

실험적 담도폐색에 의한 혈액화학치의 변화

이해범 · 이병곤* · 전승기** · 김남수¹

전북대학교 수의과대학, Post-BK21, 생체안전성연구소

*신흥동물병원, **와우동물병원

(게재승인: 2008년 9월26일)

Changes of Blood Chemistry by Experimental Cystic Duct Obstruction

Hae-Beom Lee, Byung-Gon Lee*, Seung-Ki Chon**, Nam-Soo Kim¹

College of Veterinary Medicine, Brain Korea 21, Bio-Safety Research Institute,

Chonbuk National University, Jeonju, 561-756, Korea

*Shinpung Animal Clinic, **Wow Animal Clinic

Abstract : The aim of this study was to establish an experiment animal model for easy diagnosis and monitoring effect of treatment of cholelithiasis by cholesterol and mixed gall stone. In 12 adult beagle dogs, five dogs there were in the control group and seven dogs in the experiment group with ligated cystic duct. General clinical signs were recorded, CBC and blood chemistry were examined. Control group and experiment group were evaluated every 2 weeks for a period of 20 weeks. The results were (1) Total bilirubin, cholesterol, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) activity were significantly higher in the experiment group with ligated cystic duct than control group during 2-8 weeks. (2) Total alkaline phosphatase (TALP) activity was significantly higher when compare with control group during 2-8 weeks. Bone alkaline phosphatase(BALP) activity was increased slightly between 2 and 8 weeks but was decreased between 10 and 20 weeks. (3) Blood urea nitrogen (BUN) was decreased between 2 and 8 weeks. After 10 weeks, this was in normal range. (4) On complete blood count (CBC), Ca²⁺ and P were not changed until 20 weeks. (5) On clinical signs in experimental group, they observed a depression, yellow color of mucus membrane and conjunctiva, xanthinuria and xanthochromic. The present study showed that the experimental animal model with ligated cystic duct was a useful model to study biliary tract disease.

Key words : cystic duct, cholelithiasis, blood chemistry, animal model.

서 론

담즙은 간에서 형성되어 담낭에서 농축된 후 음식물이 위를 거쳐 십이지장으로 들어올 때 담관을 통하여 십이지장으로 배출되어 소화를 돕는다. 담석은 담즙의 구성성분이 딱딱한 형태로 굳어져 제 기능을 못하는 것을 말하는데 이러한 담석은 일반적으로 담낭관 또는 총담관으로 이동하여 폐색 또는 염증을 일으키며 복통, 발열 그리고 황달 등의 특징적인 증상이 나타나는 것으로 알려져 있다(1,3,7).

담도계의 질환은 담낭의 수, 크기와 모양 등이 이상적으로 나타나는 선천적 기형과 담즙성분의 응집이나 증식에 의해 형성되는 담석증으로 담도폐색이나 담관 폐색의 주원인으로 작용하거나 혹은 담낭내 담석에 의한 급, 만성 담낭염증 등

을 일으키는 것으로 알려져 있다(1,10,13). 담석은 크게 세가지 형태로 콜레스테롤담석과 혼합석 그리고 색소담석으로 나뉘는데 콜레스테롤담석과 혼합석이 약 80%로 이들은 콜레스테롤 모노하이드레이트와 칼슘염,담즙산,담즙색소,단백질,지방산,인지질 등의 복합물로 구성되어 있으며, 색소담석은 약 20%를 차지하며 그 대부분이 칼슘빌리루빈산으로 이루어져 있으며 콜레스테롤의 함유량은 10%미만이다(1,9,10,13).

담석증은 우리나라에서 흔한 질병으로 그 동안 주로 발병한 색소성 담석증에 대한 연구는 매우 활발한 이루어지고 있다. 반면에 최근 우리나라에서도 음식문화와 생활 방식의 변화로 그 발병률이 증가하고 있는 콜레스테롤 담석 및 혼합석에 대한 연구는 상대적으로 미미하다.

따라서 본 연구는 콜레스테롤 담석 및 혼합석에 의한 담석증의 쉽고 정확한 접근진단과 치료를 위한 질환 동물 모델의 개발을 위하여 실시하였다. 질환동물 모델은 총 12두의 개를 이용하였고 이 중 7두의 개에서 담낭관을 결찰 폐색

¹Corresponding author.
E-mail : namsoo@chonbuk.ac.kr

시켰으며 일반 혈액검사와 혈청 생화학검사, 그리고 임상증상을 중점적으로 관찰하였다.

재료 및 방법

실험동물

체중 15 kg 내외(12~17 kg), 나이 10-15개월령(10개월령: 5, 15개월령: 7)의 비글견 12두(M:7, F:5)를 공시 동물로 사용하였으며 실험 시작 전 구충제를 투여하고 1개월 기초 사육 후 임상검사, 혈액 및 혈액 화학 검사를 통하여 건강상태를 체크하였다. 기초 사육기간과 실험기간 동안 하루 3회 일반 개 사료를 급여하며 사육 하였다.

실험군 분류

실험군은 2개군으로 특별히 암수 구분은 하지 않고 Table 1에서와 같이 I군은 대조군으로 담낭관까지 노출 시킨 후 봉합한 가장 수술군 5두를, II군은 실험군으로 담낭관을 노출 시킨 후 나이론사를 사용하여 담낭관을 결찰 폐색시킨 7두를 이용하였다(Table 1).

