

전기영동상에 나타난 요중 Extra Lactate Dehydrogenase Isozyme Band

— 4증례 보고 —

서울대학교 의과대학, 서울대학교병원, 임상검사과

김경동 · 김진규 · 조현찬

서 론

혈청내 Lactate dehydrogenase(이후 LD라 약함) isozyme검사는 매우 보편적으로 여러 임상질환에 대하여 이용되고 있으며, LD₁에서 LD₅까지 다섯 종류의 정규분획 외에 전기영동성이 다른 여러 가지 extra band들의 출현이 각종 질환에서 다양하게 보고되어 있다^{1~15)}.

요중 LD에 관하여는 1959년 이후부터 많은 연구가 있었으나^{16~20)}, 요중 LD isozyme 검사를 실시한 것은 최근 수년간에 불과하며, 특히 carvajal(1975) 등²¹⁾이 상부 및 하부 요로감염증의 감별진단에 대한 이용 가능성을 시사한 이래 많은 연구가 진행되고 있다^{22~25)}. 그러나 혈청과 달리 요중 extra LD band에 관한 보고는 문헌상에 찾아볼 수 없었다.

서울대학교병원 임상검사과에서는 1981년 4월부터 1983년 3월까지 최근 2년간 요중 LD isozyme검사를 실시하던 중 4예에서 비교적 일정한 전기영동성을 갖는 extra band를 경험하였기에 보고하는 바이다.

증례

증례 1.

환자는 54세 남자로서 급성 요저류증(Acute urinary retention)을 주소로 입원하였는데 3년 전부터 빈뇨, 배뇨곤란, 요긴급 및 배통이 있었다. 전립선 촉진시 심하게 켜져있었으나 단단하지 않았고, 전립선 중심부의 흄은

만져지지 않았다. 기타 이학적 소견은 정상이었다. IVP에서는 정상요로조영을 보였으나, cystourography에서 전립선증대가 나타났다. 혈액화학적 검사는 정상이었고, 요검사 소견은 albumin(+), blood(+++), RBC;25-30/HPF, WBC;15-20/HPF, many unknown bacteria, granulas cast;0-1/LPF였다. 제5일원일에 척추마취하에 Suprapubic transvesical prostatectomy를 받은 후, 4일째에 고열(38.5°C)이 있었다. 이때 소변 배양검사에서 Serratia marcescens($10^6/ml$)가 분리 동정되어 항생제로서 치료를 하였다. 5일후 다시 실시한 소변배양검사에서 동일한 굴이 검출되었고($10^5/ml$), 이 때 요중 LD검사소견은 Table 2와 같다.

증례 2.

7개월된 남아로서 구토를 주소로 입원하였다. 5일 전부터 점액성 설사, 발열, 구토, 호흡장애 등이 있어서 외부병원에서 치료도중 본 병원으로 전원되었다. 입원 당시 혼수상태였으며 급성 병색이었다. 이때 요검사 소견은 WBC;30~50/HPF, RBC;10~15/HPF였고, 혈액 배양검사에서는 Pseudomonas aeruginosa가 분리 동정되었고, 소변배양검사에서는 lactose nonfermenter($10^3/ml$)가 나타났다. IVP상에서는 정상 소견을 보였다. 패혈증, 요로감염증 및 철결필성빈혈의 치료를 실시하였다. 입원 다음날의 요검사에서는 RBC;0-1/HPF, WBC;5-7/HPF, many unknown bacteria, nitrite; positive였으며, 요중 LD 검사의 결과는 Table 2에 요약하였다.

증례 3.

10세 여아로서 고열(39.3°C)을 주소로 입원하였는

데, 심한 전반적인 관절통 및 근육통, 호흡곤란, 빈번한 비출혈이 나타나 외부병원에서 치료도중 본 병원으로 전원 입원하였다. 이학적 소견상 급성 병색을 보였고 전반적인 복부압통, 치골상부의 속립성 반점, 좌측 하지의 속립성 구진 및 놓포가 관찰되었다. 임상적으로 폐혈성폐(Septic lung), 기흉 및 좌측 경골상부의 끌수염으로 진단받고 치료를 받던 중 요로감염이 의심되어

실시한 요검사에서 albumin(+), RBC:0-1/HPF, WBC:7-10/HPF, many unknown bacteria, granular cast:0-1/LPF로 나타났으나, 소변배양검사에서는 음성으로 나왔다. 혈액배양검사에서 *Staphylococcus aureus* 가 분리되었고, 요증 LD 활성치 및 요증 LD isozyme 검사소견은 Table 2와 같다.

