

한국흑염소에 있어서 DL-Ethionine으로 유발시킨 脂肪肝에 관한 연구

李慶甲·崔熙仁

서울大學校 獸醫科大學

서론

지방간증은 간 실질내에 중성지방으로 구성된 지질이 5%(질량비)이상 축적되어 있는 상태를 의미하며, ⁴²⁾ 지질이 10%(질량비)이상 침착된 췌소의 경우에는 치료를 요할 정도의 질병발생률, 폐사율, 도태율 등이 높다. ³²⁾ 지방간증은 생산능력이 높은 젖소에서 다발하며, ^{65, 66)} 케토시스, ^{52, 53)} 산욕부전마비, ^{21, 41)} 제 4 위전위증, ⁵¹⁾ 태반정체와 자궁내막염, ⁵³⁾ 유방염⁵²⁾ 및 면역반응장애 등⁵¹⁾ 이 합병되기 쉽다. Haass와 Eness³⁵⁾는 분만후 각종 산육성 질병의 발생율이 높은 목장에 있어서 50 내지 90%의 소가 지방간증에 이완되었고, 이러한 소의 폐사율은 25%에 달한다고 하였다.

소의 지방간증 발생은 우유생산에 필요한 에너지를 충분히 섭취하지 못하는 비유초기에 저장지방이 동원되는 현상과 관련이 있으며 지방간증이 심한 소는 덜 심한 소에 비해 현저히 많은 지방을 분만직후에 동원한다. ¹⁴⁾ 이러한 현상은 건유기에 고에너지사료를 공급하여 비만했던 소에 잘 일어난다. ^{52, 65)} 지방간증에 걸린 췌소는 간에서의 유리지방산의 흡수가 증가하여, ⁷⁰⁾ 간세포내의 유리지방산농도가 증가하게 된다. ¹⁴⁾ 지방간증의 발생은 단순히 간의 유리지방산 농도의 증가에만 의존되는 것이 아니고 triglyceride (TG) 형태로 에스테르화된 지방이 간으로 부터 배출되지 못하는데도 기인한다. ^{40, 70)} 간으로 부터 TG분자의 배출이 장애를 받는 이유는 TG를 간으로 부터 혈액으로 운반하여 주는 역할을 하는 apolipoprotein의 합성이 감소하기 때문이다. ⁴⁸⁾ 이러한 현상은 지방간

증에 걸린 간세포의 과립내형질세포망이 양적으로 감소하는 것과 동시에 발생하며 세포내 과립내형질세포망의 양은 세포내의 지방함량과 반비례한다. ⁶⁶⁾

분만후 지방간증에 걸린 젖소에 있어서 Reid와 Collins⁶⁶⁾ 및 Herdt 등³⁹⁾은 간의 병리학적인 변화와 지방침착 정도의 평가방법에 대하여 보고하였으며, Sekiguchi 등⁷⁹⁾은 혈청내 35K 단백질의 특이적 증가에 대해 보고했다. 그리고 Morrow⁵²⁾과 Morrow 등⁵³⁾은 지방간증이 자연발생된 췌소의 혈액학치에 대해서, Reid 등,⁶⁷⁾ Roberts 등,⁷³⁾ Reid 등,⁷¹⁾ Herdt 등,³⁸⁾ Haass와 Eness³⁵⁾ 및 種村 등⁸⁴⁾은 지방간증이 자연발생된 췌소의 혈액화학치에 대해 보고하였다.

지방간에 대한 연구가 시작된 것은 Addison²⁾에 의해 알콜이 지방간과 밀접한 관계가 있음이 밝혀지면서 부터이다. Schapiro 등⁷⁶⁾ 및 Lieber와 Spritz⁴⁸⁾은 사람에서 알콜을 계속 섭취할 경우 지방조직에서 non-esterified fatty acid (NEFA)의 동원이 증가하고 간에서 TG의 생성이 증가하여 지방간이 생성된다고 하였다. ^{3, 20, 62)}

이와같이 사람과 동물에서 발생하는 지방간에 대해서 그 발생기전을 연구하기 위해 인위적으로 지방간증을 유발시키는 연구가 진행되었다. Rosenfeld⁷⁴⁾는 Phosphorus, Cameron과 Karunaratne¹¹⁾는 carbon tetrachloride 및 Dieble¹⁸⁾은 halogenated hydrocarbons을 랫트에 투여하였던 바 간세포의 염증과 퇴행성 변화를 수반한 간세포 괴사후에 지방간이 유발되는 문제점을 가지고 있었다. ^{1, 13, 17, 63)} 그리고 Best와 Huntsman⁵⁾은 choline성분을 제거한 사료를 랫트에 급여함에 의해서 지방간이 발생되었다고 하였으며, ⁴⁸⁾ Standerfer와 H-

andler⁸¹⁾는 우유성분중의 일종인 orotic acid를 사료에 1%를 첨가하였던 바 사료중의 methyl group이 소모되어 지방간이 유발되었는데 이 두방법은 실행에 어려운 단점이 있다.

한편 Dyer¹⁹⁾는 랫트에 DL-ethionine을 투여하면 간세포를 피사시키지 않고 간단하게 지방간을 유발시킬 수 있다는 사실을 보고하였으며 Farber 등,²⁴⁾ Jensen 등,⁴⁶⁾ Hutterer 등,⁴⁴⁾ Olivegrona^{59, 60)} 및 Arvison과 Olivecrona³⁾에 의하면 지방침착의 정도는 DL-ethionine 투여량 의존성이 있고, Farver 등,²⁵⁾ Farber와 Segaloff²³⁾ 및 Naton⁵⁶⁾는 암컷에서 다발한다고 보고하였다.

Faber²²⁾는 DL-ethionine을 투여한 랫트에 있어서 아미노산이 microsomal protein으로 합성되는 과정에서 DL-ethionine이 adenine과 결합하여 S-adenosylethionine을 형성하면서 ATP를 소모하여 단백질합성장애가 일어나며 이로 인하여 간장내에서 lipoprotein을 합성하지 못하고 간에서 혈중으로 배출하는 TG가 간에 축적되어 지방간이 형성된다고 하였다.

젖소의 지방간은 발생율이 높고 치료가 어려우며 경제적인 손실이 많은 질병이기 때문에 이에 대한 치료·예방 및 진단을 위한 많은 실험적 연구가 요구된다. 이에 저자는 한국흑염소를 이용한 반추동물 지방간의 모델동물 작성과 이를 이용한 동물실험의 기초자료를 수립하기 위해 이 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 재료 : 임상적으로 건강하다고 인정되는 체중 12~15kg의 한국흑염소 암컷 25두를 선정하여 3주 간격으로 2회 구충시킨후 4주간의 적응기간을 거친 다음 실험에 사용하였다. 전실험기간동안 두당 100g의 비육우용 배합사료(해표사료)를 1일 2회로 나누어 급여하였고 물과 조사료(청초)는 자유섭취도록 하였다.

실험에 사용한 약품은 DL-ethionine(SIGMA)이었고 생리식염수에 2%로 용해하여 복강내 투여하였다.

실험방법 : 약물투여는 A군에는 체중 kg당 75mg씩을 1일 1회 3일간, B군에는 체중 kg당 150mg씩을 1일 1회 3일간 그리고 C군에는 체중 kg당 150mg씩을 격일로 3회 투여하였다.

실험동물 25두중 혈액채취와 임상증상 관찰을 위해

16두를 3군으로 나누어 A군에 5두, B군에 5두 그리고 C군에 6두를 배치하였다. 나머지 9두는 간생검을 위해 별도로 각군에 각각 3두씩을 배치하였다.

약물 투여후 임상증상을 관찰하면서 투여전과 투여후 1, 3, 5, 7, 10, 13 및 16일에 경정맥으로 부터 EDTA로 처리된 용기(EDTA-2K, 녹십자)와 screw cap tube에 각각 1ml와 5ml씩의 혈액을 채취하였다. 생검을 위한 실험동물은 처치후 3, 7, 13일째에 1두씩을 생검하였다.⁸⁰⁾

혈액학적 검사 : Packed cell volume(PCV)은 microhematocrit법, white blood cell(WBC)은 혈구계산판법에 의해서, fibrinogen은 Schalm method⁷⁵⁾에 준하여 측정하였다.

혈액화학적 검사 : Total protein(TP)양은 refractometric method(Refractometer, AO spencer), total lipid(TL)는 sulfo-phospho-vanillin method, nonesterified fatty acid(NEFA)는 enzymatic colorimetric method, triglyceride(TG)는 enzymatic method, cholesterol은 enzymatic endpoint method, aspartate aminotransferase(AST)는 Reitman-Frankel method,⁷²⁾ gamma-glutamyltranspeptidase(GGT)는 Orłowski method,⁵⁴⁾ bilirubin은 Evelyn Mally method로 측정하였다. TL는 國際試藥 Kit(日本)를 NEFA는 和光 Kit(日本)를, 나머지는 榮研 Kit(日本)를 사용하였다. Sorbitol dehydrogenase(SDH)는 Gerlach변법³¹⁾으로 측정하였다.

혈청의 분획 : B군의 5두중 임의로 선택한 2두로부터 처치전, 처치후 3, 7, 10, 13일에 얻은 혈청은 각각 Sephadex G-100 column(LKB-10, 韓國)과 0.02M phosphate buffered saline(pH 7.2)를 사용하여 4ml씩의 분획을 수확하였다. 이때 flow rate는 12ml/hr를 유지하였다.¹²⁾

전기영동 : 실험동물에서 채취한 혈청을 sodium dodecyl sulfate polyacrylamide 수직평판겔 전기영동(SDS-PAGE)을 실시하였으며 영동조는 AE-6440(A-TTO社, 日本)을 사용하였다.

원 혈청과 분리수확한 각각의 분획시료는 시약들의 최종농도가 다음과 같이 되도록 혼합후 2분간 끓였다.