각 군은 일반혈액검사와 혈액화학검사 그리고 임상검사를 일주일 간격으로 3회 실시하여 정상 범위를 확인하고 이를 실험 전 대조치로 하였다.

실험군의 처리

마취

전마취제로 atropine sulfate 0.05 mg/kg을 피하 주사한 후 10분후에 thiopental sodium 25 mg/kg을 도입마취제로 정맥 내 주입한 다음 기관 튜브를 삽관하고 흡입 마취기(Royal 77, Royal medical co. korea)에 연결하여 0.5-2%의 halothane으로 유지 마취를 실시하였다.

시술

실험 I군, 실험 II군 모두 복부를 삭모 소독한 후 정중선 절개하고 I군은 담낭관을 단순 노출 시킨 다음 다시 봉합하였으며 II군은 I군과 동일한 방법으로 담낭관을 노출 시킨 후 1호, 나이론사를 사용하여 담낭관(cystic duct)을 결찰 폐색 시켰다(Fig 1 and 2). 두 군 모두 연부조직은 흡수성 봉합사로, 피부는 견사를 사용하여 봉합하였다.

시술의 전 과정은 무균 조작 하에 실시하였으며, 각 항목의 측정치는 실험 전과 시술 후 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20주 동안 실시하였다.

일반 혈액검사

일반 혈액검사는 EDTA 채혈병에 경정맥에서 0.5 ml 채혈하여 자동혈액 분석기(Minos vet. ABX co. France)를 사용하여 RBC, PCV, Hb, MCV, MCH, MCHC, WBC, PLT 등을 측정 하였다.

Table 1. Experimental design

Group	Contrast techniques	Heads
I	control (Sham operation)	5
II	cystic duct obstruction	7
Total		12

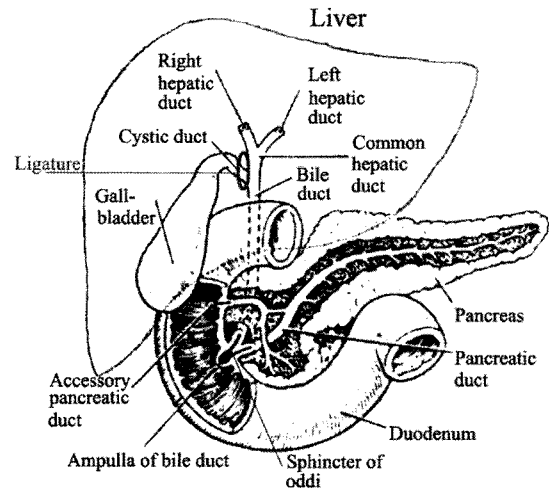


Fig 1. Schematic diagram of ligature site for cystic duct obstruction.



Fig 2. Operation of the cystic duct obstruction.

혈액 생화학적 검사

혈액 생화학적 검사는 경정맥에서 항응고제를 처리하지 않은 튜브에 채혈한 다음 원심분리하여 혈청을 얻었다. 그 중 일부는 자동혈액화학 분석기(Spotocam™ SP-4410, Daiichi kagaku co. Japan)를 사용하여 total bilirubin, glucose, total cholesterol, Blood urea nitrogen (BUN)을 측정 하였으며 alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), Ca, P, creatine등은 측정 시액(Sigma chem. co. U.S.A.)과 분광광도계(Spetronic 601, Milton roy co. U.S.A.) 사용하여 비색법으로 분석 하였다.

Total alkaline phosphatase의 측정

Total alkaline phosphatase (TALP)의 측정은 p-nitro-phenylphosphate를 기질로 하여 ALP의 발색 정도를 보는 Bessey-Lowry법에 따랐다.

준비된 혈청을 -4°C에서 24시간 해동하여 사용하였다. stock substrate sol. (p-nitrophenylphosphate: Sigma chem. co. U.S.A.) 0.5 ml와 alkaline buffer Sol.(2-Amino-2- methyl-1-propanol: Sigma chem. co. U.S.A.) 0.5 ml를 혼합하고, 혈청 0.1 ml를 첨가하여 37°C에서 30분간 incubation 하였다. 이 용액에 0.05N NaOH 10 ml를 작용시켜 정색반응을 얻어 blank를 대조로 UV spectrophotometer (Spectino 601, milton roy co. U.S.A.)를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하고 이 용액에 HCl 0.2ml 첨가 혼합한 후 420 nm에서 흡광도를 측정하여 얻은 값을 뺀 수치를 TALP치로 하였다.

Bone alkaline phosphatase의 측정

alkaline phosphatase의 isoenzymes중에서 bone alkaline phosphatase (BALP)의 침전은 wheat germ agglutinin이 혈청내 BALP의 N-actylglucosamin과 결합하는 성질을 이용한 Behr 와 Barnert의 방법에 따랐다.

혈청은 -4°C에서 24시간 해동하고, lectin sol.은 wheat-germ agglutinin (Triticum vulgare wheat germ lectin. Sigma chem. co. U.S.A.)을 5 g/L의 비율로 희석하여 제작하였다. Triton-X 100 Sol.은 Triton-X surfactant (Sigma chem. co. U.S.A.)를 20 g/L의 비율로 희석하여 준비하였다. 준비된 혈청 50 µl에 동량의 lectin sol.을 첨가한 뒤 37°C, 30분간 incubation 하고, 이 용액에 triton-X 100 Sol. 5 µl를 첨가하여 잘 혼합하여 37°C, 30분간 다시 incubation 하였다. 이렇게 제작한 serum mixture를 2000 g 에서 15분간 원심분리하여 상청액과 침전물로 분리하였다. 침전물에는 혈청내에 존재하는 BALP가 wheat germ agglutinin과 결합하여 있는 것으로 알려져 있다. 상청액을 취하여 TALP의 측정법과 동일한 방법으로 ALP의 활성을 측정하였다. BALP는 TALP에서 상청액의 ALP치를 빼고 남은 값으로 하였다.

