

Holstein 유우, 한우, 면양 및 한국재래산양 적혈구의 삼투적 취약성

민 병 만 · 이 방 환

전남대학교 수의과대학

(1989. 11. 24 접수)

Osmotic fragility of erythrocyte in cattle, sheep and goats

Byeong-man Min, Bang-whan Lee

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University

(Received Nov 24, 1989)

Abstract: The study was attempted to scrutinize the normal osmotic fragility of erythrocyte in the domestic ruminants, making a comparison with that of human and canine.

The animals used in the experiment were apparently healthy adult Holstein cattle, Korean native cattle, sheep (Corriedale) and Korean native goats.

Osmotic fragility of erythrocytes was the highest in the Korean native goats, and the next were sheep and Korean native cattle, and Holstein cattle in order.

In other words, erythrocytic resistance to osmotic lysis was the strongest in Holstein cattle and the most weak in Korean native goats among the domestic ruminants.

In general, resistance of erythrocytes was stronger in human and canine than in the domestic ruminants.

Key words: erythrocyte osmotic fragility, Korean native cattle, Korean native goats, domestic ruminants.

서 론

적혈구 삼투적 취약성 검사(OFT)란 적혈구의 저삼투압에 대한 저항성을 검사하는 방법으로, 적혈구 취약성이 증가한다는 것은 곧 적혈구 저항성이 감소한다는 뜻으로 통한다.

적혈구의 OFT는 용혈성 질병을 동반하는 각종 질병의 임상적 감별진단을 위해 현재 사람과 가축을 대상으로 임상에서 가치있게 응용되고 있다.

그 예를 들면 사람에게 있어서 적혈구 취약성이 증가(저항성 감소)하여지는 질환에는 kwashiorkor 병¹(Williams malignant malnutrition or infantile pellagra), polycythemia², hereditary spherocytosis²,

lymphoma² 등이 알려져 있으며 취약성이 감소(저항성 증가)되어지는 질환에는 Hodgkin's lymphosacroma², thalassemia minor², malnutrition³, sickle cell anemia⁴ 등이 알려져 있다.

동물에서의 예를 들면 취약성이 증가되는 질환에는 개에서 lipemia⁵, autoimmune hemolytic anemia⁵, polyarthritis⁵, chondrodysplastic pups⁵, 고양이에서 immune mediated hemolytic anemia⁵, hemobartonellosis⁵, 소에서 white muscle disease⁵, anaplasmosis⁵ 등이 알려졌으며 취약성이 감소되는 질환으로는 소에서 porphyric cow⁵, 칠면조에서 eimeria adenoides 감염증 등이 알려져 있다.

적혈구의 취약성을 측정하는 연구는 사람 혈액을 대

상으로 하여 1883년 Hamburger⁷에 의해 개발된 이래 생리적 또는 병적 상태에 있어서의 많은 연구가 계속 되어 왔다.

그동안 적혈구 취약성 시험법으로서 semiautomated method⁴, glycerol 내에서의 용혈도를 기초로 한 시험법⁴, 그리고 coil planet centrifuge를 이용한 시험법⁸ 등의 다양한 방법이 보고되어 있으나 현재 생리학적으로나 임상병리학적으로 가장 많이 이용되고 있는 방법은 사람이나 가축의 혈액에서 다같이 buffered saline solution (NaCl 용액)을 이용한 OFT이다.

가축 혈액을 대상으로 한 OFT에 관한 연구는 개, 고양이에서는 비교적 많은 연구가 되어 있으며 동시에 정상 기준도 설정되어 있어 현재 임상적으로 가치있게 응용되고 있다. 그러나 반추가축에 있어서의 이에 관한 연구 보고^{9,10,11,12,13}는 비교적 희소할 뿐만 아니라 소수 예를 대상으로 하는 단편적인 보고가 많아서 그 정상 기준도 모호한 점이 많다.

이상과 같은 실정을 감안하여 이 실험은 Holstein 유우, 한우, 면양(Corriedale) 및 한국재래산양을 이용하여 OFT의 정상기준을 마련하기 위해서 시도되었다.

재료 및 방법

실험동물: Holstein 유우와 한우는 화순 소재의 개인목장, 담양축협산하의 목장 및 전라남도 종축장에서 면양(Corriedale)은 전남대 동물 사육장에서, 한국재래산양은 화순 소재 너릿재목장에서, 그리고 개는 본 대학에서 사육하고 있는 실험용 잠견중에서 외관상 뚜렷한 임상증상이 없는 1세 이상의 동물을 암수 구별없이 무작위로 각 10두씩을 선정하여 그 혈액을 사용하였고 사람의 경우에는 남녀 구별없이 건강한 성인(20~25세) 10명의 혈액을 사용하였다.

