면 혈청 lipase 활성도는 증가⁴¹한다. 따라서 amylase가 상승할 수 있는 원인은 다양하기 때문에, lipase와 amylase의 상승을 동시에 고려하는 것이 진단에 정확도를 높일 수 있다⁷.

Amylase와 lipase의 활성도는 모두 수술전에 비하여 수술후 증가하였다가 최고치를 기록한 후 감소하여 정상치로 돌아오는 양상을 나타내었다. 그러나 이는 췌장의 정상기능 회복이 아니라 외분비에 관련된 선세포의 파괴로 인하여 서서히 효소분비가 감소되는 것을 의미한다¹³. 실험종료 이후까지 지속시킨 췌장염 발생 1두의 경우 수술후 23일째에 폐사되었는데, 그동안 식욕은 매우 좋았으나 현저한 체중감소와 지방이 함유된 다량의 분변을 배설하는 증상을 보였으며 폐사후 부검소견에서 췌장은 괴사되어 거의 찾을 수 없을 정도로 췌장의 흔적만이 관찰된 것으로 보아 서서히 만성 외분비 췌장 기능 부전으로 진행되는 것을 알 수 있었다. Amylase와 lipase 활성도는 급성 췌장염에서 증가를 보였으나 신기능부전이나 장폐색시에도 증가를 보이기 때문에 다른 진단적 지표가 요구된다.

Northam²⁵이 출혈성 혹은 괴사성 췌장염 환자 혈청중 MHA의 존재를 처음으로 보고하였다. MHA는 급성 출혈성 췌장염에서 췌장내 혹은 주위의 혈액이 혈관 밖으로 나와서 proteolytic enzymes에 의해 hemoglobin이 heme과 globin으로 분해된다. heme이 hematin으로 산화되고

순환혈액으로 흡수되어 albumin과 다른 globulin과 결합하여 MHA와 다른 복합체를 형성한다. 따라서 MHA는 amylase가 상승하였을 경우에 한하여 부종성 췌장염과 출혈성 췌장염을 감별하는데 사용되며, 급성 췌장염에서 진단적 혹은 예후를 평가하는 지표로서 논란이 되고 있다^{8,9,20,42}.

수의분야에서도 개의 췌장염에서 실험실적 검사항목으로써 MHA의 측정이 거론되고 있으며 앞으로의 진단적 가치에 대한 연구가 요구되고 있다. Walberg *et al*⁴³은 625nm에서 단백질결합 hematin의 특징적 흡광도와 dithionite로 환원후의 흡광도에 근거하여 새로운 측정법을 제시하였는데, 이는 기존의 방법과 달리 시료의 혼탁정도, bilirubin이나 hemoglobin에 영향을 받지 않으며 작은 파장의 변화에도 영향을 받지 않는다. 그리고 환원 전후의 일정한 파장에서 흡광도를 측정하지 않고 500~700nm에서 스캔하여 의양성을 배제시켰다. 혈청 MHA 농도의 증가는 췌장염의 출혈형을 반영하며 높은 폐사를 때문에 예후를 평가하는데 중요한 소견으로 평가된다.

이 실험에서 MHA 농도측정은 Walberg *et al*⁴³의 변법으로써 시료를 300~700nm에서 스캔한 결과 615nm에서 최대 흡광도를 얻어 이 파장에서 모든 시료의 흡광도를 측정하였다. 췌장염 유발군에서 수술후 2일째 유의적으로 증가하였으나 그 수준이 정상범위에 있었으며, 대조군에서는 실험 전기간동안 변화를 보이지 않았다. 급성 췌장염군에서 폐사한 1두의 MHA 농도는 수술후 2일째 0.45mg/100ml로 다른 개체보다 높은 수준이었다. MHA 농도는 급성 괴사성 췌장염을 진단하는데는 부적절하지만 그 예후를 평가하는데 유효하리라 생각된다.