통계처리

실험결과와 통계처리는 student's t-test로 하였으며, p-value 0.05를 유의한 차이의 한계로 하였다. 실험결과와 표현은 Mean ± S.D. 로 하였으며 평균에 대한 산포도의 신뢰도는 변이계수(CV: coefficient of variability)로 검증하였다.

실험 결과

실험기간 동안 체온, 심박수 및 호흡수 등의 일반 임상 증상은 대조군과 실험군간에 유의한 차이의 변화를 관찰할 수 없었으며 전 실험기간 동안 두 군 모두 정상 범위내의 변화를 보였다.

일반 혈액검사 소견

총 백혈구수는 대조군과 실험군에서 모두 초기에 증가하여 시간 경과에 따라 대조군에서는 실험 전 10.06 ± 0.61 (× 10³/mm³)에서 2주에 13.16 ± 1.21 (× 10³/mm³)로 30.8% 증가하였다가 4주에 정상 범위내로 돌아온 반면, 실험군에서는 실험 전 10.04 ± 1.04 (× 10³/mm³)에서 27.81 ± 2.52 (× 10³/mm³)로 177% 증가 하여 그 상태를 유지 하다가 14주에 15.84 ± 1.91 (× 10³/mm³) 로 다시 정상 범위 내를 유지 하였다. 대조군에 비하여 담낭관 폐쇄군이 조금 늦게 정상범위로 돌아가는 경향을 나타내었다. 실험 군내에서 시간 경과에 따른 변화는 유의성 있는 차이를 보였으나(p < 0.05) 두 군간의 유의성 차이는 관찰할 수 없었다.

또한 PCV 및 Hb과 RBC, MCV, MCH, MCHC 그리고 PLT 모두 대조군과 실험군에서 유의한 차이를 보이지 않았으며 실험기간 동안 정상범위내의 변화를 보였다.

혈액 생화학적 검사 소견

가. Total bilirubin

실험군에서 담낭관 폐쇄 전 1.77 ± 0.01(mg/dl)에서 폐쇄 후 2, 4, 6, 8, 10주에 3.95 ± 0.20(mg/dl), 3.95 ± 0.17(mg/dl), 3.99 ± 0.08(mg/dl), 3.97 ± 0.11(mg/dl), 3.87 ± 0.17(mg/dl)로 현저히 증가된 소견을 보였으며(p < 0.01), 10주 이후 20주 까지도 그 상태를 유지하여 유의성 있는 변화를 관찰할 수 있었다(Table 2).

나. Total cholesterol

실험군에서 담낭관 폐쇄 전 152.71 ± 2.98에서 폐쇄 후 2주에 270.0 ± 10.89(mg/dl)로 76.8% 증가하여 8주에 289.42 ± 14.55(mg/dl)로써 최고치를 보이다가 12주에 183.57 ± 10.43(mg/dl)로 감소된 소견을 보였으나 12주에서 20주까지는 폐쇄 전에 비하여 평균 14.36% 증가를 보였다 (p < 0.05). 두 군 모두 0.2 ~ 3.0범위의 증감을 나타내면서 유의성 있는 변화를 관찰 할 수 있었다(Table 2).

다. ALT

실험군에서 담낭관 폐쇄 전 22.28 ± 1.11(IU/l)에서 폐쇄 후 2, 4, 6, 8, 10주에 380.71 ± 20.59(IU/l), 405.57 ± 28.44(IU/l), 408.14 ± 14.18(IU/l), 406.57 ± 16.69(IU/l), 390.42 ± 10.58(IU/l)로 현저히 증가된 소견(p < 0.01)을 보였으며 10주 이후 점점 감소하여 20주에는 50.28 ± 3.40(IU/l) 나타내었다. 매우 유의성 있는 변화를 관찰할 수 있었다(Table 2).

라. AST

실험군에서 담낭관 폐쇄 전 16.57 ± 0.78(IU/l)에서 폐쇄 후 2, 4, 6, 8, 10주에 279.14 ± 20.16(IU/l), 304.85 ± 26.56(IU/l), 307.14 ± 15.43(IU/l), 309.28 ± 20.12(IU/l), 288.28 ± 8.32(IU/l)로 현저히 증가된 소견을 보였으며(p < 0.05), 10주 이후 점점 감소하여 20주는 41.71 ± 5.820를 나타내었다(Table 2).

