

닭의 혈청 Creatine phosphokinase (CPK) 총 활성 및 CPK isoenzymes 분획에 관한 연구

김봉식, 허인, 김종형, 장명환, 김원선, 김덕환*

충청남도 가축위생시험소 서해지소
충남대학교 수의과대학 수의학과*

Studies on the Serum Total Creatine Phosphokinase (CPK) Activities and CPK Isoenzymes Fractions of Chicken

Bong-Sik Kim, In Hurh, Jong-Hyung Kim, Myong-Whan Jang,
Won-Sun Kim, Duk-Whan Kim*

Sôhae Branch of Chungnam Veterinary Service Laboratory
Chungnam National University*

Abstract

Clinically healthy 66 female Maniker breed chicken(22 of 2-week-old : group A, 23 of 8-week-old : group B and 21 of 27-week-old : group C) and 66 female Manina breed chicken (21 of 2-week-old : group D, 22 of 8-week-old : group E and 23 of 27-week-old : group F) were examined to establish physiological basic data on serum total Creatine phosphokinase (CPK) activities and CPK isoenzymes fractions.

The results obtained were summarized as follows :

1. Serum total CPK activities were $1,088 \pm 254.0$ IU / ℓ , $1,454 \pm 337.2$ IU / ℓ and $1,440 \pm 526.3$ IU / ℓ in gorup A, group B and group C of Maniker breed, respectively. Group B and group C showed higher values than that of group A ($P < 0.01$) meaning high values with aging.
2. Serum total CPK activities were $1,676 \pm 420.5$ IU / ℓ , $1,007 \pm 283.1$ IU / ℓ and 862 ± 294.5 IU / ℓ in group D, group E and group F of Manina breed, respectively. Group D showed the highest value among groups ($P < 0.01$) and Manina breed showed the low values of serum total CPK activities with aging.
3. Manina breed at 2-week-old and Maniker breed at 8-week-old and 27-week-old showed significant high values of total serum CPK activities in breed differance ($P < 0.01$)
4. In the pattern of serum CPK isoenzyme fractions, group A and group B were high with decreasing order of $CK_3 > CK_2 > CK_1$ and group C was high with decreasing order of $CK_2 >$

CK₃>CK₁. Group D, E and F showed the same pattern with decreasing order of CK₂>CK₃>CK₁.

5. Significance of CPK isoenzymes fractions in breed difference was only found at 8-week-old. CK₁ and CK₃ in Maniker breed (P<0.05), and CK₂ in Manina breed were higher than that of the other breed (P<0.01).

Key word : Creatine phosphokinase, serum, chicken.

序 論

혈청내 존재하는 여러 화학 성분에 대한 정상치의 설정은 임상병리 검사성적을 평가하는데 우선적으로 필요하며 또한 질병의 진단에 있어 필수적인 사항이다.

Creatine phosphokinase (CPK)는 동물의 골격근에 그 활성이 압도적으로 높은 것으로 알려져 있는 효소로서^{1,3)} CK₁, CK₂, CK₃ 등 3종류의 isoenzyme subunit 구성 성분을 지니는 것으로 밝혀져^{2,5)}, 사람의 심장질환, 근육질병 및 중추신경계 질병의 감별진단에 이용되고 있다.^{6,9)}

동물에 있어서도 소^{10, 11)}, 말¹²⁾, 양¹³⁾, 산양¹⁴⁾, 개^{15, 16)} 및 실험동물¹⁷⁾의 혈청 CPK 총 활성과 혈청 및 장기조직의 CPK isoenzyme 분획의 패턴이 조사되어, 수치상의 차이는 있지만 사람과 마찬가지로 3종류의 isoenzyme분획이 존재한다는 사실이 밝혀지게 되었다. 그러나 현재까지 닭을 대상으로한 CPK 총 활성은 물론 CPK isoenzyme에 대한 검토는 전혀 이루어져 있지 않은 실정이다.

이제 저자들은 닭의 혈청 CPK에 대한 생리적 기초자료를 확립할 목적으로 국내에서 사육중인 2품종(MANINA 및 MANIKER)의 닭을 연령별(2주령, 8주령 및 27주령)로 3군으로 구분하여 혈청 CPK 총 활성과 CPK isoenzyme분획을 조사하여 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

材料 및 方法

실험동물

경기도 포천군에서 사육되는 임상적으로 건강하다고 판단된 MANIKER 순종계(2주령 22수 : A군, 8주령 23수 : B군 및 27주령 21수 : C군)와 MANINA 순종계(2주령 21수 : D군, 8주령 22수 : E군 및 27주령 23수 : F군)의 암컷을 무작위로 선발하여 실험에 공하였다.