사람에서는 췌장염이 의심되거나 원인불명의 구토 혹은 체중감소, 상복부 통증 그리고 췌장부위의 방사선학적으로 종괴가 확인될 때 초음파 사용이 지시된다^{28,44-47}. Doust와 Pearce²⁷는 사람에서 급성 췌장염의 진단과 치료, 속발증에 대한 지속적인 감시에 초음파를 초기에 사용하였고, Cox *et al*⁴⁸은 어린아이에서 초음파가 급성 췌장염의 진행이나 치유를 증명하거나 경시적으로 평가하는데 좋은 방법이라 하였다.

개^{49,31,29}와 고양이³⁴에서 초음파로 췌장을 중심으로한 해부학적 구조와 췌장 스캔과정을 확립하였고⁵⁰, oleic acid로 유발시킨 급성 괴사성 췌장염의 초음파상을 보고하였다. Murtaugh *et al*²⁹은 개에 oleic acid로 Lamb *et al*⁵¹

은 합성 cholecystokinin octapeptide(CCK-8)을 정맥주사하여 유발시킨 췌장염에서 균일하지 않는 종괴와 에코밀도의 소실이 특징적이며, 모든 개에서 일관되게 관찰되어 초음파가 자연발생한 급성 췌장염 개를 진단하는데 가치있는 진단지표라고 제시하였다. 또한 X-선 검사와 달리 초음파 검사는 과정이 비침습적이고 방사능을 사용하지 않기 때문에 연속적인 조사가 가능하다. 그러나 자연발생한 췌장염 개에서 초음파의 진단적 이용은 아직도 연구의 대상으로 남아있다. 자연발생한 급성 췌장염에 대한 초음파의 임상적 활용은 확신할 수 있으나 췌장 위낭(pseudocyst)과 종양 등을 감별하기 위해서는 혈청학적 소견이 뒷받침 되어야 한다^{52,53}. 췌장 초음파는 자연발생한 급성 췌장염의 환축을 평가하는데 진단적으로 가치가 있다^{28,54}. X-선 검사보다 초음파 검사가 더욱 신뢰도가 높은 췌장염 진단방법으로 생각하고 있기 때문에 인위적으로 유발시킨 급성 췌장염을 대상으로 임상증상과 혈청효소치의 변화와 더불어 초음파상에서 췌장에 대한 스캔방법을 확립하고 췌장의 염증진행에 따른 변화를 관찰하는 것이 요구된다.

이 실험에서 실험동물을 배측 앙와자세에서 상부를 약간 들어 올려주는 것이 스캔하기에 용이하였으며, 우선 십이지장을 지표로 하여 췌장을 찾았다. 수술후 24시간부터 십이지장 주위의 췌장부위에 에코가 증가된 종괴를 확인할 수 있었으며, 그 크기는 4일까지 증가하였고, 에코상은 고에코와 저에코의 혼합형이었다. 그리고 4일째에는 십이지장 벽의 비후가 관찰되었는데 이는 Lamb *et al*⁵¹의 연구결과와 일치하는 소견이었다. 개체에 따라서는 복수를 확인할 수 있었다. 초음파의 횡단 및 종단상에서는 횡단상이 췌장을 확인하기에 용이하였다. 혈액검사와 부검으로 급성 췌장염을 확인하였으며 그 부위의 종괴가 췌장임을 확인할 수 있었다. 대조군에서는 췌장부위에서 이상소견은 발견되지 않았다.

급성 췌장염군에서 수술후 6일째에 안락사시켜서 췌장을 관찰한 결과 췌장을 중심으로한 십이지장 주변장기의 유착이 관찰되었으며, 췌장의 실질은 경도가 증가되어 있었고, 췌장의 주위 지방조직에서는 황색의 지방괴사와 출혈소가 관찰되었다.

병리조직학적으로는 췌장의 소엽간 조직에 두드러진 섬유화와 림프구 및 소수의 호중구 침윤이 관찰되었으며 때때로 섬유화가 소엽의 실질안으로 확산되었다. 한편 췌장주변의 지방조직에서는 호중구의 침윤 및 석회

화가 동반된 심한 지방괴사를 관찰할 수 있었다.

