

제주도 암말의 혈청 selenium과 α -tocopherol 농도에 관하여

한방근·한호재·김종보*·고민수**·마쯔모도 히로시***

전남대학교 수의과대학·제주도 동물검역소*,
목포유달동물병원**·북해도 낙농학원대학***

(1995년 8월 18일 접수)

Serum selenium and α -tocopherol concentration in Cheju mares

Bang-keun Han, Ho-jae Han, Johng-bo Kim*,

Min-soo Ko**, Hiroshi Matsumoto***

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University·Cheju Animal Quarantine Station*
Yudal Animal Hospital in Mokpo**·Rakuno Gakuen University, Hokkaido, Japan***

(Received Aug. 18, 1995)

Abstract : Clinical findings of white muscle disease or dystrophia were reported in Hokkaido horses from 1960. This disease was caused by selenium and α -tocopherol deficiency. Therefore, this study were conducted to measure serum selenium and α -tocopherol levels in Cheju island horses using feedstuffs containing volcanic ashes. The results were as follows:

1. The mean values of serum total selenium and α -tocopherol were 91.90 ± 49.18 ppb(13.20ppb-193.80ppb) and 0.345 ± 0.253 mg/dl(0.056mg/dl-1.159mg/dl) in female respectively. There were no significant relation between serum total selenium and α -tocopherol levels.

2. 22%(15 of 68) of the horse examined showed selenium levels below 50ppb. 11.8%(8 of 68) showed α -tocopherol levels lower than 0.10mg/dl.

These results could be useful to diagnose of white muscle disease of Cheju island foals and quality control of feedstuffs of pregnant mares.

Key words : muscular dystrophia, white musde disease, selenium, α -tocopherol.

緒 論

家畜의 必須微量元素인 selenium은 처음에는 家畜에 대한 毒性이 문제가 되었으나 최근에는 동물의 필수원소로 알려졌으며 家畜營養의 입장에서 selenium 缺乏은 家畜疾病을 유발한다고 하며 또 α -tocopherol 缺乏은 仔馬에서 白筋症症勢를 유발한다고

유럽, 미국, 캐나다, 호주, 뉴질랜드 등에서 보고되었다¹⁻³⁾.

이와같은 白筋症, 筋異營養症 地方病性 多發性 筋炎 등의 疾病原因은 selenium 및 α -tocopherol 缺乏과 깊은 관련이 있다고 報告되고 있다⁴⁻⁶⁾.

그런데 北海道에서는 생체내의 抗酸化作用 및 免疫擔當細胞의 免疫機能에 관여하고 있는 필수미량 원소인 selenium과 α -tocopherol의 血清中 保有量이

繁殖雌馬 약 25%에서 缺乏值 65ppb 以下로 나타났다는 보고가 있다¹⁾.

제주도말은 北海道馬와 같은 조건인 火山灰性土壤인 放牧地에서 순전히 野生牧草에만 의존하여 放牧되고 있으므로 북해도에서 사육되는 仔馬에서 selenium과 α -tocopherol 缺乏으로 인한 白筋症이 다수 발생하였다는 보고가 있는 것처럼 제주말에도 이 같은 缺乏症勢가 있으리라 생각됨으로 이번에 제주도 암말에 있어서 selenium과 α -tocopherol의 濃度を 測定하고 두 成分의 缺乏有無와 白筋症 發病可能性 與否를 究明하고자 본 연구를 수행하였다.

材料 및 方法

제주도 雌馬 68頭와 雄馬 28頭의 血清을 각각 1ml 씩 채취하여 遮光下에서 -2°C 로 보존하면서 血清 selenium과 α -tocopherol 濃度を 測定하고 Hokkaido 말의 缺乏值와 비교 검색하였다.