채혈: 소에서는 미정맥에서, 산양 및 면양은 경정맥에서, 개는 요측피정맥에서, 사람은 주정중피정맥에서 1회용 주사기로 무균적으로 2~3ml의 혈액을 채취하여 EDTA 처리된 시판용 채혈병에 담아 운반하여 1시간 이내에 공시하였다.

시약: Buffered saline solution의 조제는 1947년 Parpart et al¹³의 방법으로, 건조기에서 잘 건조된 NaCl 90g, Na₂HPO₄ 13.655g, NaH₂PO₄ 1.87g을 1l의 증류수에 희석하여 이것을 원액으로 밀폐 냉장보존하면서 사용하였다.

측정방법: 이 원액을 시험하고자 할 때마다 증류수로 10배 희석하여 1% NaCl 용액으로 만들고 이것으로부터 상법에 의하여 각종 농도로 조종된 16개의 시

험관을 만들어 가검 혈액 20 μl를 헤모글로빈 피페올 이용하여 혈액이 벽면에 닿지 않도록 주의하면서 유입하였다. 이것을 실온에서 30분간 방치한 후 10분간 2000rpm으로 원심침전하여 그 상청액을 spectrophotometer (BAUSCH & LOMB spectronic 20)로 540nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 이때 blank solution은 증류수를 사용하였다. 흡광도에서 %hemolysis로 전환하는 공식은 다음과 같다.

$$\frac{\text{optical density of unknown}}{\text{optical density of tube 16 (Blank)}} \times 100 = \% \text{hemolysis}$$

산출된 %hemolysis는 누적곡선(cumulative curve)과 유도곡선(derivative curve)의 두 그래프로 비교 평가하였다.

결 과

본 실험의 결과는 Fig 1 및 2에서와 같이 동물 종 또는 품종별로 %hemolysis의 누적곡선과 유도곡선으로 표시하였다. 이 그림에서 보는 바와 같이 누적곡선은 모든 동물에서 공통적으로 S자곡선을 보였으며 각 동물별 평균 용혈개시점(육안적 용혈개시의 NaCl의 농도)은 Table 1에서 보는 바와 같이 한국재래산양에서 0.78±0.04, 한우에서 0.69±0.03, 면양에서 0.69±0.05, Holstein 유우에서 0.61±0.04, 개에서 0.49

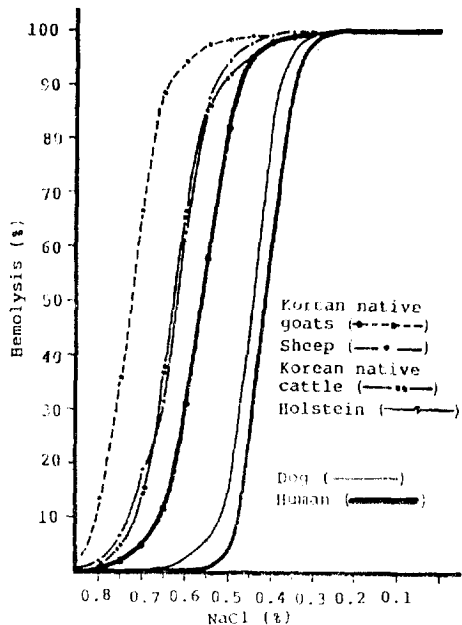


Fig 1. Comparison of cumulative fragiligrams in ruminants, dog and human,

Table 1. Concentration of NaCl in accordance with various degree of hemolysis in animals and human blood

Animals	No.	Concentration of NaCl solution (%) for						
		5% hemolysis	15% hemolysis	*Initial hemolysis	50% hemolysis	90% hemolysis	**Complete hemolysis	95% hemolysis
Holstein	10	0.68±0.05	0.62±0.04	0.61±0.04	0.56±0.03	0.48±0.05	0.48±0.04	0.42±0.06
Korean native cattle	10	0.73±0.03	0.69±0.03	0.69±0.03	0.63±0.03	0.52±0.06	0.51±0.06	0.48±0.07
Sheep	10	0.74±0.04	0.69±0.05	0.69±0.05	0.62±0.04	0.53±0.05	0.54±0.05	0.51±0.05
Korean native goats	10	0.82±0.03	0.78±0.03	0.78±0.04	0.72±0.03	0.62±0.07	0.61±0.06	0.60±0.09
Dog	10	0.55±0.04	0.50±0.03	0.49±0.04	0.44±0.02	0.37±0.03	0.37±0.03	0.35±0.03
Human	10	0.49±0.03	0.47±0.02	0.46±0.02	0.42±0.02	0.38±0.03	0.36±0.03	0.35±0.04

*: LSD for initial hemolysis among animal species and human were 0.012(p<0.05)and 0.016 (p<0.01).