이상에서 Oleic acid를 췌장 부도관에 주입함으로써 심한 급성 췌장염이 유발되었으며, 혈중 amylase 및 lipase의 활성도가 증가하였다. 혈중 amylase와 lipase 활성도의 증가를 가져올 수 있는 다른 질환이 있기에 급성 췌장염을 진단하는데 이들 효소의 측정과 더불어 methalbumin의 측정하는 것이 췌장염의 진단 및 예후를 평가하는데 유용하리라 생각된다. 그리고 초음파 검사는 급성 췌장염의 진행이나 치유를 증명하거나 경시적으로 평가하는데 좋은 방법이었으며 췌장을 평가하는데 있어서 종단상 보다는 횡단상에서 더 용이하였다.

결론

실험적으로 유발시킨 급성 췌장염에서 임상증상, 혈청화학치, methalbumin 농도, 초음파상 그리고 췌장조직의 육안적 및 병리조직학적 변화를 관찰한 결과는 다음과 같다.

1. 급성 췌장염군에서는 수술후 1일째부터 침울, 발열, 복부촉진시 긴장감과 통증을 보였고, 개체에 따라 구토와 연변을 보였으며 수술후 4일부터는 임상증상이 완화되었다.

2. 혈액검사에서 수술후 1일째 모든 군은 PCV의 감소, WBC의 증가를 보였는데, PCV는 수술후 6일까지 지속적인 감소를 보였다. 그리고 급성 췌장염군에서 WBC는 수술후 4일 이후 점차 감소하는 경향을 나타내었다.

3. 급성 췌장염군에서 수술후 1일째부터 amylase와 lipase 활성의 증가가 확인되었으며 대조군에 비해 유의하게 높았다. Methalbumin의 변화는 급성 췌장염군에서 수술후 2일째 유의적인 증가를 보였으며, 대조군은 실험 전기간에 걸쳐서 정상범위였다.

4. 초음파상에서 급성 췌장염군은 수술전에 비해 수술후 2일째 십이지장 벽의 비후와 췌장부위에 종괴는 한계가 불분명한 에코의 혼합형태였으며, 십이지장벽의 비후와 종괴의 크기는 4일째까지 증가하였고 6일째에는 경미하였으며 대조군에서는 췌장의 이상을 확인할 수 없었다. 초음파상에서 췌장을 평가하는데 있어서 종단상 보다는 횡단상이 더 용이하였다.

5. 췌장의 육안적 소견에서 급성 췌장염군은 췌장실질의 경도증가, 표면의 결절, 췌장의 주변장기와의 유착, 췌장단면에서는 지방괴사와 출혈, 다양한 크기의 농양

이 관찰되었으며, 병리조직학적 소견으로는 췌장 선세포의 광범위한 괴사와 출혈, 염증세포의 침윤이 관찰되

었고, 지방괴사와 비누화를 관찰함으로써 췌장염의 발생을 확인하였다.

Legneds for figures

Fig 6. Gross finding of pancreatic regions in healthy dog.