1) 血清 selenium值 測定¹⁴⁻¹⁶

試藥 : 농초산, 70% 과염소산, 2.4N 염산, 0.1N 염산, 0.1M EDTA, 0.1% 크레졸레드 지시약, 5N 암모니아, 0.1% 2,3-디아미노나프라렌용액, 셀레늄 표준액, 데칼린(특급).

試料의 습식회화 : 血清 0.5ml를 100ml 용기의 삼각플라스크에 취하고 여기에 농초산 100ml를 넣고 6시간 이상 방치한 다음에 핫플레이트를 사용하여 약하게 20분간, 다음에 강하게 15분간 가열한 후 냉각시킨다. 70% 과염소산을 2ml 첨가하여 강하게 加熱濃縮시킨다. 과염소산의 백음이 발생한 후 15분간 가열하고 냉각시킨다. 물을 1ml 첨가한 다음, 강하게 가열하고 백음을 발생케한 후 3분간 가열한 다음 냉각시킨다.

아셀렌산의 抽出 및 螢光光度 測定 : 물 1ml, 2.4N 염산 1ml를 첨가하고 혼합하여 끓인 물에서 30분간 가열한다. 냉각한 후에 0.1M EDTA용액 5ml, 크레졸레드 지시약 3방울을 첨가한다. 암모니아로 pH 7.0로 조정한다. 다음, 2.4N 염산으로 pH 1.0으로 조정한다. 다음 이후의 조작은 황색빛 아래에서 행한다. 0.1% 디아니노나프타렌용액 5ml, 0.1N 염산을 3ml 첨가하고, 50°C 로 끓인 물속에서 25분간 加熱한다. 그후 냉수로 冷却시킨다. 데칼린을 정확히 12ml 첨가하고 2분간 진탕한다. 다음에 분액누드에 옮기고 2분간 靜置한 후 下層液을 버린다. 0.1N 염산을 30ml 첨가하고 15초간 진탕한다. 정지한 후 하층액을 버리고 이같은 조작을 다시 한번 반복한다. 데카

린층만을 원심관에 취하고 2,000rpm으로 2분간 遠心分離한다. 이렇게 해서 얻어진 데칼린層을 螢光光度計를 사용하여 最適波長(EX.) 378nm 最大螢光波長 520nm를 測定한다.

2) 血清 α -tocopherol 濃度 測定¹⁷

試藥 : 무수에탄올, n-hexan(스펙툼분석용), α -tocopherol 표준원액(α -tocopherol, 표준품 20mg을 정밀히 計量하고 무수에탄올을 첨가하여 溶解한 다음, 정확히 100ml를 취하고 그 중에서 10ml를 정확히 취하고 무수에탄올을 添加하여 용해한 다음, 정확히 100ml로 하고 그 중에서 10ml를 정확히 취하고 무수에탄올을 첨가하여 정확히 100ml로 만든다. α -tocopherol 표준용액(표준원액 10ml를 정확히 취하고 무수에탄올을 첨가하여 정확히 100ml로 만든다).

血清의 螢光強度 測定 : 共栓付 갈색 스피트스를 (10ml)에 血清 0.2ml를 정확히 취하고 증류수 1ml를 첨가한 다음, 다시 무수에탄올 1ml를 첨가하여 잘 혼합한 후 n-hexan 5.0ml를 정확히 첨가하고 밀전하여 1분간 흔들어서 혼합하여 遠心分離(1,000rpm, 5분간)한다. 상층의 n-hexan층을 취하고 형광분광광도계를 사용하여 형광강도 A(EX. 295nm, Em. 320nm)를 측정한다. 별도로 血清 0.2ml 대신에 증류수 0.2ml를 취하고 그 다음은 앞의 조작과 같이 조작하여 형광강도 B를 측정한다.

α -tocopherol 표준원액의 형광강도 측정 : 共栓付 갈색 스피트스물에 증류수 1.2ml 및 α -tocopherol 표준용액 1.0ml를 첨가하여 잘 혼합한 다음, n-hexan 5.0ml를 첨가하고, 다음 조작은 앞의 조작과 같이 조작하여 형광강도 C를 측정한다.