Protein	0.12%
SDS	1%
2-mercaptoethanol	1%
Tris-HCl buffer(pH 6.8)	10mM
Glycerin	20%

6ml, 1.5M Tris-buffer(pH 8.8) 4.5ml와 증류수 7.5ml를 잘 혼합한후 10% ammonium persulfate 0.07ml와 TEMED(N,N,N,N-tetramethylenediamine) 0.01ml를 혼합하여 만든 용액을 유리판 사이에 채운후 1시간동안 정치하여 분리겔을 제조하였고 그리고 30% acrylamide용액 0.9ml, 0.5M tris-buffer(pH 6.8) 1.5ml와 증류수 3.6ml를 잘 혼합한후 10% ammonium persulfate 용액 0.02ml와 TEMED 0.01ml를 혼합한 용액을 분리겔 상부에 부어 30분간을 정치시켜서 농축겔을 제조하였다.¹⁶⁾ 제조된 겔을 영동장치에 장착한후 marker protein을 포함한 염색액과 처리된 시료를 농축겔 상부의 요면에 분주하여 15mA로 90분간 영동하였다. Marker protein은 BIO-RAD사(美國) 제품을 이용하였다.

전기영동이 끝난후 겔을 분리하여 Coomassie brilliant blue로 1시간동안 염색하였고 탈색액은 최종농도가 25% methanol, 7.5% acetic acid인 수용액으로 3~4시간 탈색시켰다.

조직학적 검사: 처리군에서 얻어진 간조직의 일부는 10% 포르말린용액에 고정시키고 나머지는 냉동보존하였다. 포르말린에 고정시킨 조직은 파라핀절편을 만들어서 hematoxin and eosin(H & E) 염색을 하였고, 냉동보존한 조직은 동결절편기로 8 μ m로 절편하여 oil red O 염색을 하였다.³⁴⁾

통계학적 분석: 본 실험에서 얻어진 성적은 Tukey's studentized range test을 이용하여 5% 수준에서

유의성을 검정하였다.

결 과

한국흑염소에 DL-ethionine의 투여량을 달리하여 지방간을 유발시킨후 임상증상, 혈액학치, 혈액화학치, 혈청단백분획상 및 간장의 병리조직학적 변화 등을 경시적으로 관찰한 결과는 다음과 같다.

임상증상: A군에서는 처리 후부터 의기소침(3두)과 식욕결핍(2두) 증상을 나타내기 시작하였으며 5일째에는 1두에서 설사를 나타내었고, 7일째 부터는 증상이 완화되기 시작하여 10일 이후에 모든 증상이 소실되었다. B군은 처치 1일 후부터 의기소침(4두)과 식욕결핍(3두) 그리고 설사증상(1두)을 나타내기 시작하였으며, 5일째에는 증상이 더욱 심해졌고 유연증상도 나타내었으며, 7일째부터 모든 증상이 점차 회복되기 시작하여 10일 이후에는 모두 회복되었다. 그리고 C군에서는 처치 1일 후부터 의기소침(4두)과 식욕결핍(4두)을 나타내기 시작하여 5일째에는 더욱 심해져서 유연증상(4두)도 나타내었다. 그리고 7일째 부터는 증상이 호전되어 10일후에는 정상으로 회복되었다. 처치군 모두에서 폐사된 동물은 없었다(Table 1).

혈액학치의 변동: A, B군에서의 PCV값의 변동은 처치 1일 후부터 증가하여 5일째에 각각 46.8%와 49.8%로 처치전에 비해 유의성 있는 증가치를 나타내

Table 1. Clinical Signs of Korean Black Goats Administrated with DL-Ethionine

Group /	Signs	/ Days	1	3	5	7	10	13	16
A(5)	Depression		3*	5	3	1	-	-	-
	Anorexia		2	4	2	-	-	-	-
	Diarrhea		-	-	1	-	-	-	-
	Salivation		-	-	-	-	-	-	-
B(5)	Depression		4	5	5	2	-	-	-
	Anorexia		3	5	4	1	-	-	-
	Diarrhea		1	3	3	2	-	-	-
	Salivation		-	-	3	-	-	-	-
B(6)	Depression		4	5	4	2	2	-	-
	Anorexia		4	5	5	2	1	-	-
	Diarrhea		-	-	6	4	-	-	-
	Salivation		-	-	4	2	-	-	-

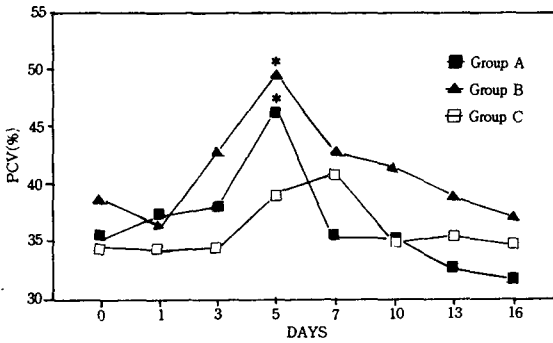
A : 75mg/kg/day for 3 consecutive days. B : 150mg/kg/day for 3 consecutive days.

C : 150mg/kg, every other day, 3 times. () : number of experimental goats.

* : number of goats which showed clinical sign.

있고($p < 0.05$), C군에서도 증가되는 경향이었으나 유의성은 없었으며, 10일 이후부터는 모든 군에서 처치전 수준으로 회복되었다(Text-fig. 1).

섬유소원은 투여후 감소하는 경향을 나타내어 A, B군은 처치후 3일째, C군은 처치후 7일째에 최저치

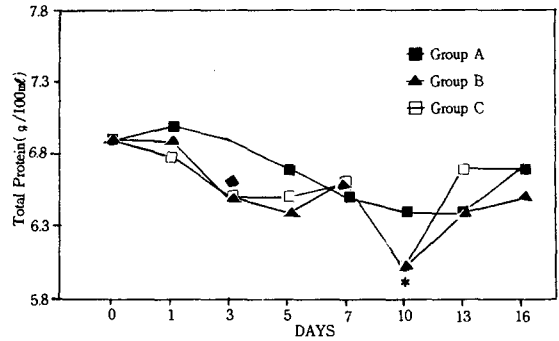


Text-fig. 1. Sequential changes of packed cell volume in Korean black goats administrated with DL-ethionine.

* : significant difference compared with pre-treatment values ($p < 0.05$).

를 나타내었는데 처치전에 비해 유의성 있는 변동은 없었으며, 13일째 부터는 처치전 수준치로 회복되었다(Table 2).

총백혈구수의 변동은 A, B, C군 모두에서 처치후 서서히 감소되기 시작하여 A군과 B군은 3일째, C군은 5일째에 각각 최저치로 낮아졌다가 7일째 부터는 처치전 수준으로 회복되었는데 처치전에 비해 유의성



Text-fig. 2. Sequential changes of total protein values in Korean black goats administrated with DL-ethionine.

Table 2. Changes of Fibrinogen in Korean Black Goats Administrated with DL-Ethionine

(Means \pm SD, mg/100ml)

Days / Groups	A	B	C
0	220 \pm 45	220 \pm 27	208 \pm 66
1	130 \pm 45	150 \pm 20	225 \pm 76
3	110 \pm 32	160 \pm 55	183 \pm 75
5	170 \pm 67	160 \pm 55	142 \pm 49
7	210 \pm 22	170 \pm 109	108 \pm 49
10	160 \pm 55	140 \pm 55	117 \pm 68
13	190 \pm 54	200 \pm 79	175 \pm 88
16	210 \pm 74	240 \pm 119	200 \pm 110

Table 3. Changes of White Blood Cell in Korean Black Goats Administrated with DL-Ethionine

(Means \pm SD, per μ l)

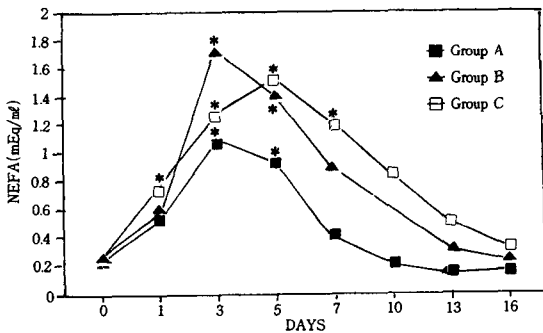
Days / Groups	A	B	C
0	12540 \pm 3269	13850 \pm 3654	15142 \pm 2843
1	10420 \pm 3075	11420 \pm 1759	12950 \pm 2105
3	8180 \pm 1780	10450 \pm 6078	11008 \pm 3148
5	10350 \pm 1909	11590 \pm 5309	8675 \pm 3288
7	10650 \pm 2346	14260 \pm 6999	11933 \pm 4499
10	12220 \pm 2371	17410 \pm 3999	15942 \pm 4467
13	12710 \pm 3702	15240 \pm 5024	13583 \pm 4692
16	13760 \pm 3290	14790 \pm 4817	14792 \pm 4405

은 없었다(Table 3).

혈액화확치의 변동: 혈청 총단백량의 변동은 처치군 모두에서 처치후 서서히 감소하여 10일째에 최저치(각각 6.4 ± 0.3 , 6.0 ± 0.7 및 6.0 ± 0.7 g/100ml)로 감소된후 13일부터는 처치전 수준치로 회복되었는데, B군과 C군에서만 10일째에 처치전에 비해 유의성 있게 낮았다($p < 0.05$)(Text-fig. 2).

혈청 총지질량의 변동은 A, B, C군 모두에서 처치후 3일째부터 감소하기 시작하여 A군은 7일째, B군은 5일째, C군은 3일째에 각각 179 ± 34 , 164 ± 62 및 228 ± 60 mg/100ml로 최저치를 나타낸후 10일이후 점차 회복되었으나 처치전에 비해 유의성은 없었다(Table 4).