Table 2. Changes of cholesterol, bilirubin, BUN, AST and ALT after treatment of sham operation and cystic duct obstruction

Group/ Week	Before	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
T-chol	148.6 ± 3.0	148.6 ± 2.7	150.0 ± 4.2	149.2 ± 4.4	150.6 ± 2.9	150.6 ± 3.8	150.6 ± 4	150.6 ± 3.8	150.4 ± 4.2	148.6 ± 3.2	150.2 ± 3.3
T-bil	1.73 ± 0.01	1.73 ± 0.02	1.72 ± 0.01	1.73 ± 0.01	1.74 ± 0.02	1.73 ± 0.02	1.74 ± 0.02	1.74 ± 0.01	1.74 ± 0.01	1.74 ± 0.02	1.74 ± 0.02
I BUN	15.8 ± 0.8	15.6 ± 0.9	15.6 ± 0.5	15.8 ± 0.4	15.6 ± 0.9	16.2 ± 0.8	16.8 ± 0.4	16.2 ± 0.8	15.8 ± 0.8	16.4 ± 0.5	15.6 ± 0.5
AST	15.0 ± 0.7	15.8 ± 0.8	16.0 ± 0.7	15.4 ± 0.5	15.4 ± 0.9	15.4 ± 0.9	15.4 ± 0.5	15.8 ± 0.8	15.4 ± 0.5	15.4 ± 0.5	16.0 ± 0.7
ALT	20.0 ± 0.7	20.8 ± 0.8	21.2 ± 1.0	20.4 ± 0.5	20.6 ± 1.1	20.4 ± 0.9	20.4 ± 0.5	20.8 ± 0.8	20.6 ± 0.5	20.4 ± 0.4	21.2 ± 0.4
T-chol	152.7 ± 3.0	270.0 ± 11.0	276.0 ± 11.0	283.0 ± 13.0	289.0 ± 15.0	280.0 ± 17.0	183.0 ± 10.0	178 ± 10.0	171.0 ± 4.2	172.0 ± 3.4	167.0 ± 4.2
T-bil	1.78 ± 0.01	3.96 ± 0.02	3.95 ± 0.18	3.99 ± 0.08	3.96 ± 0.11	3.87 ± 0.18	2.77 ± 0.15	2.15 ± 0.2	2.04 ± 0.08	2.02 ± 0.05	1.99 ± 0.03
II BUN	16.7 ± 1.0	14.4 ± 1.0	13.6 ± 1.0	12.9 ± 0.9	12.4 ± 1.1	12.7 ± 1.1	12.7 ± 1.1	12.6 ± 1.1	12.7 ± 1.1	12.4 ± 0.8	12.9 ± 0.7
AST	16.6 ± 0.8	279.0 ± 20.0	304.0 ± 27.0	307.0 ± 15.0	309.0 ± 20.0	288.0 ± 8.3	143.0 ± 30.0	84.0 ± 12.0	66.0 ± 8.3	51.0 ± 8.3	42.0 ± 5.9
ALT	22.3 ± 1.1	380.1 ± 21.0	405.0 ± 28.0	408.0 ± 14.0	406.0 ± 17.0	390.0 ± 11.0	196.0 ± 13.0	93.0 ± 5.3	75.0 ± 7.0	59.0 ± 5.7	50.0 ± 3.4

* I: sham operation group, II: cystic duct obstruction group
 ** Unit : T-cho (mg/dl), Bil (mg/dl), BUN (mg/dl), AST (IU/L) ALT (IU/L)

Table 3. Changes of calcium and phosphorus after treatment of sham operation and cystic duct obstruction

Group/Week	Before	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
I calcium	9.76 ± 0.2	9.80 ± 0.1	9.88 ± 0.1	9.78 ± 0.1	9.80 ± 0.2	9.76 ± 0.5	9.78 ± 0.1	9.82 ± 0.1	9.80 ± 0.1	9.84 ± 0.1	9.80 ± 0.1
Pi	4.36 ± 0.1	4.34 ± 0.1	4.36 ± 0.1	4.34 ± 0.2	4.28 ± 0.1	4.32 ± 0.1	4.34 ± 0.1	4.34 ± 0.1	4.30 ± 0.1	4.34 ± 0.2	4.32 ± 0.1
II calcium	10.1 ± 0.2	9.90 ± 0.2	9.90 ± 0.2	9.88 ± 0.2	9.90 ± 0.2	9.88 ± 0.2	9.90 ± 0.2	9.90 ± 0.2	9.87 ± 0.1	9.87 ± 0.2	9.85 ± 0.2
Pi	4.87 ± 0.1	4.84 ± 0.1	4.84 ± 0.1	4.84 ± 0.1	4.82 ± 0.1	4.75 ± 0.1	4.82 ± 0.1	4.85 ± 0.1	4.84 ± 0.1	4.87 ± 0.1	4.88 ± 0.1

*I: sham operation group, II: cystic duct obstruction group
 **Unit : Ca (mg/dl) Pi (mg/dl)

마. BUN

실험군에서 담낭관 폐쇄 전 16.71 ± 0.95(mg/dl)에서 폐쇄 후 2, 4, 6, 8주에 14.42 ± 0.97(mg/dl), 13.57 ± 0.97(mg/dl), 12.85 ± 0.89(mg/dl), 12.42 ± 1.13(mg/dl)로 점점 감소하다($p < 0.05$)가 10주 이후 20주 까지 그 상태를 유지하였다(Table 2).

바. Ca

실험군에서 담낭관 폐쇄 전 10.05 ± 0.19(mg/dl)에서 폐쇄 후 2주에 9.9 ± 0.16(mg/dl)을 나타내어 20주까지 유의성 있는 변화를 인정할 수 없었다(Table 3).

사. P

실험군에서 담낭관 폐쇄 전 4.87 ± 0.07(mg/dl)에서 폐쇄 후 2주에 4.84 ± 0.13(mg/dl)을 나타내어 20주까지 유의성 있는 변화를 인정할 수 없었다(Table 3).