실험방법

시료채취 : 혈액은 안정된 공시동물의 경정맥(2주령) 및 익하정맥(8주령, 27주령)에서 3~5 ml를 채혈하여 실온에서 응고시킨 다음 원심하여(3,000rpm, 30분) 혈청을 분리한 후 측정할 때까지 동결보존(-20℃)하였다.

혈청 CPK 총 활성의 측정 : 혈청 CPK 총 활성의 측정은 분광광도계(Hitachi 7150, Japan)로 시판용 시액키트(Wako chemicals)를 사용하여 효소법(Creatine phosphate 기질법)¹⁸⁾으로 측정하였다.

혈청 CPK isoenzyme 분획의 측정 : 혈청 CPK isoenzyme 분획의 측정은 전기영동장치(Helena Laboratories, USA)을 이용하여 cellulose acetate 전기 영동법으로 실시하였다. Sample well에 10μl 씩 분주한 시료를 Electra HR 완충액(tris-barbital sodium barbital 18g을 증류수 1,750ml에 녹인것, pH 8.8)에 30분간 담가두었던 TITAN III ISO-FLUR plate에다 CPK applicator를 이용하여 2회 흡수시킨 다음 영동상에 넣고 300V로 8분간 전기영동을 실시하였다.

영동이 끝난후 plate를 미리 준비한 기질판 위

에 놓고 부란기(37℃)에서 45분간 반응시킨 후 56℃에서 10분간 건조시켰다.

건조된 plate는 Densitometer(Cliniscan II, Helena Laboratories, USA)를 이용하여 CPK isoenzyme 각 분획의 백분비를 구하였다.

통계분석 : CPK 총 활성과 CPK isoenzyme 분획의 유의성 검정은 t-test로 실시하였다.

結 果

혈청 CPK 총 활성

CPK 총 활성의 결과는 표 1 과 표 2 에 나타난 바와 같다.

즉, MANIKER 품종인 A군, B군 및 C군에서는 CPK 총 활성이 각각 평균 1,088 ±254.0 IU/ℓ, 1,454 ±337.2 IU/ℓ 및 1,440 ±526.3 IU/ℓ로서 B군 및 C군이 A군보다 높아 (P<0.01) 加齡과 더불어 고치를 나타내었다.

또한, MANINA 품종에서는 D군, E군 및 F군이 각각 평균 1,676 ±420.5 IU/ℓ, 1,007 ±283.1 IU/ℓ 및 862 ±294.5 IU/ℓ로서 D군이 가장 높았으며 (P<0.01), 加齡과 더불어 저치를 나타내었다.

또한 품종간에서 2주령은 MANINA 품종이, 그리고 8주령과 27주령에서는 각각 Maniker 품종이 고치를 나타내었다(P<0.01).

CK isoenzyme 분획

CK isoenzyme 분획의 결과는 표 1 과 표 2 에 나타난 바와 같다. 즉, A군은 CK₁, CK₂ 및 CK₃가 각각 0.2±0.16%, 48.4±5.66% 및 51.4±5.73%로서 CK₃ >CK₂ >CK₁의 순으로 높았다 (그림 1).

B군은 CK₁, CK₂ 및 CK₃가 각각 0.2±0.14%, 48.3±8.62% 및 51.5±8.64%로서 그 경향이 A군과 동일하게 CK₃ >CK₂ >CK₁의 순으로 높았다. 그리고 C군은 CK₁, CK₂ 및 CK₃가 각각 0.1±0.08%, 63.9 ±8.43% 및 36.0 ±8.41%로서

Table 1. Serum total CPK activities and CPK isoenzymes fractions in Maniker breed chicken

Group		A (n : 22)	B (n : 23)	C (n : 21)
Total CPK activities (IU / ℓ)		1,088 ±254.0* (685-1,820)**	1,454 ±337.2 (794-2,218)	1,440 ±526.3 (604-2,606)
CK i s o e n z y m e (%)	CK ₁	0.2±0.16 (0.0-0.5)	0.2±0.14 (0.1-0.6)	0.1±0.08 (0.0-0.2)
	CK ₂	48.4±5.66 (38.2-59.2)	48.3±8.62 (32.7-62.5)	63.9±8.43 (50.2-77.8)
	CK ₃	51.4±5.73 (40.3-61.7)	51.5±8.63 (37.0-66.9)	36.0±8.41 (22.2-49.7)