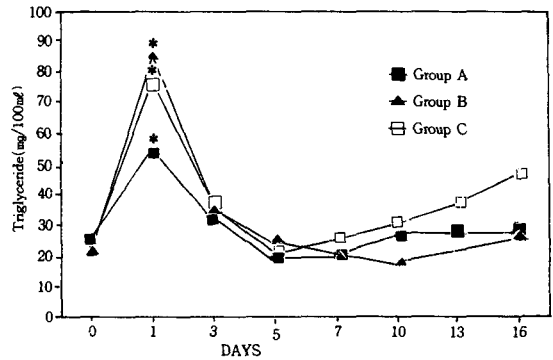
혈청 NEFA값의 변동은 처치군 모두에서 급격히 상승하여 A군과 B군은 처치후 3일, C군은 처치후 1일에 처치전에 비하여 유의성 있게 증가되었으며($p < 0.05$), A군과 B군은 처치후 3일, C군은 처치후 5일에 각각 1.10 ± 0.21 , 1.73 ± 0.48 및 1.53 ± 0.30 mEq/L로 최고치에 달한후 서서히 감소되기 시작하였고 A군은



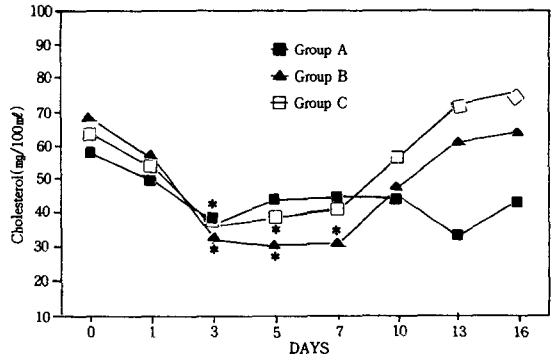
Text-fig. 3. Sequential changes of non-esterified fatty acid values in Korean black goats administrated with DL-ethionine.

10일에, B군은 13일에, C군은 16일에 각각 처치전 수준으로 회복되었다. 그리고 7, 10일째에는 C군의 값이 A군에 비해 유의성 있게 높아 약물투여량에 따른 차이를 나타내었다($p < 0.05$)(Text-fig. 3).

TG량의 변동은 처치군 모두에서 처치후 급격히 증가하여 1일째에 각각 55 ± 25 , 86 ± 13 및 78 ± 22 mg/100ml로 처치전에 비해 유의성 있게 증가한후($p < 0.$



Text-fig. 4. Sequential changes of triglyceride values in Korean black goats administrated with DL-ethionine.



Text-fig. 5. Sequential changes of cholesterol values in Korean black goats administrated with DL-ethionine.

Table 4. Changes of Total Lipid in Korean Black Goats Administrated with DL-Ethionine

(Means \pm SD, mg/100ml)

Days / Groups	A	B	C
0	256 \pm 71	229 \pm 56	315 \pm 54
1	245 \pm 68	209 \pm 66	312 \pm 89
3	201 \pm 37	170 \pm 39	228 \pm 60
5	182 \pm 35	164 \pm 62	232 \pm 58
7	179 \pm 34	170 \pm 49	228 \pm 55
10	191 \pm 28	195 \pm 46	264 \pm 39
13	201 \pm 32	192 \pm 28	244 \pm 52
16	206 \pm 35	202 \pm 22	263 \pm 64

05), 3일째에는 급격히 감소하여 처치전 수준치를 유지하였다 (Text-fig. 4).

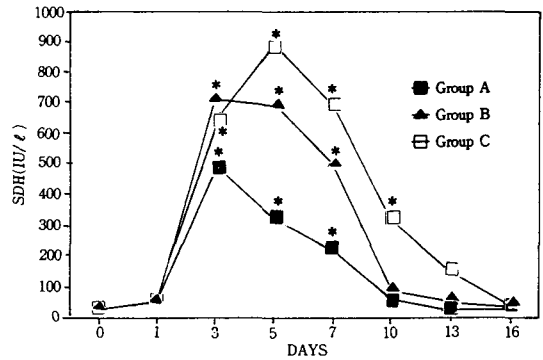
Cholesterol량의 변동은 처치군 모두에서 처치후 점차 감소하여 3일째부터 B군과 C군에서 처치전에 비하여 유의성 있게 감소되었는데($p < 0.05$) 최저치는 각각 30 ± 12 와 $36 \pm 5 \text{mg}/100 \text{ml}$ 이었으며 B군과 C군은 10일부터 회복되기 시작하여 13일 부터는 정상수준으로 회복되었다. A군은 13일에 일시적인 감소를 나타내었다(Text-fig. 5).

Bilirubin의 양은 처치군 모두에서 처치후 3일째부터 서서히 상승하여 7일째에 각각 0.75 ± 0.69 , 1.00 ± 0.82 및 $1.58 \pm 0.66 \text{mg}/100 \text{ml}$ 로 처치전에 비해 유의성 있는 최고치에 도달된후($p < 0.05$) 다시 감소하여 A군은 13일에, B, C군은 16일에 처치전 수준으로 회복되었다. 그리고 7일째에는 C군의 값이 A군에 비해 유의성 있게 높았다($p < 0.05$)(Text-fig. 6).

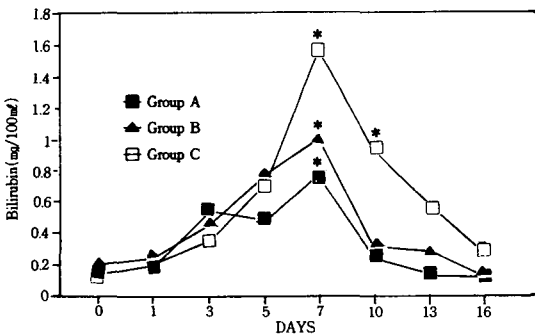
SDH 활성도 변동은 A, B, C군 모두에서 처치 3일째부터 급격히 상승하여 A, B군은 3일째에, C군은 5일째에 처치전 수준에 비해 유의성 있게 최고치로 증가한후($p < 0.05$) 서서히 감소하여 A군과 B군은 10일

에, C군은 13일에 처치전 수준치로 회복되었다. 그리고 5일째의 측정치에는 각 군간에 유의성 있는 차이가 있었으며, 7일째에는 C군이 A군에 비해 유의성 있게 높은 측정치를 나타내었다($p < 0.05$)(Text-fig. 7).

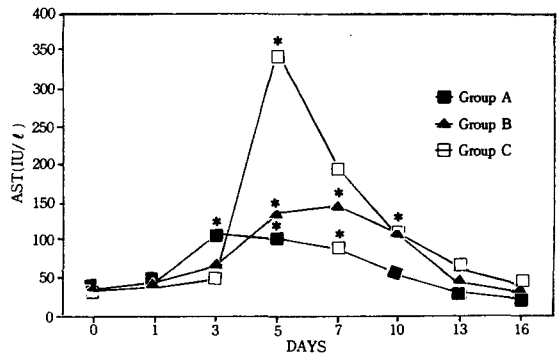
AST 활성도 변동은 처치군중 A군은 처치 1일부터 증가하여 3일째에 처치전에 비해 유의성 있는 높은 수준치를 나타낸후($p < 0.05$), 서서히 감소하여 13일부터는 처치전 수준치로 회복되었다. B군에서는 처



Text-fig. 7. Sequential changes of SDH activity values in Korean black goats administrated with DL-ethionine.



Text-fig. 6. Sequential changes of bilirubin values in Korean black goats administrated with DL-ethionine.



Text-fig. 8. Sequential changes of AST activity values in Korean black goats administrated with DL-ethionine.

Table 5. Changes of GGT Activity in Korean Black Goats Administrated with DL-ethionine

Days / Groups	(Means \pm SD, mg/100ml)		
	A	B	C
0	51 \pm 16.0	55 \pm 16.4	28 \pm 12.2
1	51 \pm 10.0	49 \pm 12.8	55 \pm 11.2
3	76 \pm 35.0	60 \pm 18.2	61 \pm 16.5
5	81 \pm 36.0	68 \pm 24.3	87 \pm 44.1
7	67 \pm 16.0	69 \pm 34.2	105 \pm 60.4
10	66 \pm 13.0	69 \pm 29.6	123 \pm 82.2
13	61 \pm 10.0	73 \pm 35.9	133 \pm 56.4
16	57 \pm 10.0	57 \pm 14.1	57 \pm 31.3

고 찰

치후 1일째부터 서서히 증가하여 7일째에 처치전에 비해 유의성 있는 증가치를 나타낸후($p < 0.05$) 감소하여 13일 부터는 처치전 수준으로 회복되었다. 그러나 C군에서는 3일째부터 급격히 증가하여 5일째에 처치전에 비해 고도의 유의성 있는 증가치를 나타낸후($p < 0.05$), 감소하여 13일에 이르러 처치전 수준치로 회복되었다. 그리고 3일째에 각 군간의 측정치에는 유의차가 인정되었다($p < 0.05$)(Text-fig. 8).

GGT 활성도 변동은 A, B군 모두에서 실험완료기간인 16일까지 처치전 수준치에 비해 유의성 있는 변동은 없었으나 C군에서는 처치후 13일까지 계속 증가되었다가 16일에 급격히 감소되었는데 유의성은 인정되지 않았다(Table 5).

원혈청은 SDS-polyacrylamide 수직평판겔 전기영동을 했을 때에는 A, B, C군 모두에서 35K 단백질이 관찰되지 않았다. 그러나 B군 5두중 임의로 선택한 2두의 혈청을 Sephadex G-100으로 분획을 분리하여 각 분획에 대해 SDS-polyacrylamide 수직평판겔 전기영동을 실시한 결과 1두는 DL-ethionine 투여후 7일과 10일에, 나머지 1두는 7일, 10일 및 13일에 채취한 시료의 21번과 22번째 분획에서 35K 단백질이 검출되었다(Fig. 1).

병리조직학적 변화 : 처치군 모두에서의 간장의 육안적 소견은 약물투여량에 관계없이 A, B, C군 모두 3일째에는 총혈 및 총대되어 있었으며, 7일째는 종창된 간이 담황색 바탕을 띄었고 표면에 침침대의 적색 반점이 밀발되어 있었다(Fig. 2).