計算式 : 血清의 總 α -tocopherol량은 다음 식에 의해 算出하고 mg/dl로 표시한다. 血清 總토크페롤량 (mg/dl) = $W \times (A - B) / (C - B) \times 1/2$ W : α -tocopherol 표준용액의 α -tocopherol량 ($\mu\text{g/ml}$).

結 果

血清中 selenium 濃度 : Female의 혈청중 selenium 濃度は Table 1과 Fig 1에 표시한 바와 같이 最低值 13.20ppb~最大值 193.80ppb 사이에 존재하며, 平均値는 91.90 ± 49.18 ppb이며 0~20ppb 사이에 2두, 20~40ppb 사이는 11두, 40~60ppb 사이는 10두, 60~80ppb 사이는 10두, 80~100ppb 사이는 8두, 100~120ppb 사이는 8두, 120~140ppb 사이는 6두, 140~160ppb 사이는 4두, 160~200ppb 사이는 9두가 되며 20~40ppb 사이가 16.18%로 가장 많이 존재하였다.

Table. Data of serum selenium and α -tocopherol concentration in Cheju horses

Female			Male					
no.	Se(ppb)	Vit.E(mg/dl)	no.	Se(ppb)	Vit.E(mg/dl)	no.	Se(ppb)	Vit.E(mg/dl)
1	55.00	0.561	41	41.90	0.421	1	104.10	0.596
2	73.00	0.318	42	160.20	0.365	2	105.20	0.187
3	184.20	0.411	43	186.60	0.290	3	90.90	0.290
4	35.90	0.206	44	38.30	0.271	4	14.40	0.112
5	25.10	0.159	45	153.10	0.252	5	52.60	0.533
6	114.80	0.766	46	136.30	0.252	6	108.80	0.122
7	166.20	0.486	47	110.00	0.215	7	89.70	0.103
8	51.40	0.411	48	58.60	0.187	8	113.60	0.944
9	102.90	0.243	49	35.90	0.150	9	94.50	0.935
10	70.60	0.776	50	139.90	0.112	10	171.00	0.766
11	153.10	0.308	51	88.50	0.094	11	171.00	0.365
12	88.50	0.280	52	93.20	0.084	12	200.90	0.299
13	39.50	0.252	53	129.20	0.075	13	68.20	0.280
14	71.80	0.234	54	144.70	0.813	14	53.80	0.150
15	179.40	0.215	55	98.10	0.804	15	142.30	0.056
16	101.70	0.608	56	39.50	0.785	16	82.50	0.047
17	120.80	0.598	57	193.80	0.710	17	186.60	0.916
18	33.50	0.266	58	50.20	0.570	18	104.10	0.794
19	138.70	0.252	59	93.30	0.411	19	45.40	0.645
20	13.20	0.252	60	67.00	0.365	20	132.80	0.365
21	58.60	0.206	61	96.90	0.308	21	130.40	0.308
22	35.90	0.193	62	137.50	0.168	22	67.00	0.280
23	75.30	0.168	63	101.70	0.112	23	114.80	0.094
24	19.10	0.168	64	77.70	0.112	24	128.00	0.953
25	179.40	0.131	65	86.10	0.542	25	119.60	0.645
26	111.20	0.122	66	190.10	0.122	26	77.70	0.140
27	86.10	0.112	67	28.70	0.056	27	75.30	0.131
28	76.50	0.084	68	46.60	0.822	28	8.40	0.440
29	53.80	0.075						
30	101.70	1.159	Average	91.90	0.345	Average	101.91	0.411
31	52.60	0.925	Std.	49.18	0.253	Std.	47.13	0.305
32	161.50	0.735	Maximum	193.80	1.159	Maximum	200.90	0.953
33	150.70	0.598	Minimum	13.20	0.056	Minimum	8.40	0.047
34	104.10	0.589	Number	68	68	Number	28	28
35	77.70	0.308						
36	76.50	0.252						
37	58.60	0.206						
38	62.20	0.187						
39	35.90	0.084						
40	28.70	0.056						

Male의 血清中 selenium 濃度는 Table 1에서와 같이 最低值 8.40ppb~最高值 200.90ppb 사이에 존재하며, 平均値는 101.91±47.13ppb이며, female值에 비해 높은 血清 selenium值를 보유하고 있었다.