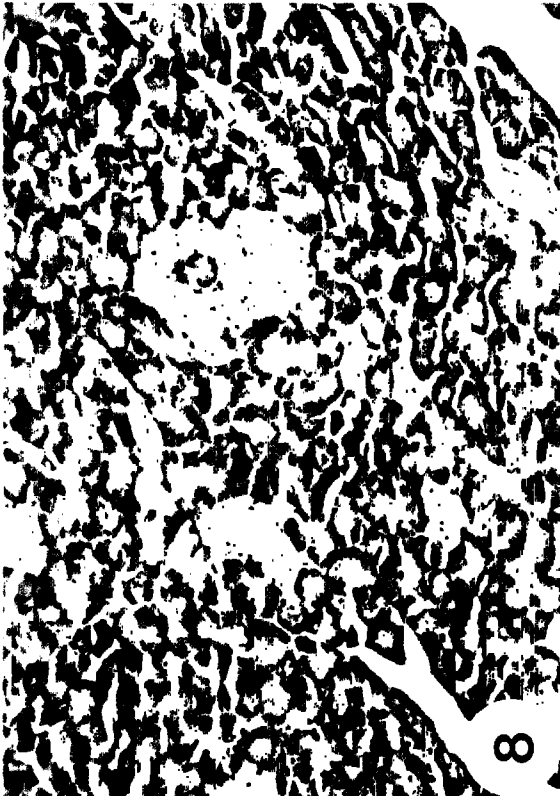
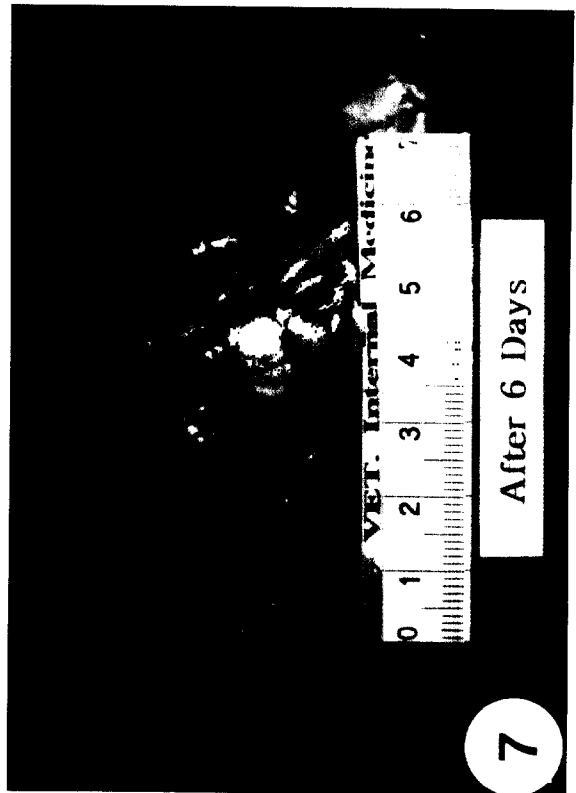
Fig 7. Gross finding of pancreatic regions in dog with acute pancreatitis.

Fig 8. Microscopic finding of pancreatic regions in healthy dog.

Fig 9. Microscopic finding of pancreatic regions in in dog with acute pancreatitis.

참 고 문 헌

1. Bunch SE. Disease of the exocrine pancreas. In Morgan RV, ed *Hand book of small animal practice*. 2nd ed, Chrchill Livingstone, New York, 459, 1992.
2. Murtaugh RJ. Acute pancreatitis: Diagnostic dilemmas. *Semin Vet Med Surg(Small Anim)*, 2:282-295, 1987.
3. Strombeck DR, Guilford WG. The Pancreas. In Strombeck DR, ed *Small animal gastroenterology*. 2nd ed, Stonegate Publishing, Davis, California, 301-331, 1990.
4. Williams DA. Exocrine pancreatic disease, In Ettinger SJ, ed *Textbook of small animal internal medicine*, 4th ed, WB Saunders company, Phyladelphia, 1372-1392, 1995.
5. Murtaugh RJ, Jacobs RM. Serum antiprotease concentrations in dogs with spontaneous and experimentally induced acute pancreatitis, *Am J Vet Res*, 46:80-83, 1985.
6. Brobst D, Ferguson AB, Carter JM. Evaluation of serum amylase and lipase activity in experimentally induced pancreatitis in the dog. *J Am Vet Med Assoc*, 157:1697-1702, 1970.
7. Mia AS, Koger HD, Tierney MM. Serum values of amylase and pancreatic lipase in healthy mature dogs with experimental pancreatitis. *Am J Vet Res*, 39:965-969, 1978.
8. Kelly TR, Klein RL, Porquez JM, et al. Methemalbumin in acute pancreatitis ; An Experimental and clinical appraisal. *Ann Surg*, 175:15-18, 1972.
9. Geokas MC, Rinderknecht H, Walberg CB, et al. Methemalbumin in the diagnosis of acute hemorrhagic pancreatitis. *Annals of Internal Medicine*, 81:483-486, 1974.
10. Attix E, Strombeck DR, Wheeldon EB, et al. Effect of an anticholinergic and a corticosteroid on acute pancreatitis in experimental dogs. *Am J Vet Res*, 42:80-83, 1981.
11. Strombeck DR, Farver T, Kaneko JJ. Serum amylase and lipase activities in the diagnosis of pancreatitis in dogs. *Am J Vet Res*, 42:1966-1970, 1981.
12. Hall JA, Macy DW, Husted PW. Acute canine pancreatitis. *Compendium Education Article*, 10:403-414, 1988.
13. Williams DA. Diagnosis and management of pancreatitis. *J Sm Anim Prac*, 35:445-454, 1994.
14. Schaer M. Acute pancreatitis in dogs. *Gastroenterology*, 13:46-55, 1993.
15. Suter PF, Lowe R. Acute pancreatitis in the dog. *Acta Radiol Suppl*, 319, 1970.
16. Suter PF, Lowe R. Acute pancreatitis in the dog: a clinical study with emphasis on radiographic diagnosis. in *Proceedings 2nd International Conference of Veterinary Radiologists*, Stockholm, *Acta Radiol*, 319(Suppl):195-208, 1972.
17. Taylor KJ, Buchin PJ, Viscomi GN, et al. Ultrasono-