조직학적으로 A군에 있어서 3일째의 간세포는 종창되고 미세한 지방구를 함유하고 있었으며(Fig. 5), 투여후 7일째의 간세포는 3일째보다 더 크고 많은 지방구를 나타내었다(Fig. 6). B군에 있어서는 투여후 3일째의 간세포는 종창되고 다수의 지방구를 함유하고 있었으며(Fig. 3), 투여후 7일째의 간세포는 세포괴사와 함께 심한 지방변화를 나타내었다(Fig. 4). C군에 있어서 투여후 3일째의 간의 조직학적 소견은 B군의 그것처럼 중정도의 지방변화를 나타내었으나 투여후 7일째에 있어서는 B군의 그것보다 월등히 강한 세포괴사와 지방변화를 나타내었으며(Fig. 7), 투여후 13일째에는 다소의 지방구는 함유하고 있었으나 크기나 수에서 상당히 감소된 양상을 나타내었다(Fig. 8). A군과 B군에 있어서 투여후 13일째에는 간장이 소량의 지방적을 나타낸 외에는 거의 정상으로 회복되어 있었다.

DL-ethionine을 투여하여 인위적으로 지방간증을 유발시킨 염소의 임상증상들은 개⁸²⁾와 송아지⁸³⁾에서 인위적으로 유발시킨 지방간증 및 분만후 젖소에서 자연발생된 지방간증^{37, 52, 53)}의 임상증상들과 일치하는 결과이었다. 즉, Wang 등⁸²⁾은 개에 DL-ethionine을 경구적으로 투여하여 지방간을 유발시켰던 바 식욕감퇴, 쇠약 및 체중감소 등의 임상증상이 나타났다고 하였으며, Yasuda⁸³⁾는 송아지에서도 DL-ethionine을 정맥으로 투여하였던 바 12시간후에 설사와 호흡촉박이 일어났고, 2일째 부터는 식욕감퇴와 의기소침 등의 증상을 보였는데 이는 지방간증에 기인된 것이라고 하였고 이러한 증상은 5일째는 점차 정상으로 회복되었다고 하였다. 또한 Morrow,⁵²⁾ Morrow 등⁵³⁾ 및 Herdt³⁷⁾는 분만후 지방간증이 있었던 젖소에서도 식욕결핍, 의기소침, 쇠약 및 보행이상 등의 임상증상이 관찰되었다고 하였다.

본 실험에서도 DL-ethionine을 염소에 투여하였던 바 1일째부터 처치군 모두에서 운동성 둔화 및 식욕감퇴를 나타내었다. A군(75mg/kg 연속 3일투여)에서는 5두중 1두가 5일째에, B군(150mg/kg 연속 3일투여)에서는 5두중 3두에서 3일째에 설사를 하였다. C군(150mg/kg을 격일로 3회 투여)에서는 5일째에 6두 모두가 설사증상을 나타내었고 또한 B군과 C군에서는 5일째부터 유연증상을 나타낸 것도 있었다. A군과 B군에서 7일째부터 회복되기 시작하여 10일경에 이르러서는 모두에서 회복되었는데 C군에서는 10일후부터 회복되기 시작하여 13일에 정상으로 회복되었다. 이와같은 결과는 약물투여량에 따라 임상증상에 차이가 있음을 나타내는 것이었다.

Boermans와 Black⁶⁾에 의하면 송아지에 DL-ethionine을 투여하여 지방간이 유발되었을 때 PCV는 5일째에 상승하였다고 하였고, Morrow 등⁵³⁾은 분만후 지방간증이 있었던 젖소에서 임상증상이 나타났을 때 PCV값이 증가된다고 하였다. 본 실험에서도 임상증상이 심했던 5일과 7일사이에 PCV값이 증가되었다. 이와같은 PCV값의 증가는 지방간 발생후 임상증상이 심했던 기간에 식욕감퇴와 설사 등에 의한 탈수 때문인 것으로 믿어진다.

간실질 세포내의 microsome에서 생성되는 혈청섭유소원은 혈중농도에 따라 그 생성율이 달라지며 다

른 혈장단백성분들 보다 반감기가 짧다.⁴⁵⁾ 본 실험에서의 혈청삼유소원의 농도는 모든 실험군에서 임상증상이 현저하였던 3~10일 사이에 각 처치군 마다 약간씩 감소되는 경향을 보였다. 이러한 현상은 간세포내에 지방 침착이 진행되는 시기에 간세포내의 소기관들이 물리적으로 압박받는데 기인된 것으로 믿어진다. 이는 지방간증이 유발되면 간세포내 미토콘드리아가 손상되어 단백질합성이 억제된다는 Hutterer 등(1961)의 보고와도 일치한다.

Morrow,⁵²⁾ Morrow 등,⁵³⁾ Reid와 Roberts⁶⁴⁾ 및 Reid 등⁶⁸⁾은 지방간증으로 여러가지 임상증상을 보이는 분만후의 젖소에 있어서 총백혈구수가 감소되었다고 하였다. 본 실험에서도 처치군 모두에서 임상증상이 현저했던 3~5일 사이에 총백혈구수가 감소되었는데 유의성은 인정되지 않았다. 이 시기에는 설사와 수분섭취 감소에 의해 혈액이 농축되어 있는 시기이기 때문에 백혈구수의 감소는 혈액희석에 의한 것으로 볼 수 없으며 백혈구 생산이 감소되었기 때문인 것으로 사료된다.

Wang 등⁸²⁾은 DL-ethionine을 투여한 토끼와 개, Farber 등²⁶⁾은 DL-ethionine을 투여한 랫트, Boermans와 Black⁶⁾은 DL-ethionine을 투여한 젖소에서 지방간증이 유발되고 TP양이 감소한다고 하였다. 그리고 Reid와 Collins⁶⁶⁾과 Reid 등⁷¹⁾은 분만후 젖소에서 지질이 간세포질의 30%이상으로 침착되었을 때 albumin값이 2.7 g/100ml로 감소되었다고 하였다. 본 실험에서의 TP양의 변동은 DL-ethionine 투여량에 관계없이 전군에서 임상증상이 나타나는 시기에서부터 감소되기 시작하여 임상증상이 소실되는 시기에 이르러서는 처치전 수준으로 회복되었다. 이와같은 결과는 앞에서의 연구자들의 성적과 일치되었는데, 그 기전은 지방간증이 되면 간세포내 과립내형질세망(RER)과 미토콘드리아가 지방적에 의해 물리적으로 압박되어 단백질합성이 방해된다는 선인들^{4,65,66,69)}의 보고와 관련이 있는 것으로 사료된다.

Wang 등⁸²⁾은 DL-ethionine 투여로 지방간이 유발된 토끼와 개에서 혈청 총지질량은 감소되며 Boermans와 Black⁶⁾은 DL-ethionine을 투여한 소의 경우에도 처치후 5~6일에 총지질량이 감소되었다고 하였다. 본 실험에서도 유의성은 없었지만 처치후 5~7일까지 혈청 총지질량이 감소됨으로써 선인들의 보고와 일치하였다. Bogin 등⁹⁾은 분만후 젖소에서 지방침착도가 중등도(20%) 이상으로 되었을 경우 간세포로부터 유

리지방산의 분비가 일어나지 못하여서 총지질량이 감소된다고 하였다.

NEFA는 주로 지방조직에서 동원되는 것으로서,⁷¹⁾ 소에서 DL-ethionine처치로 지방간증이 유발된 소에서 처치 1일째에 NEFA량이 유의성 있게 증가되고⁶⁾ 또한 분만후 젖소에서 지방침착 정도가 20%이상이었을 때 혈청 NEFA양이 증가되었는데 이와같은 변동은 대사에너지가 부족하게 되면 지방조직에서 NEFA가 혈중으로 동원되어 간에서 흡수된후 산화되어 에너지원으로 이용되거나 다시 에스테르화되어 TG로 변화된다. NEFA가 동원된후 계속 진행되어야 할 지방대사과정이 지방간증에서는 장애를 받기 때문에 혈청 NEFA양이 증가된다.^{32,38,64,65,71)} 본 실험에서도 혈청 NEFA치는 각 군에서 처치후 간기능장애가 심했던 3, 5일에 최고치를 나타내었는데 이와같은 결과는 선인들의 결과와 일치하였다.

TG는 간에서 생성되어 lipoprotein, cholesterol과 결합되어 VLDL(very low density lipoprotein)을 형성하여 혈중으로 분비되는 것으로 이의 혈청농도는 랫트에 DL-ethionine을 과량투여 하였을때 감소되고^{59,60,77)} 사염화탄소의 투여에 의해서도 감소되며,⁶¹⁾ 실험적으로 유발시킨 젖소의 지방간증 경우에도 감소된다고 하였다.⁶⁾ 그리고 Herdt 등³⁸⁾도 지방간증이 있는 젖소에서 TG량이 감소된다고 보고하였다. 본 실험의 경우에서는 처치 1일째에 TG량이 일시적으로 상승하였다가 그후 처치전 수준으로 감소되었는데 이것은 처치 1일째에 이미 지방조직으로부터 NEFA의 동원이 증가하기 시작했지만 아직 간에서의 TG분비에는 장애가 일어나지 않았기 때문에 처치 1일째에는 혈청 TG가 처치전 보다 증가하고 그후 간에서 TG분비장애를 일으킴에 따라 혈청 TG가 감소하게 되는 것으로 사료된다.

DL-ethionine투여로 지방간증을 유발시킨 랫트,^{60,78)} 개,^{27,29)} 개와 토끼⁸²⁾ 및 젖소⁶⁾에서 혈청cholesterol 농도는 감소되며 분만후 지방간증에 걸린 젖소에서도 감소되고,⁵³⁾ 절식시킨 젖소에서도 일시적으로 감소된다.¹⁰⁾ 지방간증에서 혈청 cholesterol이 감소되는 것은 단백질합성장애로 인해 TG가 cholesterol 및 지질단백질과 결합하여 VLDL로 전환되는 과정이 장애를 받기 때문에 혈중으로 cholesterol이 VLDL에 포함된 형태로 배출되지 못하기 때문이다.^{36,49)} 본 실험에서도 모든 처치군에서 cholesterol값이 감소된 경향은 위의 보고 예들과도 일치하였다.