血清中 α -tocopherol 濃度: Female의 血清 α -tocopherol 濃度는 Table 1과 Fig 2에 表示한 바와 같이 最低值 0.056mg/dl~最高值 1.159mg/dl 사이에 존재하며, 平均値는 0.345±0.253이며 0~0.1mg/dl

사이에 8두, 0.1~0.2mg/dl 사이에 15두, 0.2~0.3mg/dl 사이에 17두, 0.3~0.4mg/dl 사이에 6두, 0.4~0.5mg/dl 사이에 5두, 0.5~0.6mg/dl 사이에 6두, 0.6~0.7mg/dl 사이에 1두, 0.7~0.8mg/dl 사이에 5두, 0.8~0.9mg/dl 사이에 3두, 0.9~1.1mg/dl 사이에 1두, 1.1~2.2mg/dl 사이에 1두가 되며 0.2~0.3mg/dl 사이가 25%로 가장 많이 存在하였다.

Male의 血清中 α -tocopherol 濃度는 Table 1에서와

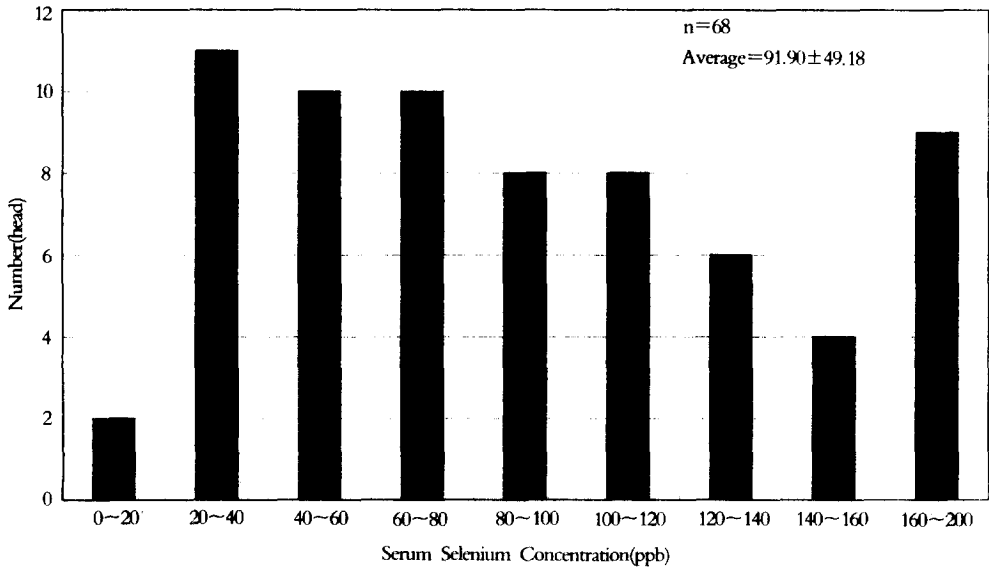


Fig 1. Serum selenium concentration in Cheju mares.