아. TALP의 변화

담낭관을 폐쇄시킨 실험군에서 폐쇄 전 49.17 ± 4.06 IU/L에서 폐쇄 후 2주에 286.97 ± 55.13 IU/L로 증가하여 483.62%의 가장 높은 증가율을 나타내고($p < 0.01$), 그 후 8주까지 감소하는 경향을 나타냈으나 8주 이후에는 100 IU/L에서 103 IU/L의 범위 안에서 105-108%의 증가율로써 일정한 수준을 유지하고 있었다. 대조군에서는 시술 전 51.47 ± 3.4 IU/L 이었으며 시술 후 8주까지는 56-77 IU/L의 범위를 나

타내어 8-50%의 증가율을 나타내었고 8주에서 20주까지는 56 IU/L에서 59 IU/L의 범위를 나타내어 5%내외의 증가율을 나타내고 있었다. 이러한 변화는 담낭관 폐색군인 실험군과 담낭관을 폐쇄하지 않은 대조군 사이에서 유의성 있는 차이($p = 0.01$)가 인정되었다(Table 4).

자. BALP의 변화

담낭관을 폐쇄시킨 실험군에서 폐쇄 전 17.1 ± 9.9 IU/L에서 폐쇄 후 2주에 21.8 ± 7.6 IU/L로 27.5%의 증가율을 나타냈으나 4주 이후에는 15.8 IU/L에서 24.4 IU/L의 범위 안에서 일정한 수준을 유지하고 있었다. 대조군에서는 시술 전 18.2 ± 0.2 IU/L 이었으며 시술 후 2주에서 20주까지 17.2-24.0 IU/L의 범위를 나타내고 있었다. 그러나 이러한 변화들은 두 군간에 유의성 있는 변화를 인정할 수 없었다(Table 5).

차. TALP치에 대한 BALP치 백분율(B/T)의 변화

대조군의 B/T는 시술 전 35.3 ± 0.1%가 시술 후 4주까지 감소되었다가 8주에 42.9 ± 1.92%로 21.5%까지 증가하였으나 14주부터는 다시 감소하고 있었다.

담낭관을 폐쇄시킨 실험군에서는 시술 전의 34.7 ± 2.41%가 시술 후 2주에 44.8 ± 0.28%로 79.1%까지 감소하였으나 8주 이후에는 41.2%에서 54.6%의 범위에서 일정한 감소율을 나타내고 있었다(Table 6).

Table 4. Changes of TALP activities after treatment of sham operation and cystic duct obstruction, union fracture and non-union fracture (IU/L)

Group/Week	Before	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
I*	51.47	77.02	76.6	63.06	55.7	57.15	56.82	58.24	58.91	58.6	59.19
(± SD)	3.4	4.6	3.6	8.1	3.8	3.5	2.9	3.9	2.7	3.1	3.9
CV**	6.60	5.97	4.70	12.83	6.82	6.52	5.11	6.70	4.58	5.29	6.59
II	49.17	286.2	212.0	173.0	103.0	101.0	100.0	101.1	101.0	102.0	102.0
(± SD)	4.1	55.1	13.1	9.8	9.7	7.0	8.6	7.2	7.6	2.8	8.1
CV	8.33	19.25	6.18	5.66	9.42	6.93	8.60	7.12	7.52	2.75	7.94

* I: sham operation group, II: cystic duct obstruction group **CV : Coeffiency of variability

Table 5. Changes of BALP activities after treatment of sham operation and cystic duct obstruction (IU/L)

Group/Week	Before	2	4	6	8	10	12	14			
I*	18.19	23.74	24.03	23.54	23.49	23.28	21.74	18.71	17.15	17.41	18.47
(± SD)	0.2	2.9	6.8	7.5	7.3	3.8	6	4.1	3.2	2.6	3.0
CV**	1.10	12.23	28.33	31.9	31.06	16.31	27.65	21.93	18.6	14.94	16.21
II	17.08	21.84	24.35	22.23	21.55	19.47	17.41	17.17	15.79	15.78	16.02
(± SD)	9.9	7.6	10.0	8.0	9.3	4.9	3.9	6.2	8.7	9.1	9.6
CV	57.89	34.86	41.39	36.04	43.06	25.13	22.41	36.05	55.06	57.59	60.0

*I: sham operation group, II: cystic duct obstruction group ** CV: coeffiency of variability

Table 6. Percentage of BALP/TALP values after treatment with sham operation and cystic duct obstruction (%)

Group/Week	Before	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	
I*	B/T**	35.3 ± 0.06	29.9 ± 0.63	3.12 ± 1.89	38.1 ± 0.93	42.9 ± 1.92	40.4 ± 1.09	38.6 ± 2.07	32.8 ± 1.05	28.8 ± 1.19	28.8 ± 0.84	30.5 ± 0.77
	CV***	0.17	2.11	6.06	2.44	4.48	2.70	5.36	3.20	4.13	2.92	2.52
II	B/T	34.7 ± 2.41	7.3 ± 0.14	11.3 ± 0.77	12.7 ± 0.82	20.4 ± 0.96	19.8 ± 0.7	17.0 ± 0.45	16.8 ± 0.86	15.8 ± 1.14	15.7 ± 3.25	15.7 ± 1.19
	CV	6.95	1.92	6.81	6.46	4.71	3.54	2.65	5.12	7.22	20.70	7.58

*I: sham operation group, II: cystic duct obstruction group

** Ba/Ta(%) : BALP/TALP × 100

*** CV : Coeffiency of variability

각 평균치에 대한 산포도의 신뢰성

두 군에서 측정된 평균치에 대한 CV는 B/T가 3.77%로 평균치의 산포도에 대한 가장 높은 신뢰도를 나타냈으며 TALP가 5.96%로 나타났으나 BALP치는 20.79%로 낮은 신뢰도를 나타내고 있었다.