Koch-weser 등⁴⁷⁾은 사염화 탄소와 DL-ethionine을 투여한 랫트에서 혈청 bilirubin농도는 증가된다고 하였으며, Boermans와 Black⁶⁾도 DL-ethionine을 투여한 소에서 혈청 bilirubin농도는 증가된다고 하였다. 그리고 분만후 중등도 이상으로 지방간증이 발생한 젖소에서 증가된다.^{66,71,84)} 본 실험에서 혈청 bilirubin농도는 모든 군에서 투여후 증가하기 시작하여 임상증상이 회복기에 들어선 7일째에 최고치를 나타내었고 A군과 B군은 10일째에, C군은 13일째에 정상치로 회복되었다. 이와같은 결과는 실험적인 랫트의 경우와 분만후 지방간증의 젖소에서와 일치하였다. 중등도 이상의 지방간에서 bilirubin농도 증가는 간대사 과정에서 bilirubin 결합부위의 NEFA가 경쟁적으로 결합함으로써 간에서의 흡수감소가 일어나고,⁵⁷⁾ biliary system이 지방적으로 종대된 세포들에 의해 물리적으로 압박되어 배설장애를 일으키기 때문인 것으로 사료된다.³³⁾

반추동물에서 혈청 SDH활성도는 간세포가 손상되었을 때 특이적으로 증가되어 간세포 손상을 알아내는 지표로 이용되고 있다고 하였으며^{7,28,37,43)} 또한 AST효소도 간과 근육 등에 존재하며 이들 세포막이 손상되거나 파괴되었을 때 그 혈청 활성도가 증가된다는 보고와,⁶⁶⁾ 미토콘드리아가 손상되었을 때도 증가된다는 보고도 있다.⁸⁾ 그리고 지방간증의 젖소를 대상으로 간세포내에 지방축적 정도와 이에 따른 변화를 관찰한 실험에서 중등도 이상으로 지방침착이 되면 AST활성도가 증가된다고 하였다.^{53,65,66,73,84)} 이 실험에서의 SDH활성도는 3일째에 급격히 증가되어 7일까지 높은 값을 유지하였고 AST활성도의 경우도 3일째부터 10일까지 증가되었으며 SDH와 AST활성도는 DL-ethionine의 투여량이 많을수록 더욱 높은 값을 보였다. 이는 간세포내에 지방축적이 일어남에 의해서 간세포의 손상과 간세포내의 미토콘드리아 손상에 의한 것으로 사료된다.

Naftalin 등⁵⁵⁾은 GGT는 동물의 담세관과 담관의 상피세포에 존재한다고 하였고, Noonan과 Meyer⁵⁸⁾는 개에 사염화탄소를 투여한 급성손상에서는 증가되지 않았으나 담관을 절찰한 결과 증가됨으로 간의 담관 폐쇄시에 증가된다고 하였다. 이 실험에서 GGT활성도는 A군과 B군에서는 변화가 없었고, C군에서는 7~13일 사이에 다소 증가하였으나 유의성 있는 변동은 없었다. 이러한 결과로 지방간증에서는 담관의 손상을 일으키지 않으며 GGT활성도는 진단에 의의가

미미한 것으로 사료된다.

동물에 DL-ethionine으로 유발시킨 지방간증에서는 간의 단백질이 감소된다고 함으로써 단백질대사에 이상이 있음을 시사하였다.^{26,82)} 그리고 Morrow 등⁵³⁾ 및 Reid와 Collins⁶⁶⁾도 지방간증 젖소에서 총단백량이 감소되었다고 함으로써 단백질대사에 이상이 있음을 시사하였다. 이러한 단백질대 이상을 더욱 연구하기 위하여 Wang 등⁸²⁾은 개에 지방간을 유발시킨후 cellulose acetate membrane(CAM)으로 혈청단백분획을 실시하였던 바 α_1^- , α_2^- 및 γ -globulin 분획이 감소되었고 albumin과 β -globulin분획은 상대적으로 증가된다고 하였다. 한편 Sekiguchi⁷⁹⁾는 좀 더 발전된 방법으로서 지방간증이 자연발생된 젖소의 혈청을 SDS-polyacrylamide 수직평판겔 전기영동상을 조사한 결과 분자량이 35,000 dalton인 35K단백분획이 관찰되었고 원혈청보다 원혈청을 Sephadex G-100을 이용하여 column chromatography를 실시하여 얻은 일부의 분획을 같은 방법으로 전기영동했을 때 35K 단백질분획이 더욱 확실하게 관찰되었다고 하였다. 또한 DL-ethionine 치료로 지방간을 유발시킨 경우에도 35K 단백질분획상이 관찰되어 35K 단백질분획의 검출은 지방간증 진단의 지표가 될 수 있음을 제시하였다. 본 실험에서는 원혈청의 SDS-polyacrylamide 수직평판겔 전기영동상에서 35K 단백질분획이 관찰되지 않았으나 Sephadex G-100으로 column chromatography하여 얻은 21번째와 22번째 분획을 전기영동한 결과 35K 단백질분획은 7일째부터 관찰되기 시작하였다. 이러한 결과는 35K 단백질분획의 검출이 DL-ethionine 투여에 의해 염소의 인위적인 지방간증에서도 지방간증 진단의 지표로 이용될 수 있음을 제시하지만 원혈청에서는 검출되지 않고 Sephadex G-100으로 분획한 일부 분획에서만 검출되기 때문에 35K 단백질의 혈청농도가 아주 낮으며 실제의 검출과정이 너무 복잡한 단점을 갖고 있다는 것을 알 수 있었다.

조직학적 관찰소견으로는 Koch-weser 등⁴⁷⁾은 개에서, Farber²²⁾는 랫트에서 그리고 Yasuda 등⁸³⁾은 송아지에서 각각 실험적으로 DL-ethionine을 투여한후 2일째에 간의 세포질에 무수한 작은 지방적이 나타났으며 3일째에 미세한 지방적이 다량 침착된 것을 확인하였고 7일후에는 이들의 크기가 커지고 지방변화가 현저하였다고 하였다. 본 실험에서 임상증상이 심해지기 시작하는 시기인 3일째에 작은 지방적이 침착되었고 7일째에는 육안적 소견으로 간이 황색조를 나타

내었으며 조직학적으로 심한 지방변화를 나타내었다. 그리고 Reid와 Collins⁶⁶⁾는 젖소에 있어서 분만후 7일째에 지방간증이 있는 간장의 전자현미경적 소견으로 작은 지방적이 간세포의 disspace를 폐쇄하고 있는 것을 관찰하였으며 간세포의 크기가 증가되어 유동을 압박함으로써 순환장애가 일어나게 된다고 하였는데 이것은 본 실험의 결과와 일치하였다.

이상의 실험결과를 종합검토하면 염소에 있어서 DL-ethionine을 투여하여 지방간증 모델동물을 작성할 수 있었으며 이렇게 작성된 지방간증은 임상병리학적 소견이나 조직병리학적 소견이 반추동물의 자연발생 지방간증과 일치하여 반추동물의 지방간증 연구에 이용하기에 적합할 것으로 사료되었다.

결 론

반추동물의 지방간에 대한 기초자료를 얻고자 한국흑염소에 DL-ethionine(75mg/kg/day 연속 3일간, 150mg/kg/day 연속 3일간, 150mg/kg 격일로 3회) 투여한후 임상증상, 혈액화치, 혈청화학치 및 간장의 병리조직학적인 변화를 경시적으로 조사하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. DL-ethionine으로 처치한 모든 군에서 지방간증이 발생되었다.

2. 모든 처치군에서 1일째부터 7일까지 식욕결핍, 의기소침 등의 임상증상이 나타난후 점차 정상으로 회복되었다. 150mg/kg을 투여한 양군에서는 설사와 유연증상도 나타내었는데 이와같은 임상증상은 투여량이 많을수록 심하였다.