* Mean ± S.D

** Range

Table 2. Serum total CPK activities and CPK isoenzymes fractions in Manina breed chicken

Group		D (n : 21)	E (n : 22)	F (n : 23)
Total CPK activities (IU / ℓ)		1,676 ± 420.5* (700–2,414)**	1,007 ± 283.1 (554–1,484)	862 ± 294.5 (505–1,564)
CK i s o e n z y m e (%)	CK ₁	0.2 ± 0.17 (0.0–0.6)	0.1 ± 0.18 (0.0–0.8)	0.2 ± 0.29 (0.0–1.2)
	CK ₂	51.5 ± 12.95 (33.2–79.7)	68.0 ± 10.88 (45.4–89.0)	69.4 ± 9.24 (51.3–83.9)
	CK ₃	48.4 ± 12.91 (20.3–66.6)	32.0 ± 10.87 (10.9–54.4)	30.4 ± 9.3 (15.9–48.3)

* Mean ± S.D ** Range

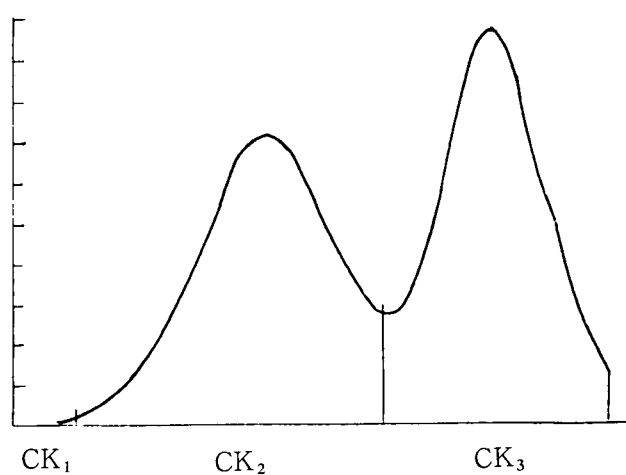


Fig 1. The pattern of serum CPK isoenzymes fractions in 2-week-old of Maniker breed chicken

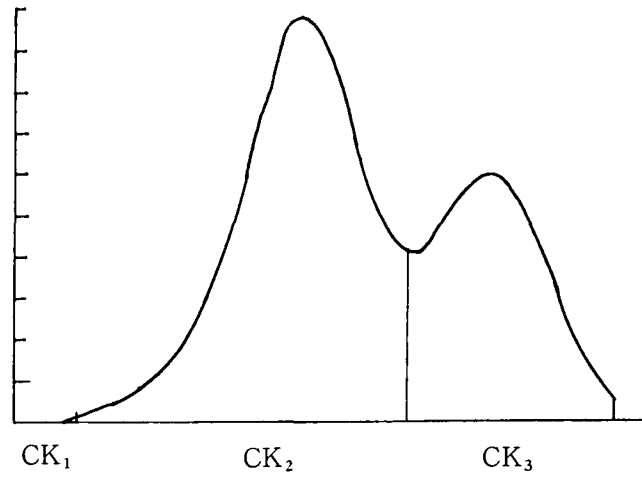


Fig 2. The pattern of serum CPK isoenzymes fractions in 27-week-old of Maniker breed chicken

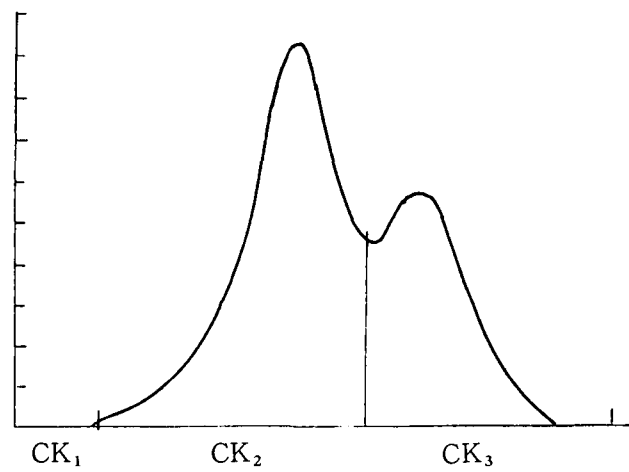


Fig 3. The pattern of serum CPK isoenzymes fractions in 27-week-old of Manina breed chicken

CK₂>CK₃>CK₁의 순으로 높았다(그림 2).