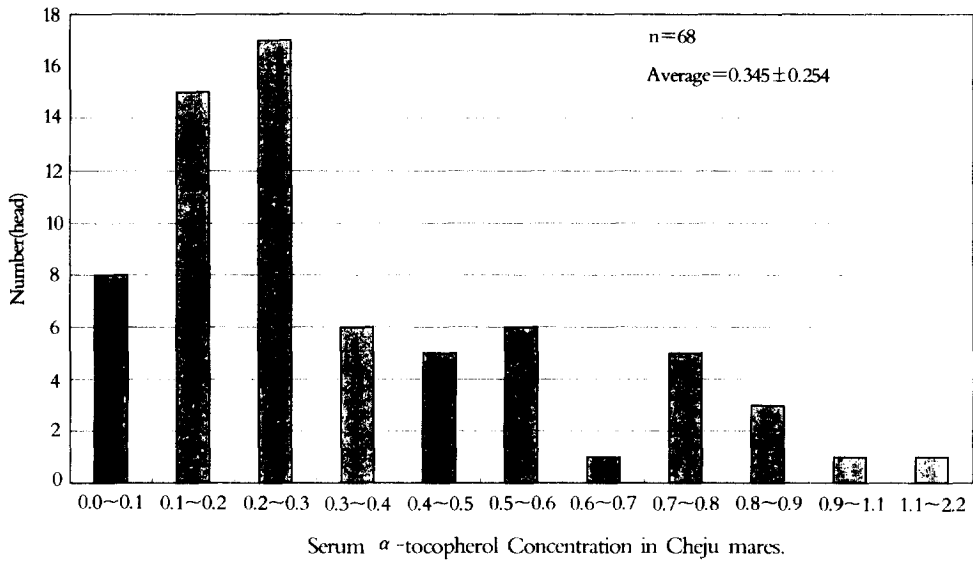


Fig 2. Serum alpha-tocopherol Concentration in Cheju mares.

같이 最低値 0.047mg/dl~最高値 0.953mg/dl 사이에 존재하며, 平均値는 0.411±0.305mg/dl로서 female值에 비해 높은 血清中 alpha-tocopherol值를 보유하고 있었다.

考 察

Selenium은 생체의 glutathione 過酸化酵素(GS-H-PX)의 構成成分으로서 alpha-tocopherol과 함께 과산화지방의 不活化 作用的 損傷을 防止하는 작용기전이 있어서 제1단계는 alpha-tocopherol에 의한 과산화지방의 生成防止, 第2段階에서는 selenium 依存性 GSH-PX에 의해 過酸化脂質을 破壞한다. 정상상태에서는 2단계의 작용에 의해서 생체내의 脂肪酸이

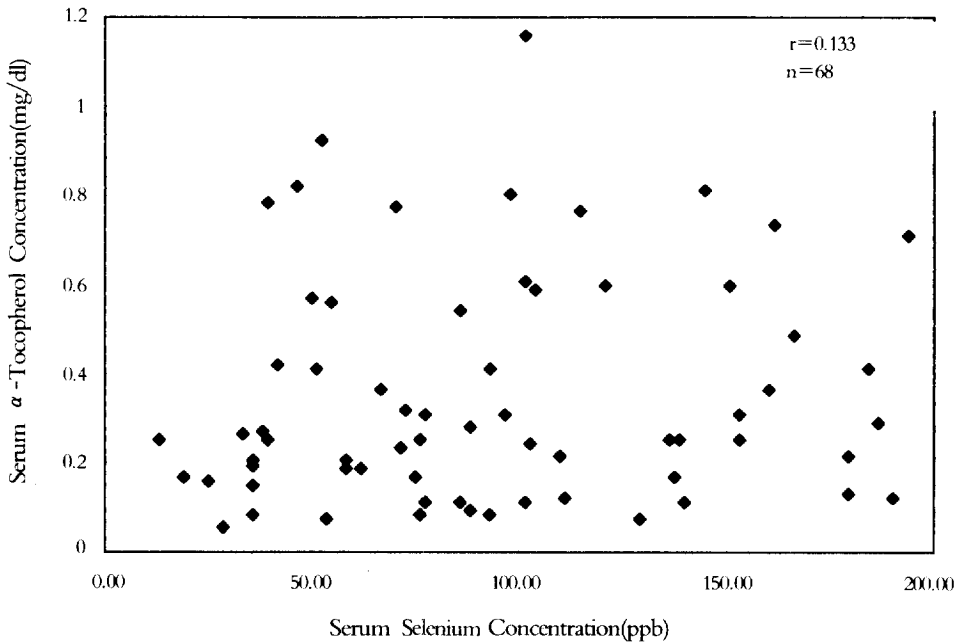


Fig 3. Correlation between selenium concentration and α -tocopherol concentration in serum of Cheju mares.