CV는 대조군에 비하여 실험군에서 B/T는 대조군이 3.20 ± 1.60%보다 5.48 ± 1.93%로 조금 높은 신뢰도를 나타내었으며 TALP에서는 6-8%수준에서 유사하게 나타났다. 그러나 BALP는 대조군에 비하여 실험군이 매우 낮은 신뢰도를 나타내고 있었다.

임상 증상

담낭관을 폐색한 실험군에서는 시술 후 침울 증상을 나타내었고 결막 및 가지점막의 황색변화와 뇨의 암갈색 변화 그리고 분변색에 있어서도 짙은 황갈색 변화를 보였다. 시간이

경과함에 따라 식욕 부진과 체중 감소 등을 보이다가 12주 이후에는 거의 정상 상태로 회복되었다.

그러나 대조군에서는 실험기간 동안 체온, 심박수 및 호흡수 등의 일반 임상증상은 각 실험군간에 차이를 관찰할 수 없었으며 전 실험기간 동안 정상 범위 내의 변화를 나타냈다.

고 찰

담석증은 우리나라에서 발생하는 가장 흔한 질병의 하나로 알려져 있으며 담관암이나 담도 질환 역시 빈번하게 발생하는데 이러한 간, 담도 질환의 발병 기전 및 진단 그리고 치유 과정의 연구를 위해서는 필연적으로 질환 동물모델의 확립이 필수적이다. 그 동안 간, 담도질환 및 담석증 연구는 주로 발병률이 높아왔던 색소성 담석증에 대한 연구가 주종을 이루어 왔다. 최근 우리나라에서도 음식문화와 생활 방식

의 변화로 담석증의 양상이 크게 달라졌다는 여러 보고가 있다(18,21,23). 따라서 본 연구에서는 콜레스테롤 담석 및 혼합석에 의한 담석증의 쉽고 정확한 접근진단과 치료를 위한 질환 동물 모델의 개발을 위하여 실시하였다. 이를 위한 질환 동물 모델은 총 12두의 개를 이용하였고 이 중 7두의 개에서 담낭관을 결찰 폐색 시켰으며 일반 혈액검사와 혈청 생화학검사, 그리고 임상증상을 중점적으로 관찰하였다.

ALP (alkaline phosphatase)는 알칼리성 pH에서 인산화합물을 가수분해하는 효소이다. ALP의 역할은 아직 충분히 밝혀지지 않았으나 골조성이나 영양소 등의 운반에 관여하는 것으로 알려져 있으며 거의 모든 장기에 함유되어 있다(17,20,25). 혈중 ALP는 보통 간이나 골, 태반, 소장에서 유출되는 것으로 간을 경유하여 담즙으로 배설된다. 따라서 ALP를 측정하면 간에서 십이지장에 이르는 담즙의 유출경로에 이상이 있는가를 알 수 있고 골의 새로운 형성 상태나 간기능, 태반기능의 정상 여부를 알 수 있다. 여러 장기를 통해서 배출되는 ALP는 어느 특정한 부위의 기능과 분리하여 진단되어야 할 필요성이 있다. 이 실험은 단순히 담낭관까지 접근 노출 후 피부를 봉합한 대조군과 담낭관을 결찰 폐색시킨 실험군 사이의 결과에서 BALP치는 유의성 있는 변화를 인정할 수 없었으나 TALP치는 유의성 있는 변화를 나타내고 있었다. 특히 담낭관을 폐색시킨 실험군에서 TALP치가 2주에서 6주 사이에 정상치의 483%에서 252%까지 높은 증가율을 나타내고 있었으며 TALP치 또한 매우 높게 증가되고 있음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 담낭관을 폐색한 실험군에서 담낭 폐색시에 나타나는 황달, 침울, 식욕 부진, 구토, 뇨색의 변화 등 일반적인 임상증상이나 혈액 화학검사에서 나타난 cholesterol, bilirubin, ALT, AST의 증가는 많은 연구자들이 보고한(2,6,15,24) 담낭관 폐색시의 결과와 유사한 경향을 나타내고 있었다. 따라서 담낭폐쇄와 같은 질병에 있어서 TALP치는 bilirubin, cholesterol, ALT, AST 등과 함께 매우 의미가 있음을 시사해 주고 있으며 이러한 사실은 여러 연구자들에 의해서 발표된 결과와 일치하고 있다(26). 또한 대조군에서 B/T가 시술 전후에 큰 변화가 없는데 반하여 실험군에서는 시술 전에 비하여 시술 후에 매우 낮은치를 나타내므로서 BALP외의 다른 효소가 증가되었음을 입증하고 있다. 본 실험에 있어서 실험 시작 2주 이후부터 10주에 이르는 결과를 관찰했을 때에도 담즙의 생성 분비에 직접 관련이 있는 빌리루빈과 콜레스테롤 등은 이 기간 동안 매우 유의성 있게 증가한 반면 12주 이후 20주까지는 상승한 상태를 유지 하는 정도의 변화만 보일뿐 뚜렷하게 상승하는 양상을 보이지는 않았다. 이러한 점으로 미루어 볼 때 담낭관 폐색이 이루어진 후 폐색 부위가 결찰 봉합에 의한 일반적 치유가 이루어진 다음에는 간에서 생성 담즙은 담낭을 거치지 않고 총담관에 다다를 것으로 생각된다. 이후의 담즙은 십이지장 담관 개구부에 직접 분비를 하는 것으로 추정된다. 이러한 결과는 담낭관 결찰을 한 본 실험동물들은 시간이 경과함에 따라 담낭관 폐색에 따른 일차적 문제점을 대상작용과 체내 적응력 등으로 일정 시간 이후에는