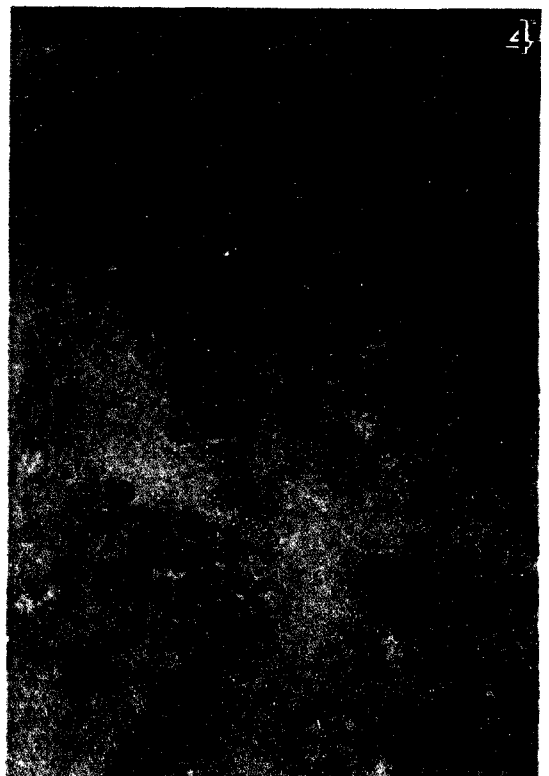
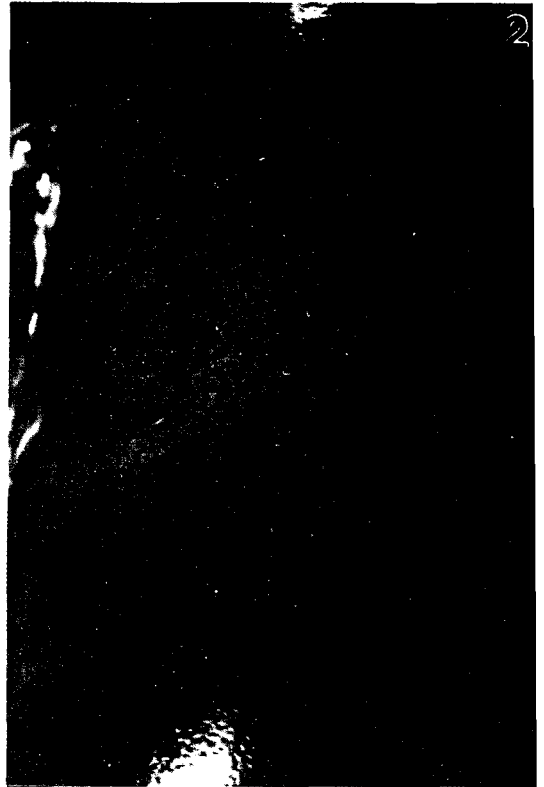
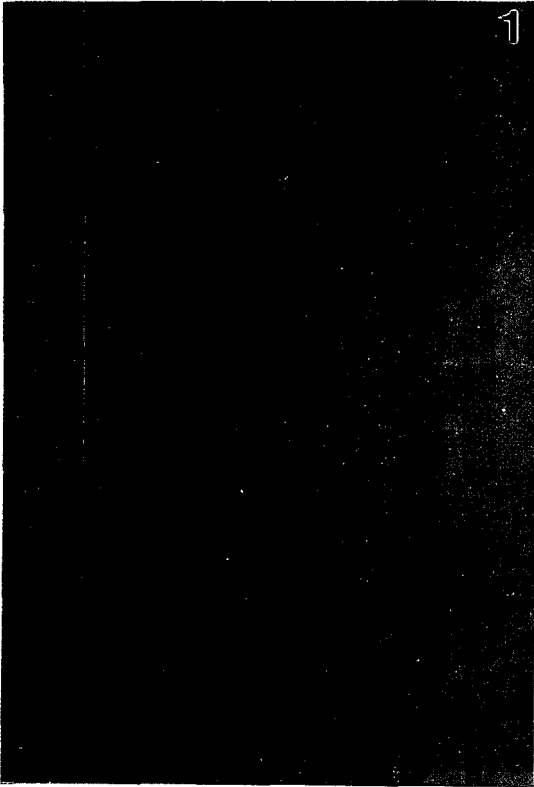
3. 총백혈구수 및 섬유소원은 모든 처치군에서 유의성 있는 변동을 나타내지 않았으나 PCV는 75와 150mg/kg 연속투여군에서 처치후 5일째에 유의성있게 증가되었다($p < 0.05$).

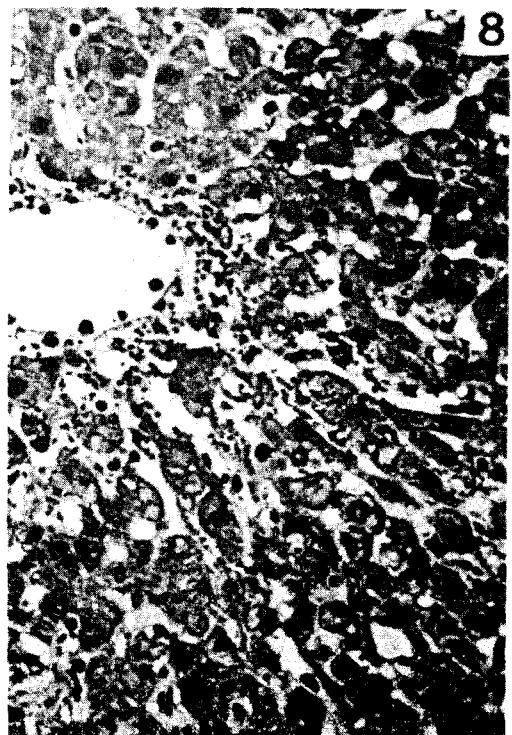
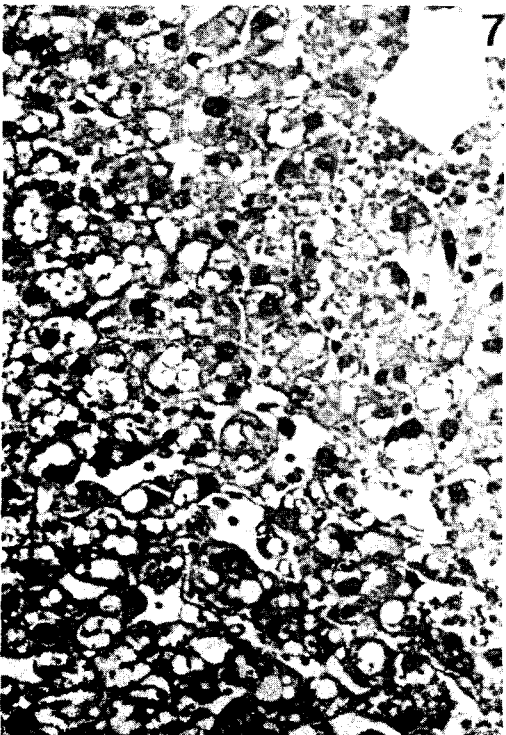
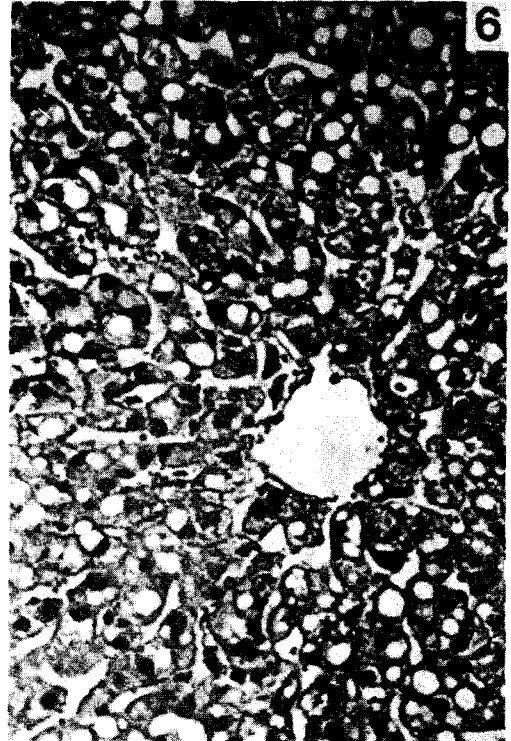
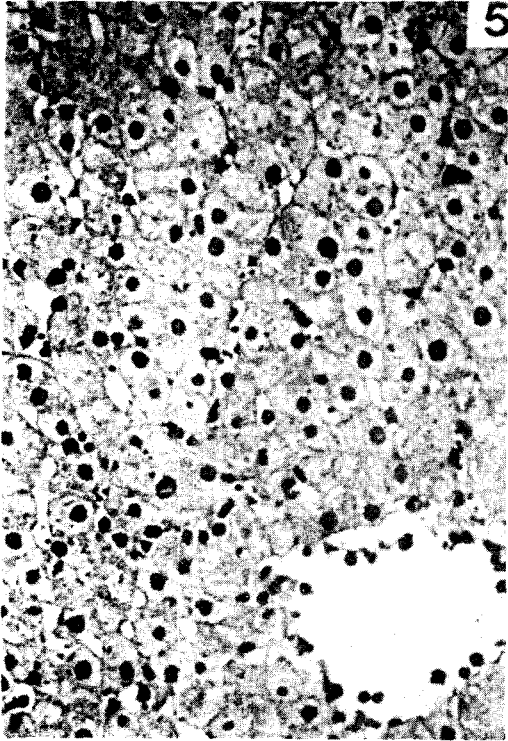
4. 혈청 총지질량은 처치군 모두에서 변화가 없었다. NEFA농도는 처치군 모두에서 처치 3일째부터 유의성있게 증가되었다가($p < 0.05$) 10일 후에는 처치전 수준으로 회복되었다. Triglyceride는 처치 1일째에 처치전 수준에 비해 유의성있게 증가되었다가($p < 0.05$) 3일째부터 처치전 수준으로 회복되었다. 그리고 cholesterol농도는 투여후 3일째에 유의성있게 감소되었다가($p < 0.05$) 10일후 처치전 수준으로 회복되었다.

5. 총단백량은 150mg/kg 연속 3일 및 격일 3회 처치군에서 처치후 10일째에 유의성있게 감소되었고($p < 0.05$), bilirubin농도는 처치군 모두에서 7일째에

Legends for Figures

- Fig. 1. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of the serum fractions obtained by Sepadex G-100 column chromatography(M:marker protein, A and B:goats of B groups, 7, 10, 13D : day after administration, 20, 21, 22;fraction number from Sepadex G-100 column chromatography).
- Fig. 2. Liver of B group at the 7th day of treatment with DL-ethionine. Liver parenchyma shows yellowish brown in color, and mottling in appearance.
- Fig. 3. Liver of B group at the 3rd day of treatment with DL-ethionine. Moderate degree of fat droplets in hepatic cells is shown. H & E. $\times 400$.
- Fig. 4. Liver of B group at the 7th day of treatment with DL-ethionine. Fat droplets in hepatic cells are shown. Oil red O. $\times 100$.
- Fig. 5. Liver of A group at the 3rd day of treatment with DL-ethionine. Slight degree of fine fat droplets in hepatic cells is shown. H & E. $\times 400$.
- Fig. 6. Liver of A group at the 7th day of treatment with DL-ethionine. Moderate degree of fat droplets in hepatic cells is shown. H & E. $\times 400$.
- Fig. 7. Liver of C group at the 7th day of treatment with DL-ethionine. Severe degree of fat droplets in hepatic cells is shown. Many hepatic cells are necrotic. H & E. $\times 400$.
- Fig. 8. Liver of C group at the 13th day of treatment with DL-ethionine. Hepatic cells are restored with normal architecture except small amount of fat droplets. H & E. $\times 400$.





유의성있게 증가되었다가($p < 0.05$) 13일 이후에는 처치전 수준으로 회복되었다.