** : LSD for complete hemolysis among animal species and human were 0.039(p<0.05)and 0.052(p<0.01).

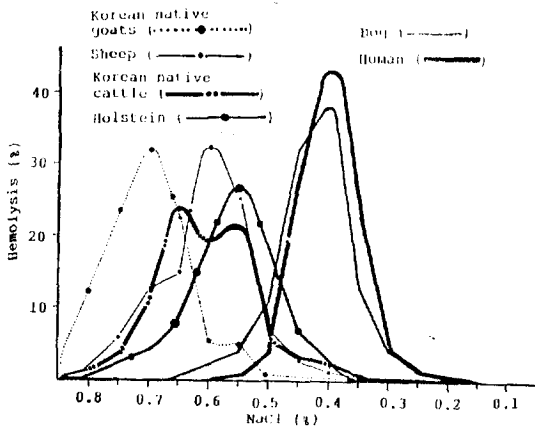


Fig 2. Comparison of derivative fragiligrams in ruminants, dog and human.

±0.04, 사람에서 0.46±0.02%로 반추가축의 용혈개시 NaCl 용액농도는 개나 사람에 비해서 현저히 높았으며 반추가축간에는 한국재래산양>한우와 면양>Holstein 유우의 순으로 한국재래산양에서 가장 높았고 특히 주목되는 것은 한우와 Holstein 유우는 같은 우종인데도 불구하고 용혈개시점에 있어서 유의차(p<0.01)가 인정되는 점이였다.

Fig 1에서 동물별 NaCl의 농도감소에 따르는 %hemolysis의 누적곡선을 비교해 보면 용혈개시점의 순서와 동일하게 한국재래산양>면양과 한우>Holstein의 순이였다.

Fig 2에서 보는 바와 같이 동물 종별로 가장 용혈을 많이 일으키는 NaCl의 농도는 한국재래산양에서 0.70, 한우 0.65, 면양 0.6, Holstein 유우 0.55, 개와 사람에서 0.4% NaCl로써 용혈개시점이나 누적곡선이행과 동일한 순서로 역시 사람과 개가 반추가축에 비해서

적혈구 저항성이 강함을 표시하였고 반추가축간에는 Holstein 유우가 가장 강하고 한국재래산양이 가장 약하다는 것을 알 수 있었다.

Table 1에서 보는 바와 같이 육안적 용혈개시점의 NaCl 농도는 spectrophotometric 15% hemolysis의 NaCl 농도와 일치하였고, 육안적 완전용혈점의 NaCl 농도는 spectrophotometric 90% hemolysis NaCl 농도와 일치하였다.

고 찰

반추가축의 적혈구는 사람을 비롯한 다른 포유가축과 비교해서 그 크기가 작고, 용적(MCV)도 작으며 또한 적혈구막 단백질구성¹⁴도 다르고, ESR에 민감하지 않는 등 많은 차이가 있음은 주지의 사실이다. 그렇다면 반추류의 적혈구의 저삼투압에 대한 취약성에 있어서도 다른 가축에 비해서 차이가 있지 않을까 하는 생각에서 본 연구를 시도하였다.

더우기 사람^{1,2,3,4,13,14,16,17}이나, 개^{5,9,18,19}, 고양이^{5,9,18,19}에 대한 OFT 연구보고는 많으나 반추가축인 소^{9,13,15,18,19}, 면양^{9,9,11,18,19,20}, 산양^{9,13}에 관한 연구보고는 그다지 많지 않으며 특히 한우와 한국재래산양의 OFT에 관한 연구는 아직 보고된 바 없다.

본 실험 결과를 이미 보고된 이전의 실험결과와 비교했을 때, 사람과 개의 OFT의 결과는 기존의 보고^{3,5,9,19,20}와 대체로 일치하였으나 소에 관한 OFT의 결과는 다소의 차이를 보였는데 이와 같은 차이는 본 실험에서 Holstein 유우와 한우를 구분하여 관찰한 것과는 달리 기존의 보고는 주로 여러 품종으로 혼성된 유우군 또는 유우군을 대상으로 한 결과에서 유래된 것으로 품종간에 적혈구 취약성이 차이가 있다는 것을 시사하는 것이다.

이와 같은 생각은 본 실험에서 한우와 Holstein 유

우간의 차이에서도 입증되었다. 면양의 OFT에 관해서는 기존의 보고와 본 실험의 결과가 일치된 것^{18,19,20}과 일치되지 않는 것⁹이 있었으며, 산양에서도 일치된 것¹⁸과 일치되지 않는 것⁹이 있었다. 이러한 점들을 고려할 때 반추가축의 OFT에 관해서는 그 품종별로 생리적 기준이 설정되어야 할 것으로 고려되었다.