극복하는 것으로 생각된다.

간, 담도질환 검사 시 가장 먼저 확인하게 되는 항목으로는 빌리루빈을 들 수 있다. 황달이 발생하는 경우는 혈청 속에는 간세포 중에서 글루쿠론산 포합을 받은 직접형 빌리루빈이 증가하게 된다. 또한, 담즙의 다양한 성분 중 하나인 특히 알카린 포스파타제 혈중치의 상승도 특징이다. 그 때문에, 직접형 빌리루빈치의 측정은 황달의 원인과 종류를 진단하는 결정적인 검사법으로 알려져 있다. 본 연구에 있어서도 실험군에 있어서 실험시작 2주 후 전신적인 황달증상과 함께 총 빌리루빈치가 급격히 증가하여 지금까지의 보고들과 일치하는 소견을 보였다(11,12,14).

AST와 ALT는 간의 이상에 민감하게 반응하는 효소로 간 질환의 검사에서 중요한 검사 항목이다. AST란 생체의 여러 가지 장기 세포 가운데 있는 효소로 몸의 중요 구성 요소인 아미노산을 형성하는 작용을 하는 것으로 알려져 있다(22). 정상적인 혈액 중에도 AST가 소량 존재하고 있으나 장기의 세포가 파괴되면 대량으로 존재하게 된다. 이 효소가 특히 많은 곳은 심장, 간, 근육, 적혈구이므로 이들 장기가 손상되는 경우는 혈청 AST가 상승한다. ALT도 AST와 마찬가지로 아미노산을 형성하는 효소의 하나이다. ALT 양은 AST에 비해 적고 ALT가 가장 많은 간에서도 AST의 약 1/3 정도인 것으로 알려져 있다(16). ALT는 간에 많이 함유되어 있으므로 간 특이성이라고 할 수 있어 간 담도 질환에 있어서 매우 유용성이 있는 진단 지표이다. 본 연구에 있어서도 실험군에 있어서 실험 시작 후 현저히 증가된 소견을 보였으며 10주 이후 서서히 감소하여 그 수치를 유지 하면서 20주까지 비슷한 양상을 나타내었다. 이것은 폐색성 황달에 있어서 AST, ALT 활성은 증가하는 것과 일치 하는 조건이다. 하지만 γ -GTP나 ALP 등의 담도계 효소나 빌리루빈 농도에 비하면 그리 많은 증가를 하는 것은 아닌 것으로 생각 된다. 혈청 총 콜레스테롤 측정은 간의 합성 분비 상태, 담도 폐색, 장관의 흡수상태나 영양상태, 지질대사 이상 등을 알고자 할 때 매우 유용한 지표일 뿐만 아니라 관상 동맥 질환 발생과 상관성이 있기 때문에 동맥경화의 위험성을 예지할 수 있다(4,5,8,19). 본 연구에 있어서도 총 콜레스테롤농도는 실험군에 있어서 담낭관 폐색 후 10주까지 급격히 상승하다가 12주 이후 서서히 증가하는 경향을 보였다. 담관폐색이나 담즙 울체시 배설장애에 따른 고콜레스테롤은 본 실험 결과와 일치 한다.

이상에서와 같이 최근 국내에서 급격한 증가 추세를 보이고 있는 콜레스테롤 담석 및 혼합석 담석의 질환 동물 모델 개발을 위한 본 실험은 매우 필요했으며 결국 본 실험을 통해 확인된 담낭관의 인위적 결찰을 통한 폐색 모델은 향후 담도 질환 동물모델로서 매우 유용성이 있을 것으로 기대된다.

결 론

콜레스테롤 담석 및 혼합석에 의한 담석증의 발병과정과 쉽고 정확한 진단 그리고 치유효과의 관정을 위한 질환동물

모델의 개발을 위하여 본 연구를 수행하였다. 총 12두의 개를 이용하여 5두를 대조군, 나머지 7두를 담낭관을 결찰하여 실험군으로 사용하였다. 일반적인 임상증상의 검토와 함께 혈액검사와 혈청 생화학 검사를 하였다. 대조군과 실험군은 2주 간격으로 20 주간 측정 하였으며 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 대조군에 비하여 실험군인 담낭관 폐색군에서는 total bilirubin, cholesterol, ALT, AST의 활성치가 실험 시작 후 2-8주 동안 매우 유의성 있게 증가하였으며, 증가한 상태가 20주까지 지속 되었다.

2) TALP의 활성치에서도 2-8주 사이에 현저히 증가 하였으며, 증가한 상태가 20주까지 지속되었다. BALP의 활성치는 2-6주 사이에 조금 증가 하였으나 10주 이후 20주까지 감소하였다.