- graphic scanning of the pancreas: prospective study of clinical results. *Radiology*, 138:211-213, 1981.
18. Akuzawa M, Morizono M, Nagata K, *et al*. Changes of serum amylase, its isozyme fractions and amylase-creatinine clearance ratio in dogs with experimentally induced acute pancreatitis. *J Vet Med Sci*, 56:269-273, 1994.
 19. Lankisch PG, Koop H, Otto J, *et al*. Evaluation of methemalbumin in acute pancreatitis. *Scand J Gastroent*, 13:975-78, 1978.
 20. Lankisch PG, Schirren CA, Otto J. Methemalbumin in acute pancreatitis: an evaluation of its prognostic value and comparison with multiple prognostic parameters. *Am J Gastroenterol*, 84:1391-1395, 1989.
 21. Simpson KW. Current concepts of the pathogenesis and pathophysiology of acute pancreatitis in the dog and cat. *Comp Cont Ed*, 15:247-253, 1993.
 22. Parent J. Effect of dexamethasone on pancreatic tissue and on serum amylase and lipase activities in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 180:744-746, 1982.
 23. Polzin DJ, Osborne CA, Stevens JB, *et al*. Serum amylase and lipase activities in dogs with chronic primary renal failure. *Am J Vet Res*, 44:404-410, 1983.
 24. Miyagawa S, Makuuchi M, Kawasaki S, *et al*. Serum Amylase elevation following hepatic resection in patients with chronic liver disease. *Am J Surg*, 171:235-238, 1996.
 25. Northam BE. Methemalbumin in the differential diagnosis of acute hemorrhagic and edematous pancreatitis. *Lancet*, 1:348, 1963.
 26. Doust BD. Ultrasonic examination of the pancreas. *Radiol Clin North Am*, 13:467-478, 1975.
 27. Doust BD, Pearce JD. Gray-scale ultrasonic properties of the normal and inflamed pancreas. *Radiology*, 120: 653-657, 1976.
 28. Duncan JG, Invie CW, Blumgart LH. Ultrasound in the management of acute pancreatitis. *Br J Radiol*, 49: 858-862, 1976.
 29. Murtaugh RJ, Herring DS, Jacobs RM, *et al*. Pancreatic ultrasonography in dogs with experimentally induced acute pancreatitis. *Veterinary Radiology*, 26:27~32, 1985.
 30. Murtaugh RJ, Jacobs RM, Sherding RG, *et al*. Serum pancreatic polypeptide and amylase concentrations in dogs with experimentally induced acute pancreatitis. *Am J Vet Res*, 46:654-656, 1985.
 31. Nyland TG, Mulvany MH, Strombeck DR. Ultrasonic features of experimentally induced, acute pancreatitis in the dog. *Vet Rad*, 24:260-266, 1983.
 32. Hirano T, Manabe T, Tobe T. Effect of urinary trypsin inhibitor on pancreatic cellular and lysosomal fragility in cerulein-induced acute pancreatitis in rats. *Dig Dis Sci*, 38:660-664, 1993.
 33. Bass VD, Hoffmann WE, Dorner JL. Normal canine lipid profiles and effects of experimentally induced pancreatitis and hepatic necrosis on lipids. *Am J Vet Res*, 37:1355-1357, 1976.
 34. Kitchell BE, Strombeck DR, Cullen J, *et al*. Clinical and pathologic changes in experimentally induced acute pancreatitis in cats. *Am J Vet Res*, 47:1170-1173, 1986.
 35. Schmidt H, Lankisch PG. Fat necrosis - a cause of pancreatic parenchymal necrosis? *Digestion*, 17:84-91, 1978.
 36. Jacobs RM, Murtaugh RJ, DeHoff WD. Review of the clinicopathological findings of acute pancreatitis in the dog: use of experimental model. *J Am Ani Hos Assoc*, 21:795-800, 1985.
 37. Strombeck DR, Wheeldon E, Harrold D. Model of chronic pancreatitis in the dog. *Am J Vet Res*, 45:131-136, 1984.
 38. Hiatt N. Investigation of the role of the small intestine in the maintenance of serum amylase level of the dog. *Ann Surg*, 154:864-873, 1961.
 39. Drazner, FH. Diseases of the pancreas. In Johnes BD, ed *Canine and feline gastroenterology*. WB Saunders company, 295, 1986.
 40. Rapp JP. Normal values for serum amylase and maltase in dogs and the effect of maltase on the saccharogenic method of determining amylase in serum. *Am J Vet Res*, 23:343-350, 1962.
 41. Hudson EB, Strombeck DR. Effects of functional