6. 처치군 모두에서 혈중 GGT활성도는 유의성 있는 변동을 나타내지 않았으나 SDH와 AST활성도는 유의성 있게 증가되었다가($p < 0.05$) 투여 10~13일 후에는 처치전 수준으로 회복되었다.

7. 원혈청을 SDS-polyacrylamide 수직평판겔 전기영동했을 때는 35K 단백질이 검출되지 않았지만 Sephadex G-100으로 column chromatography를 실시하여 얻은 21번째와 22번째 분획을 같은 방법으로 전기영동하였을 때 35K 단백질이 검출되었다.

8. 간장의 육안적 변화는 처치군 모두에서 3일째에 충혈 종창되었으며 7일째에는 담황색 바탕에 침침대의 적색반점이 밀발되어 있었다. 조직학적으로는 간세포내에 지방적이 출현하였으며 특히 150mg/kg 연속 3일 및 격일 3회 투여군에서는 7일째에 현저하였고 간세포괴사도 동반되었다. 그러나 이들 간장의 변화는 13일 이후에는 거의 정상으로 회복되었다.

참 고 문 헌

- Adam, S. E. I. : A review of drug hepatotoxicity in animals. *Veterinary Bulletin*, (1972) 42 : 683.
- Addison, T. : Observations on fatty degeneration of the liver. *Guy's hosp. Rep.* (1836) 1 : 476. cited by Lieber C.S., Jones, D.P. and DeCarli, L.M. : Effects of prolonged ethanol intake : Production of fatty liver despite adequate diets : *J. Clin. Invest.*, (1965) 44 : 1009.
- Arvidson, G. and Olivecrona, T. : Fatty acid composition of plasma and tissue lipids of normal and ethionine-treated rats. *Acta Physiol. Scand.*, (1962) 55 : 303.
- Bagio, C. M. and Farber, E. : Reversal by adenine of the ethionine induced lipid accumulation in the endoplasmic reticulum of the rat liver. *J. cell biology*, (1965) 27 : 591.
- Best, C. H. and Huntsman, M. E. : The effects of the components of lecithine upon deposition of fat in liver. *J. Physiol. London*(1932) 75:405. cited by Lombardi, B., Ugazio, G. and Raick, A.N. : Choline-deficiency fatty liver : relation of plasma phospholipids to liver triglycerides. *Am. J. Physiol.*, (1966) 210 : 31.
- Boermans, H. J. and Black, W. D. : Effect of ethionine on hematologic and serum biochemical values in fasted calves. *Am. J. Vet. Res.*, (1983) 44 : 2208.
- Bogin, E. and Sommer, H. : Enzyme profile of healthy and fatty liver of cows. *Zbl. Vet. Med. A.*, (1978) 25 : 458.
- Bogin, E. Avidar, Y. and Merom, M. : Biochemical changes in liver and blood during liver fattening in rats. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, (1986) 24 : 621.
- Bogin, E., Avidar, Y., Merom, M., Soback, S. and Brenner, G. : Biochemical changes associated with the fatty liver syndrome in cows. *J. Comp. Path.*, (1988) 98 : 337.
- Brumby, P. E., Anderson, M., Tuckley, B., Storry, J. E. and Hibbitt, K. G. : Lipid metabolism in the cow during starvation-induced ketosis. *Biochem. J.*, (1975) 146 : 609.
- Cameron, G. L. and Karunratne, W. A. E. : Carbon tetrachloride cirrhosis in relation to liver regeneration. *J. Path. Bact.* (1936) 42 : 1. cited by Adam, S.E.I. : A Review of Drug Hepatotoxicity in Animals. *Veterinary Bulletin*, (1972) 42 : 683.
- Charles, R. C. : Protein purification; Separation in Solution. Springer-Verlag, New York, (1982) p. 151.
- Chritie, G. S. and Judah, J. D. : Mechanism of action of carbon tetrachloride on liver cells. *Proc. Roy. Soc. Ser. B.*, (1954) 142 : 241.
- Collins, R. A. and Reid, I. M. : A correlated biochemical and stereological study of periparturient fatty liver in the dairy cow. *Res. Vet. Sci.*, (1980) 28 : 373.
- Coppock, C. E., Noller, C. H., Wolfe, S. A., Callahan, C. J. and Backer, J. S. : Effect of forage concentrate ratio in complete feeds fed ad libitum on feed intake prepartum and the occurrence of abomasal displacement in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, (1972) 55 : 783.
- Deutscher, M. P. : Protein purification methods in enzymology, (1990) 182 : 68, 425.
- Dianzani, M. U. : Reactions of the Liver to Injury : Fatty Liver. Marcel Dekker, Inc., New York, (1979) p. 281.
- Dieble, J. H. : *Br. Med. J.* (1951) 1 : 833. cited by Farber, E. : Ethionine fatty liver. *Advances in Lipid Metabolism*, (1967) 5 : 119.
- Dyer, H. M. : *J. Biol. Chem.* (1938) 124 : 519. cited by Farber, E. : Ethionine fatty liver. *Advances in Lipid Metabolism*, (1967) 5 : 119.
- Elko, E. E., Wooles, W. R. and Di Luzio, N. R. : Alterations and mobilization of lipids in acute ethanol-treated rats. *Am. J. Physiol.*, (1961) 201 : 923.
- Emery, R. S., Hafs, H. D., Armstrong, D. and Snyder, W. W. : Prepartum grain feeding effects on milk production, mammary edema and incidence of diseases. *J. Dairy Sci.*, (1969) 52 : 345.
- Farber, E. : Ethionine fatty liver. *Advances in Lipid Metabolism*, (1967) 5 : 119.
- Farber, E. and Segaloff, A. : Effect of androgens and growth and other hormones on ethionine fatty liver in rats. *J. Biol. Chem.*, (1955) 216 : 471.
- Farber, E., Simpson, M. V. and Tarver, H. : Studies on ethionine(The interference with lipids metabolism). *J. Biol. Chem.*, (1950) 182 : 91.
- Farber, E., Koch-Weser, D. and Popper, H. : The influence of

- sex and of testosterone upon fatty liver due to ethionine. *Endocrinology*, (1951) 48 : 205.
26. Farber, E., Shull, K. H., Villa-Trevino, S., Lombardi, B. and Thomas, M. : Biochemical pathology of acute hepatic adenosine triphosphate deficiency. *Nature*, (1964) 203 : 34.
 27. Feinberg, H., Rubin, L., Hill, R., Entenman, C. and Chaikoff, I. L. : Reproduction of serum lipids and lipoproteins by ethionine feeding in the dogs. *Science*, (1954) 120 : 317.
 28. Fetcher, A. : Liver diseases of sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America*, (1983) 5 : 525.
 29. Furman, R. H., Norcia, L. N., Robinson, C. W. and Gonzalez, I. E. : Influence of testosterone, methyltestosterone and dl-ethionine on canine liver lipids, serum lipids and lipoproteins. *Am. J. Physiol.*, (1957) 191 : 561.
 30. Gaal, T., Reid, I. M., Collins, R. A., Roberts, C. J. and Pike, B. V. : Comparison of biochemical and histological methods of estimating fat content of liver of dairy cows. *Res. Vet. Sci.*, (1983) 34 : 245.
 31. Gerlach, U. : Methods of enzymatic analysis. Academic Press, Inc., New York, (1965) p. 761.
 32. Gerloff, B. J., Herdt, T. H. and Emery, R. S. : Relationship of hepatic lipidosis to health and performance in dairy cattle. *JAVMA*, (1986) 188 : 845.
 33. Gopinath, C. and Ford, E. J. H. : Location of liver injury and extent of bilirubinaemia in experimental liver lesions. *Vet. Path.*, (1972) 9 : 99.
 34. Haas, E. : 50 Diagnostic special stain for surgical pathology. 1st ed. Lippincott, Pennsylvania, (1981) p. 83.
 35. Haass, C. L. and Eness, P. G. : Bovine fatty liver syndrome. *Iowa State Veterinarian*, (1984) 46 : 108.
 36. Harris, P. M. and Robinson, D. S. : Ethionine administration in the rat. *Biochem. J.*, (1961) 80 : 352.
 37. Herdt, T. H. : Fatty liver in dairy cows. *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice*, (1988) 4 : 269.
 38. Herdt, T. H., Liesman, J. S., Gerloff, B. J. and Emery, R. S. : Reduction of serum triacylglycerol-rich lipoprotein concentrations in cows with hepatic lipidosis. *Am. J. Vet. Res.*, (1983a) 44 : 293.
 39. Herdt, T. H., Goeders, L., Liesman, J. S. and Emery, R. S. : Test for estimation of bovine hepatic lipid content. *JAVMA*, (1983b) 182 : 953.
 40. Herdt, T. H., Wensing, T., Haagsman, H. P., Van Golde, L. M. G. and Breukink, H. J. : Hepatic triacylglycerol synthesis during a period of fatty liver development in sheep. *J. Anim. Sci.*, (1988) 66 : 1997.
 41. Higgins, R. J. and Anderson, W. S. : Fat cow syndrome in a British dairy herd. *Vet. Rec.*, (1983) 113 : 461.
 42. Hoyumpa, A. M., Greene, H. L., Dunn, G. D. and Schenker, S. : Fatty liver : Biochemical and clinical considerations. *Digestive Diseases*, (1975) 20 : 1142.
 43. Hughes, D. L., Treacher, R. J. and Harness, E. : Plasma enzyme changes in goats infected with *Fasciola hepatica* and the effects of nitroxylin. *Res. Vet. Sci.*, (1973) 15 : 249.
 44. Hutterer, F., Fitschen, W. and Popper, H. : Mitochondrial damage and hepatic steatosis in ethionine intoxication. *The British J. Experimental Pathology*, (1961) 42 : 187.
 45. Jain, N. C. : *Veterinary Hematology*, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, (1986) p. 940.
 46. Jensen, D., Chaikoff, I. L. and Tarver, H. : The ethionine-Induced fatty liver : Dosage, prevention and structural specificity. *J. Biol. Chem.*, (1951) 192 : 395.
 47. Koch-Weser, D., Farber, E. and Popper, H. : Fatty liver with and without necrosis. *A. M. A. Archives of Pathology*, (1952) 51 : 498.
 48. Lieber, C. S. and Spritz, N. : Effects of prolonged ethanol intake in man : Role of dietary, adipose, and endogenously synthesized fatty acids in the pathogenesis of the alcoholic fatty liver. *J. Clin. Invest.*, (1966) 45 : 1400.
 49. Lombardi, B. : Considerations on the pathogenesis of fatty liver. *Lab. Invest.*, (1966) 15 : 1.
 50. Lombardi, B., Ugazio, G. and Raick, A. N. : Choline-deficiency fatty liver : relation of plasma phospholipids to liver triglycerides. *Am. J. Physiol.*, (1966) 210 : 31.
 51. McCormack, J. : Fat cow syndrome and its complications. *VM/SAC*, (1978) 73 : 1057.
 52. Morrow, D. A. : Fat cow syndrome. *J. Dairy Sci.*, (1976) 59 : 1625.
 53. Morrow, D. A., Hillman, D., Dade, A. W. and Kitchen, H. : Clinical investigation of a dairy herd with the fat cow syndrome. *JAVMA*, (1979) 174 : 161.
 54. Naftalin, L., Sexton, M., Whitaker, J. F. and Tracey, D. : A routine procedure for estimating serum gamma-glutamyl transpeptidase activity. *Clin. Chem. Acta*, (1969a) 26 : 293.
 55. Naftalin, L., Child, V. J., Morley, D. A. and Smith, D. A. : Observations on the site of origin of serum γ glutamyl transpeptidase. *Clin. Chem. Acta*, (1969b) 26 : 297.
 56. Natori, Y. : Studies on ethionine (Sex-dependent behavior of methionine and ethionine in rats). *J. Biol. Chem.*, (1963) 238 : 2075.
 57. Naylor, J. M., Knopf, D. S. and Johnson, K. : Fasting hyperbilirubinaemia and its relationship to free fatty acids and triglycerides and in the horse. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, (1980) 165 : 86.
 58. Noonan, N. E. and Meyer, D. J. : Use of plasma arginase and gamma-glutamyl transpeptidase as specific indicator of hepatocellular or hepatobiliary disease in the dog. *Am. J. Vet. Res.*, (1979) 40 : 942.
 59. Olivecrona, T. : The metabolism of 1-C¹⁴-palmitic acid in rats with ethionine-induced fatty livers. *Acta Physiol. scand.*, (1962a) 54 : 287.
 60. Olivecrona, T. : Plasma and liver lipids of ethionine-treated rats. *Acta Physiol. Scand.*, (1962b) 55 : 291.
 61. Poggi, M. and Paoletti, R. : A New insight on carbon tetrachloride effect on triglyceride transport. *Biochemical Phar-*