본 실험 결과에서 적혈구 삼투적 취약성이 가장 큰 것은 사람이었고 다음이 개, Holstein 유우, 한우, 면양, 한국재래산양의 순이었다. 이와 같이 반추가축에 있어서 동물종별 적혈구 저항성의 강도 순위가 동물종별 적혈구 용적크기의 순위와 일치한 점이 흥미로운 일로 주목되었다.

결 론

생후 1년 이상의 건강한 Holstein 유우, 한우, 면양, 한국재래산양 및 개 각 10두와 사람 10인을 대상으로 적혈구의 삼투적 취약성(OF)을 검토하는 한편 이것을 사람과 개의 그것과 비교 관찰하였다.

그 결과 OF는 한국재래산양>면양=한우>Holstein 유우>개>사람의 순으로, 반추가축에서 사람이나 개에 비해서 현저히 높았으며, 반추가축 중에서는 한국재래산양이 가장 높았고 다음이 면양과 한우였으며 Holstein 유우가 가장 낮았다.

한편 각 동물별의 정상 fragiligrams (cumulative curve 및 derivative curve)을 제시하였다.

참 고 문 헌

1. Ramanadham M, Kaplay SS. Erythrocyte osmotic fragility in protein energy malnutrition: Cholesterol, phospholipid, and Ca^{2+} , Mg^{2+} adenosine triphosphatase. *Biochem Med* 1982;27:226~231.
2. Nahas GG, Hsu J, Ostrowski D, et al. The definition of erythrocyte osmotic fragility in normal and abnormal blood (37775). *Proc Soc Exp Biol Med* 1974;145:192~195.
3. Kaplay SS. Erythrocyte membrane in protein-energy malnutrition: A23187-induced changes in osmotic fragility of human and rat erythrocytes. *Biochem Med* 1984;31:371~377.
4. Maxwell M, Wintrobe. *Clinical hematology*. 8th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1981;747~748.
5. Jain NC. *Scham's veterinary hematology*. 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986.

6. Augustine PC, Witlock DR. Decreased osmotic fragility of red blood cells of *eimeria adenoides*-infected turkeys. *Avian diseases(USA)*1984;28(2):343~351.
7. Hamburger HJ. Bestimmung der relativen Anzahl roter Blutkörperchen verschiedener Resistenz (osmotische Resistenzkurve), mittels Na_2SO_4 . *Biochem Ztschr* 1922;129:163~182.
8. Suzuki M, Toyosawa K, Sitizyo K. Osmotic fragility of erythrocytes in mice, rats and rabbits with coil planet centrifuge method. *Jpn J Vet Sci* 1982;44:335~341.
9. Perk K, Frei YF, Herz A. Osmotic fragility of red blood cells of young and mature domestic and laboratory animals. *Am J Vet Res* 1964;25:1241~1248.
10. Basarb JA, Berg RT, Thompson JR. Erythrocyte fragility in "double muscled" cattle. *Can J Anim Sci* 1980;60:869~876.
11. Perk K, Frei YF, Herz A. The osmotic resistance and hemoglobin pattern of erythrocytes obtained from growing lambs. *Am J Vet Res* 1964;25:68~73.
12. Kaneko JJ, Mills R. Erythrocyte enzyme activity, ion concentrations, osmotic fragility, and glutathione stability in bovine erythropoietic porphyria and its carrier state. *Am J Vet Res* 1969;30:1805~1810.
13. Fairley NM, Price GS, Meuten DJ. Evaluation of red blood cell fragility in pygmy goats. *Am J Vet Res* 1988;49(9):1598~1600.
14. Parpart AK, Lorenz PB, Parpart ER, et al. The osmotic resistance of human red cells. *J Clin Invest* 1947;26:636~640.
15. Lee BW, Bahk YW. Electrophoretic analysis of the major proteins of ruminant erythrocyte membrane: Their relation to slow erythrocyte sedimentation rate. *Korean J Vet Res* 1989;29(4):445~455.
16. Vajreswari A, Srinivasa RP, Kaplay SS, et al. Erythrocyte membrane in rats fed high erucic acid-containing mustard oil: osmotic fragility, lipid composition, and (Na^+ , K^+)-and (Ca^{2+} , Mg^{2+})-ATPases. *Biochem Med* 1983;29:74~84.
17. Gorden AS, Kleinberg W, Ponder E. Decreased

- red cell fragility after splenectomy. *Amer Jour Physiol* 1937;120:150~153.
18. Coldman RC, Gent M, Good W. The osmotic fragility of mammalian erythrocyte in hypotonic solutions of sodium chloride. *Comp Biochem Physiol* 1969;31:605~609.
19. Solimon MK. Erythrocyte fragility of healthy fowl, dog, sheep, cattle, buffalo, horse and camel blood. *Vet Rec* 1966;78:429~430.
20. Stone EC, Adams MF, Dickson W. Electrophotometric determination of osmotic resistance of ovine erythrocytes. *Cornell Vet* 1953;43:3~9.