세포내의 mitochondria에서 β 酸化되어서 energy 생산에 이용되는 과정을 이루며 兩者는 각기 다른 작용을 한다는 보고가 있다^{4,8,18}.

이번에 測定한 血清中 selenium 濃도와 α -tocopherol 濃度間에는 相關關係가 認定되지 않은 것으로 보아 분명히 selenium과 α -tocopherol과는 각기 다른 작용을 갖는다는 것이 推測되었다. 白筋症의 發症原因은 selenium 및 α -tocopherol 兩者의 缺乏 혹은 어느 한쪽이 극도로 감소된 것이라 한다^{4,8,18}.

一條 등³⁾은 血清中 α -tocopherol 농도의 결핍치는 0.100mg/dl 이하라고 보고하고 있다. 본 實驗結果에서는 68두중 8두(11.8%)가 0.100mg/dl 이하였다. 북해도 말에서는 209두중 4두(1.9%)가 0.100mg/dl 이하였다¹⁾. 또 血清中 selenium 농도의 缺乏值 보고는 발견할 수 없으나 Wilson 등⁶⁾은 妊娠馬 8頭의 平均値 44.5ppb의 仔馬 2두가 白筋症으로 사망했다고 보고하고 있는 것으로 보아서 45~50ppb 이하가 缺乏置라 생각된다.

本 實驗結果에서는 68두중 15두(22.1%)의 selenium 농도가 50ppb 이하였으며, 북해도 말에서는 206두중 30두(14.6%)가 50ppb이었다. 一條 등³⁾은 α -tocopherol은 어미에서 태아쪽으로 經胎盤性移行이 곤란하다는 것이 사람이나 소에서 지적되고 있기

때문에 妊娠馬의 경우도 마찬가지로 α -tocopherol值가 低下되면 胎兒쪽 移行이 보다 困難할 가능성이 강하다고 보고하고 있다.

또 一條 등³⁾은 신생자마의 α -tocopherol치는 출생 직후에 最低值를 나타내나 哺乳後에 확실한 增量이 認定된다고 보고하고 있다. 上記한 사실로서 缺乏值를 나타낸 母馬에서 출생한 仔馬는 vitamin E(α -tocopherol) 함유량이 적은 初乳의 給與를 받고 있다고 생각되며 체내에서 vitamin E의 保有狀況은 낮은 值를 표시하는 것으로 추측이 된다. 따라서 이 仔馬는 충분한 selenium 및 α -tocopherol值를 나타낸 母馬로부터 分娩한 仔馬에 比해서 白筋症發症의 위험성이 보다 높은 것으로 추측된다.

結 論

北海道말 産地에서 1960년부터 仔馬의 筋肉變性症 또는 白筋症이라 불리워지는 筋肉疾患의 발생이 보고되었으며, 본 疾患은 selenium 및 α -tocopherol 缺乏症의 가능성이 확실할 것이라는 보고가 있었다. 이 때문에 같은 火山灰性土壤에서 생산된 飼料만으

로 사육하고 있는 제주마의 血中 selenium 및 α -tocopherol 含量을 測定함으로써 제주도 仔馬에 있어서 白筋症 診斷을 위해서 또는 生産農家の 妊娠馬의 給與飼料 改善의 指針을 위해서 필요하다고 史料 되어 本 實驗을 行하였다

1. 제주도 雌馬에 있어서 血清 selenium 濃度는 13.20ppb~193.80ppb의 범위내에 있으며 平均値는 91.90±49.18ppb이었다. 또 血清 α -tocopherol 濃度는 0.056mg/dl~1.159mg/dl 범위내에 있었고, 平均値는 0.345±0.253mg/dl이었다. 그리고 selenium과 α -tocopherol 사이에는 相關關係를 認定할 수 없었다.