- nephrectomy on the disappearance rate of canine serum amylase and lipase. *Am J Vet Res* , 39:1316-1321, 1978.
42. George JW. Methemalbumin : Reality and Myth. *Veterinary Clinical Pathology* , 17:43~46, 1988.
 43. Walberg CB, Geokas MC, Rindermecht H. Determination of serum methemalbumin. *Clinica Chimica Acta* , 48:229-232, 1973.
 44. Hancke S. Ultrasonic scanning of the pancreas. *J Clin Ultrasound* , 4:223-230, 1976.
 45. Jeffrey RB. Sonography in acute pancreatitis. *Radiol Clin North Am* , 27:5-17, 1989.
 46. Lawson TL. Sensitivity of pancreatic ultrasonography in the detection of pancreatic disease. *Radiology* , 128: 733-736, 1978.
 47. Lempinen M, Schroder T. Diagnosis of acute pancreatitis. *Eur Surg Res* , 18:230-237, 1986.
 48. Cox KL, Ament ME, Sample WF, *et al* . The ultrasonic and biochemical diagnosis of pancreatitis in children. *J Ped* , 96:407-411, 1980.
 49. Kleine LJ, Hornbuckle WE. Acute pancreatitis: The radiographic finding in 182 dogs. *J Am Vet Rad Soc* , 19:102-106, 1978.
 50. O'Brien TR. Liver, spleen, pancreas. In *Radiographic diagnosis of abdominal disorders in the dog and cat* . Philadelphia, WB Saunders, 396~480, 1978.
 51. Lamb CR, Vetmb MA, Simpson KW. Ultrasonographic findings in cholecystokinin-induced pancreatitis in dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound* , 36:139-145, 1995.
 52. Leopold GR. Echographic study of the pancreas. *JAMA* , 232:287-289, 1975.
 53. Leopold GR. Pancreatic echography : a new dimension in the diagnosis of pseudocysts. *Radiology* , 104:365, 1972.
 54. Kleine LJ. Clinical and radiographic aspect of acute pancreatitis in the dog. *Compend Cont Educ Pract Vet* , 2:295-299, 1980.
-