한편, D군, E군 및 F군에서는 각 군 공히 CK₂>CK₃>CK₁의 순으로 높았는데(그림 3), D군에서는 51.5±12.95%, 48.4±12.91% 및 0.2±0.17%, E군에서는 68.0±10.88%, 32.0±10.87% 및 0.1±0.18% 그리고 F군에서는 69.4±9.24%, 30.4±9.30% 및 0.2±0.29%이었다.

품종간에 있어서는 8주령에서만 유의성이 인정되었는데, CK₁과 CK₃는 MANIKER 품종이 더 높았는데 (P<0.05), CK₂는 MANINA 품종이 더 높았다(P<0.01).

考 察

닭의 혈청 CPK 총 활성과 CPK isoenzyme분획의 패턴이 본 연구에 의해 밝혀지게 되었는데, 지금까지 닭에 대한 보고가 없어 직접 비교할 수 없으나 다른 동물에서 조사된 혈청 CPK 총 활성의 성적과 비교해 보면, 개(106.2±29.9 IU/ℓ)¹⁶⁾, 산양(67.8±17.7 IU/ℓ : 1세 미만 암컷)¹¹⁾, 한우(56.8±19.7 IU/ℓ : 암컷, 65.6±10.8 IU/ℓ : 수컷)¹¹⁾ 및 유우(72.5±8.2 IU/ℓ : 송아지, 60.8±12.8 IU/ℓ : 성우)¹¹⁾보다 닭의 CPK 총 활성이 높을 가능성을 시사하는 것으로 생각된다. 앞으로 장기조직의 CPK 총 활성에 대해서도 검토가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

또한 품종간과 연령간의 차이도 인정되어 MANINA 품종에서는 2주령에서 CPK 총 활성이 가장 높았고 가령과 더불어 저치인 경향인 반면 Maniker 품종에서는 가령과 더불어 고치인 경향이었는데, 매우 흥미 있는 사실로 생각된다.

그리고 혈청 CPK isoenzyme 분획은 MANINA 품종에서 A군과 B군이 CK₃>CK₂>CK₁의 순으로 높았고 C군에서는 CK₂>CK₃>CK₁의 순으로 높아 C군은 MANINA 품종의 모든 군(D군, E군 및 F군)의 isoenzyme 패턴과 동일한 경향이였다.

동물의 혈청 CPK isoenzyme 분획의 패턴을 보면 산양(CK₃>CK₂>CK₁)¹¹⁾, 한우(CK₃>

CK₂>CK₁)¹¹⁾ 및 개(CK₁>CK₃>CK₂)¹⁶⁾에 대한 성적이 알려져 있다. 본 조사에서 Maniker 품종(A군 및 B군)은 산양과 한우의 패턴과 동일하였고 MANINA 품종은 독특한 패턴을 나타내었다. 닭의 혈청 CPK isoenzyme 분획에서 CK₂ 및 CK₃가 주 분획인점은 타 동물에서 알려진 바와 같이 골격근과 심근에 존재하는 CK₂ 및 CK₃의 반영인 것으로 추측된다. 앞으로 장기조직별 CPK isoenzyme 분획의 측정에서 대해서 검토할 필요가 있는 것으로 생각된다.

結 論

닭의 생리적 기초자료를 확립할 목적으로 임상적으로 건강하다고 판단된 Maniker 순종계 66수(2주령 22수 : A군, 8주령 23수 : B군 및 27주령 21수 : C군)와 MANINA 순종계 66수(2주령 21수 : D군, 8주령 22수 : E군 및 27주령 23수 : F군)의 암컷을 대상으로 혈청 CPK 총 활성과 CPK isoenzyme 분획을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Maniker 순종계인 A군, B군 및 C군에서는 혈청 CPK 총 활성이 각각 평균 1,088±254.0 IU/ℓ, 1,454±337.2 IU/ℓ 및 1,440±526.3 IU/ℓ로서 B군과 C군이 A군보다 높아(P<0.01)加齡과 더불어 고치를 나타내었다.