3) BUN치는 2주부터 8주까지 감소하는 경향을 보이다가 10주 이후부터 20주까지 그 상태를 유지 하였다.

4) 일반 혈액 검사와 함께 Ca, P 등은 20주 동안 뚜렷한 변화를 관찰 할 수 없었다.

5) 임상 증상에 있어서는 시술 후 침울, 결막 및 가시점막의 황색변화, 뇨의 암갈색 변화 그리고 분변색에 있어서도 짙은 황갈색 변화를 보였다.

이상의 결과는 실험적으로 담낭관을 결찰 폐색 시킨 본 실험동물 질환 모델이 담도질환연구에 매우 유용성이 있는 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- Barr F, Barnet A. Disorders of bile acid metabolism in cholesterol gallstone disease. *J Clin Invest* 1992; 90: 589.
- Center S A, Castleman W, Roth L, Baldwin B H and Tennant B C. Light microscopic and electron microscopic changes in the livers of cats with extrahepatic bile duct obstruction. *Am J Vet Res* 1986; 47: 1278-1282.
- Chowdury JR, Chowdury NR. Unveiling the mysteries of inherited disorders of bilirubin glucuronidation. *Gastroenterology* 1993; 105: 288.
- DeNovo R C and Prasse K W. Comparison of serum biochemical and hepatic functional alterations in dogs treated with corticosteroids and hepatic duct ligation. *Am J Vet Res* 1983; 44: 1703-1709.
- Ebeling PR, Peterson JM, Riggs BL. Utility of type I procollagen propeptide assays for assessing abnormalities in metabolic bone disease. *J bone and mineral Res* 1992; 7: 1243-1258.
- Endo T. Bile acid metabolism in benign recurrent intrahepatic cholestasis. *Gastroenterology* 1979; 76: 1002.
- Fevery J. Unconjugated bilirubin and an increased proportion of bilirubin monoconjugates in the bile of patients with Gilbert's syndrome and Crigler-Najjar disease. *J Clin Invest* 1977; 60: 970.
- Hirano K, Matsumoto H, Tsuyoshi T. Specific assays for human alkaline Phosphatase isozymes. *Clin Chemica Acta* 1987; 166: 265-273.
- Holzbach RT. Biliary proteins, Unique inhibitors of cholesterol crystal nucleation in human gallbladder bile. *J Clin Invest* 1984; 72: 35.
- Hootegem PV. Serum bilirubins in hepatobiliary disease. Comparison with other liver function tests and changes in the postobstructive period. *Hepatology* 1985; 5: 112.
- Hori M, Takahashi H, Konno T. A classification of in vivo bone labels after double labeling in canine bones. *Bone* 1985; 6: 147-154.
- Klein L, Lafferty FW, Pearson OH. Correlation of urinary hydroxyproline, serum alkaline phosphatase and skeletal calcium turnover. *Metabolism* 1964; 13: 272-284.
- McLean FM, Keller PJ, Genge BR. Disposition of preformed mineral in matrix vesicles. *The journal of biological chemistry* 1987; 262(22): 10481-10488.
- Melkko J, Niemi S, Risteli L. Radioimmunoassy of the carboxyterminal propeptide of human type I procollagen. *Clin chem* 1990; 36(7): 1328-1332.
- Meyers WC. A prospective analysis of 1518 laparoscopic cholecystectomies. *N Engl J Med* 1991; 324: 1073.
- Monsigny M, Roche AC, Sene C. Sugar-lectin interaction: How does wheat-germ agglutinin bind sialoglycoconjugates? *Eur Biochem* 1980; 104: 147-153.
- Moss DW. Alkaline phosphatase isoenzyme. *Clin Chem* 1982; 10: 2007-2016
- Podda M. Efficacy and safety of a combination of dienoxycholic acid and ursodeoxycholic acid for gallstone dissolution. *Gastroenterology* 1989; 96: 222.
- Porayko MK. Patients with asymptomatic primary sclerosing cholangitis frequently have progressive disease. *Gastroenterology* 1990; 98: 1594.
- Price PA, Parthemore JG, Deftos LJ. New biochemical marker for bone metabolism. *J Clin Invest* 1980; 66: 878-883.
- Ransohoff DF. Assessment of prophylactic cholecystectomy and medical therapy for diabetics with silent gallstones. *Gastroenterology* 1987; 92: 1588.
- Ritter JK. Identification of a genetic alteration in the code for bilirubin UDP-glucuronosyl transferase in the UGT1 gene complex of a Crigler-Najjar type I patient. *J Clin Invest* 1992; 90: 150.
- Rosenthal P. Homozygous Dubin-Johnson syndrome exhibits a characteristic serum bilirubin pattern. *Hepatology* 1981; 1: 540.
- Sauerbruch T. Fragmentation of bile duct stones by extracorporeal shock waves. *Gastroenterology* 1989; 96: 222.
- Sorensen S. Wheat-Germ agglutinin method for measuring bone and liver isoenzymes of alkaline phosphatase assessed in postmenopausal osteoporosis. *Clin Chem* 1988; 34(8): 1636-1640.
- Thistle JL. Dissolution of cholesterol gallbladder stones by methyl-tert-butyl ether administered by percutaneous transhepatic catheter. *N Engl J Med* 1989; 320: 633.