2. 供試雌馬 68頭中 15頭(22.0%)가 50ppb 以下로 selenium 缺乏値를 보유하고 있었고 8頭(11.8%)가 0.100mg/dl 이하로 α -tocopherol 缺乏値를 보유하고 있었다.

參 考 文 獻

1. Baker JR. A suspected case of muscular dystrophy in a horse. *Vet Rec* 1968; 82: 170~171.
2. Dodd DC, Blakerly AA, Thornburg RS, et al. Muscle degeneration and yellow fat disease in foals. *NZ Vet J* 1960; 8: 45~50.
3. Gabbedy BJ, Richard RD. White muscle disease in foal. *Aust Vet J* 1970; 46: 111~112.
4. Pehrson B, Jhonson S. Selenium an glutathione-peroxidase in blood and tissue and growth and feed-efficiency in young bulls at different dietary selenium levels. *Zhl Vet Med* 1985; A32: 492~501.
5. Stevens JB, Olson WG, Kraemer R, et al. Serum selenium concentrations and glutathione-peroxidase activities in cattle grazing forage of various selenium concentration. *Am J Vet Rec* 1985; 46: 1556~1560.
6. Wilson TM, Morrison HA, Palmer NC, et al. Myodegeneration and suspected selenium-vitamin E deficiency in horses. *J Am Vet Med Assoc* 1979; 196: 213~217.
7. 長谷川光弘, 松本知之, 一条茂等. 白筋症仔馬と正常仔馬の 血清および臟器トコヘエロール値について. *日獸會誌* 1985; 38: 525~530.
8. 一条茂. セレニウム缺乏症. *臨床獸醫* 1984; 2: 45~50.
9. 一条茂, 稻田一郎, 納敏 等. 子牛の白筋症に關する臨床ならびに臨床病理學的所見. *日獸會誌* 1984; 39: 239~242.
10. 一条茂, 長谷川光弘, 金徳煥 等. 子牛の白筋症に關する臨床ならびに臨床病理學的所見. *日獸會誌* 1981; 34: 573~579.
11. 野上良邦, 山口勳, 中川浩等. 黒毛和種牛のセレニウム, ビタミン E 投與 試驗成績. *北獸會誌* 1986; 30: 45~47.
12. 田中正, 阿部修二, 黒毛和種牛の白筋症に關する臨床所見. *北獸會誌* 1985; 29: 36~39.
13. 松本寛, 田中哲也, 繁殖雌馬の妊娠末期における血清セレニウムおよび α トコフェロール 濃度について. *北海道 酪農學院大學 卒業論文集* 1989; 1~26.
14. Olson DE. Fluorometric analysis of selenium plants. *Journal of the Assoc of Anal Chem* 1969; 5: 627~634.
15. Olson DE, Palmer IS, Cary EE. Modification of the official fluorometric method for selenium in plants. *Journal of the Assoc of Anal Chem* 1975; 58: 117~121.
16. 淺川征男, 串崎光男, 石畠潤爾, 螢光光度法による牧草および土塊のセレン 微量定量法について. *土巴誌* 1977; 48: 337~338.
17. 植木厚. 生物史料中の ビタミン E 定量法. *ビタミン學*. 東京化學同人 東京 1983; 219~221.
18. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione-peroxidase *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158~169.
19. 井村伸正. セレンの生理機能. *代謝* 1983; 20: 43~52.
20. 松本知之, 一条茂, 小西辰雄. 正常馬における血清トコヘエロールの變動. *日獸會誌* 1985; 38: 239~242.