2. MANINA 순종계인 D군, E군 및 F군에서는 혈청 CPK 총 활성이 각각 평균 1,676±420.5 IU/ℓ, 1,007±283.1 IU/ℓ 및 862±294.5 IU/ℓ로서 D군이 가장 높았으며 (P<0.01)加齡과 더불어 저치를 나타내었다.

3. 품종간의 CPK 총 활성의 차이는 2주령은 MANINA 순종계가, 8주령 및 27주령에서는 각각 Maniker 순종계가 높았다(P<0.01).

4. CPK isoenzyme 분획의 패턴은 A군 및 B군은 CK₃>CK₂>CK₁의 순으로, C군은 CK₂>CK₃>CK₁순으로 높았으며, D군, E군 및 F군은 CK₂>CK₃>CK₁의 순으로 높았다.

5. 품종간 CPK isoenzyme 분획의 차이는 8주

령에서만 유의성이 인정되어 CK₁과 CK₃는 Maniker 순종계가 (P < 0.05), CK₂는 MANINA 순종계가 더 높았다(P < 0.01).

참 고 문 헌

1. Duncan JR, Prasse KW. 1986. Veterinary laboratory medicine. 2nd ed. The Iowa State University Ames, Iowa : 175-179.
2. Kaneko JJ. 1989. Clinical biochemistry of domestic animals. 4th ed. Academic press : 354-355.
3. 이삼열, 정윤섭. 1989. 신개정판 임상병리 검사법. 연세대학교 출판부. 서울 : 231-233.
4. Dawson DM, Eppenberger HM, Kaplan NO. 1967. The comparative enzymology of creatine kinases. II. Physical and chemical properties. The Journal of biological chemistry. 242(2) : 210-217.
5. Thoren-Tolling K. 1982. Creatine kinase isoenzymes in tissues and serum from pigs. Zbl. Vet. Med. A. 29 : 89-98.
6. King JO, Zapt P. 1972. A review of the value of creatine phosphokinase estimations in clinical medicine. The Medical Journal of Australia. 1 : 699-703.
7. Isaacs JS, Yesavage JA. 1984. Serum creatine phosphokinase levels and assaultive behaviour of psychotic patients. Psychological Medicine. 14 : 229-231.
8. Eisen AA, Sherwin AL. 1968. Serum creatine phosphokinase activity in cerebral infarction. Neurology. 18 : 263-268.
9. Wolintz AH, Jacobs LD, Christoff N, et al. 1969. Serum and cerebrospinal fluid enzymes in cerebrovascular disease. Arch. Neurol. 20 : 54-61.
10. Ruppanner R, Norman BB, Adams CJ, et al. 1978. Metabolic and cellular profile testing in calves under feedlot Conditions : Minerals, electrolytes and biochemical components-Reference Values. Am. J. Vet. Res. 39(5) : 841-844.
11. 윤상보. 1990. 반추수의 혈청과 장기조직의 Creatine phosphokinase (CPK) 총 활성 및 CPK isoenzyme 분획에 관한 연구. 충남대학교 대학원 논문집.
12. Blackmore DJ, Elton D. 1975. Enzyme activity in the serum of thoroughbred horses in the United Kingdom. Equine Veterinary Journal. 7(1) : 34-39.
13. Smith ML, Lee R, Sheppard SJ, et al. 1978. Reference ovine serum chemistry values. Am. J. Vet. Res. 39(2) : 321-322.
14. Garnier F, Benoit E, Jacquet JP, et al. 1984. Blood enzymology in the goat : usual values of CPK, LDH, ICDH and SDH. Ann. Rech. Vet. 15(1) : 55-58.
15. Jordan JE. 1977. Normal laboratory values in Beagle Dogs of twelve to eighteen months of age. Am. J. Vet. Res. 38(4) : 509-513.
16. 정한영. 1992. 개의혈청과 장기조직 및 인공 유발 심근경색 건의 혈청 CPK 총 활성과 CPK isoenzyme 분획. 충남대학교 대학원 논문집.
17. Vanderveen KJ, Willebrands AF. 1966. Isoenzymes of creatine phosphokinase in tissue extracts and in normal and pathological sera. Clin. Chim. Acta. 13 : 312-316.
18. Hughes BP. 1962. A method for the estimation of serum creatine kinase and its use in comparing creatine kinase and aldolase activity in normal and pathological sera. Clin. Chim. Acta. 7 : 597.