- macology, (1964) 13 : 949.
62. Rebougas, G. and Isselbacher, K. J. : Studies on the pathogenesis of the ethanol-induced fatty liver. I. Synthesis and oxidation of fatty acids by the liver. *J. Chin. Invest.*, (1961) 40 : 1355.
 63. Recknagel, R. O., Lombardi, B. and Schotz, M.C. : A new insight into pathogenesis of carbon tetrachloride fat infiltration. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, (1960) 104 : 608.
 64. Reid, I. and Roberts, J. : Fatty liver in dairy cows. *Inpractice*, (1982) 4 : 164.
 65. Reid, I. M. : Incidence and severity of fatty liver in dairy cows. *Vet. Rec.*, (1980) 107 : 281.
 66. Reid, I. M. and Collins, R. A. : The pathology of post-Parturient fatty liver in high-yielding dairy cows. *Invest. Cell Pathol.*, (1980) 3 : 237.
 67. Reid, I. M., Roberts, C. J. and Manston, R. : Fatty liver and infertility in high-yielding dairy cows. *Vet. Rec.*, (1979a) 104 : 75.
 68. Reid, I. M., Dew, A. M. and Williams, L. A. : Haematology of subclinical fatty liver in dairy cows. *Res. Vet. Sci.*, (1984) 37 : 63.
 69. Reid, I. M., Collins, R. A., Patterson, A. and Treacher, R. J. : Organelle changes in the liver cells of dairy cows around the time of calving. *J. Comp. Path.*, (1981) 91 : 245.
 70. Reid, I. M., Collins, R. A., Baird, G.D., Roberts, C.J. and Symonds, H.W. : Lipid production rates and the pathogenesis of fatty liver in fasted cows. *J. agric. Sci., Camb.*, (1979b) 93 : 253.
 71. Reid, I. M., Rowlands, G. J., Dew, A. M., Collins, R. A., Roberts, C. J. and Manston, R. : The relationship between postparturient fatty liver and blood composition in dairy cows. *J. agric. Sci., Camb.*, (1983) 101 : 473.
 72. Reitman, S. and Frankel, S. : A colorimetric method for the determination of serum glutamic-oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Path.*, (1957) 28 : 56.
 73. Roberts, C. J., Reid, I. M., Rowlands, G.J. and Patterson, A. : A fat mobilization syndrome in dairy cows in early lactation. *Vet. Rec.*, (1981) 108 : 7.
 74. Rosenfeld, G. : *Ergeb. Physiol.* (1902) 1 : 651. cited by Farber E. : Ethionine fatty liver. *Advances in Lipid Metabolism*, (1967) 5 : 119.
 75. Schalm, O. W., Smith, R. and Kaneko, J. J. : Plasma protein : Fibrinogen ratios in dogs, cattle and horses. I. Influence of age on normal values and explanation of use in disease. *Calif. Vet.*, (1970) 24 : 9.
 76. Schapiro, R. H., Scheig, R. J., Gladys, D., Drummey, B. S., Mendelson, J. H. and Lsselbacher, K. J. : Effect of prolonged ethanol ingestion on the transport and metabolism of lipids in man. *The New England J. of Medicine*, (1965) 272 : 610.
 77. Schlunk, F. F. and Lombardi, B. : On the ethionine-induced fatty liver in male and female rats. *Laboratory Investigation*, (1967) 17 : 299.
 78. Seidel, J. C. and Harper, A. E. : Effects of ethionine on serum lipids and lipoproteins. *Proc. Soc. Exp. Bio. and Med.*, (1962) 111 : 579.
 79. Sekiguchi, K., Katoh, N. and Motoi, Y. : Specific increase of 35K protein in the sera of cow with fatty liver. *Jpn. J. Vet. Sci.*, (1986) 48 : 745.
 80. Slatter, D. H. : *Small Animal Surgery : Liver and Biopsy System*. 1st ed. Saunders, London, (1985) p. 818.
 81. Standerfer, S. B. and Handler, P. : Fatty liver induced by orotic acid feeding. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, (1955) 90 : 55.
 82. Wang, C., Paronetto, F., Sohar, E. and Adlersberg, D. : Effects of ethionine administration in rabbits and dogs. *A.M.A. Archives of Pathology.*, (1958) 65 : 279. -
 83. Yasuda, J., Sanda, K., Okazaki, H., Iwase, E., Machida, N., Too, K. and Satoh, H. : Glutamic oxaloacetic transaminase isoenzymes in bovine liver disease. *Jpn. J. Vet. Sci.*, (1988) 50 : 71.
 84. 種村高一, 大場茂夫, 平井 定, 西山 篤, 津曲茂久, 武石昌敬 : 脂肪肝牛に對するチオフロニンの治療效果. *日獸會誌*, (1986) 39 : 749.

Clinical Pathologic Study on DL-Ethionine Induced Fatty Liver in Korean Black Goats

Kyoung-Kap Lee D.V.M., Ph.D and **Hee-In Choi**, D.V.M., Ph.D.

College of Veterinary Medicine, Seoul National University

Abstract

This study was carried out to investigate fatty liver in Korean black goats. Adult female goats were

divided into 3 test groups (A, B and C). Group A and B of goats each received 3 consecutive daily doses of DL-ethionine at 75mg/kg and 150mg/kg body weight, respectively. Group C of goats was given 3 consecutive doses of the compound every 48 hours at 150mg/kg body weight.

The clinical symptoms, hematological values, serum chemical values and histopathological study of the liver were investigated in the test animals.

The results obtained are as follows;

1. Fatty liver was observed in every test animal.
2. Some clinical symptoms (anorexia, depression) were appeared from 1st day to 7th day after administration of the compound in every test animal. In addition to these symptoms, diarrhea and salivation were generally observed in test animals which were given the compound at 150mg/kg body weight. The degree of these symptoms was dose dependent.
3. There was no significant variations in total WBC counts and fibrinogen values in the blood of test goats. The PCV values were significantly increased on 5th day of dosing in group A and B of goats.
4. The total lipid value was not changed but the concentration of NEFA was significantly increased on 3rd day of dosing with the compound and returned to normal value after 10 days hereafter. The value of triglycerides was significantly increased on 1st day and returned to normal value on 3rd day of dosing. The value of cholesterol was significantly decreased on 3rd day and returned to normal value on 10th day after treatment.
5. Total protein level was decreased on 10th day of dosing in the groups of B and C, and bilirubin level was significantly increased on 7th day of dosing in every test group and returned to normal level after 13th day of administration.
6. The activity of GGT in serum was not changed while the activities of SDH and AST were significantly increased in every test goat and those values were returned to normal after 10~13th day of treatment.
7. The 35K-protein fraction in serum was not detected by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis, but this protein fraction was detected by the same method after treating the 21st and 22nd fraction which were obtained by column chromatography with Sephadex G-100.
8. The affected liver was congested and swollen on 3rd day, and yellowish brown in color and mottled appearance on 7th day of treatment. Histopathologically, fat droplets were common in the hepatocytes, this change was intensive on 7th day after treatment in group B and C. Hepatic cell necrosis was observed in some livers but this pathological change was disappeared and returned to normal after 13 days of treatment.