Table 1. Clinical and laboratory findings in 4 patients with extra LD band

Case	Urinalysis	Urine and blood culture	BUN/Cr. (mg/dl)	Clinical findings and diagnosis
1) 54/M	albumin(+), blood(++) RBC: 20-25/HPF WBC: 15-20/HPF many unknown bacteria granular cast	U: <i>Serratia marcescens</i>	BUN: 24 Cr.: 1.5	1. Postoperative state of prostatic carcinoma. 2. Urinary tract infection.
2) 7m/M	albumin(++), blood(±) RBC: 3-5/HPF WBC: 2-3/HPF many unknown bacteria uric acid crystal	U: Lactose nonfermenter (10 ³ /ml) B: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	BUN: 5 Cr.: ND	1. Sepsis 2. Iron deficiency anemia 3. Urinary tract infection
3) 10/F	albumin(+) RBC: 7-10/HPF many unknown bacteria granular cast	U: Negative B: <i>Staphylococcus aureus</i>	BUN: 24 Cr.: 1.4	1. Sepsis 2. Pneumothorax 3. Osteomyelitis 4. Urinary tract infection
4) 5/M	albumin(+), ketone(++) blood(+), PRC: 2-3/HPF WBC: 3-5/HPF moderate unknown bacteria	U: Negative	BUN: 12 Cr.: 1.2	1. Recurrent urinary tract infection 2. Iron deficiency anemia

LD = Lactate dehydrogenase Cr. = Creatinine ND = Not done HPF = High power field

Table 2. Urinary LD isozyme pattern

Case	Urine LD (U/l)	LD isozyme pattern (%)					Electrophoretic mobility of extra LD(X/Y)*	LD isozyme pattern**
		Extra	LD ₁	LD ₂	LD ₃	LD ₄		
1) 54/M	55	17.3	1.8	2.7	4.5	20.0	61.8	1.94 "Slow zone" pattern
2) 7m/M	ND	50.4	21.3	12.9	7.5	5.0	2.9	1.84 "Fast zone" pattern
3) 10/F	46	37.1	24.0	14.0	11.8	6.4	6.8	2.20 "Fast zone" pattern
4) 5/M	ND	39.2	43.3	16.6	2.9	0	0	2.09 "Fast zone" pattern

* X/Y = Ratio of distance between extra band and LD₁/LD₁ and LD₂.

** "Slow zone" pattern: predominant increase of LD₅, LD₄ and LD₃

"Fast zone" pattern: predominant increase of LD₁ and LD₂

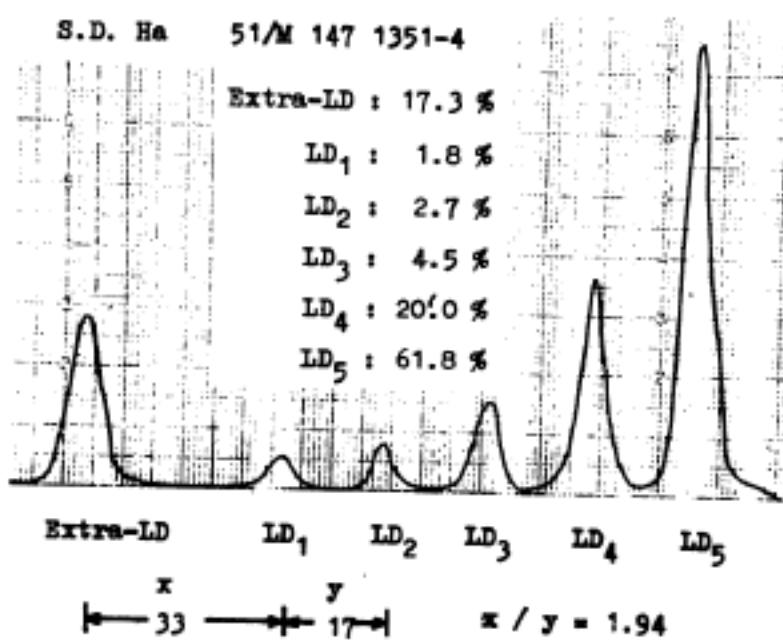


Fig. 1. The densitogram of urinary LD isozyme of case 1. (native urine) showing extra LD band and "slow zone" pattern.

증례 4.

5세 남아로서 구토 및 비출혈을 주소로 입원하였는데 2년전에 급성 신우신염을 앓은 과거력이 있었고, 외부 병원에서 추적진료중 입원 3일 전부터 빈뇨, 구토, 혈뇨의 소견이 나타나 본 병원으로 전원되었다. 이때 요검사에서 albumin(+), ketone(++)+, blood(+), RBC;2-3/HPF, WBC;3-5/HPF, moderate unknown bacteria가 나타났다. 이학적 소견상 창백한 얼굴이었으며 간과 비장은 각각 1/2횡지석 측정되었다. 체중감소, 구토, 악액질, 빈뇨의 소견이 있었다. IVP소견은 정상이었다. 요증 LD isozyme소견은 Table 2와 같다.

이상의 요증 extra-LD band를 보인 4예는 각각 전립선암 1예, 패혈증 2예, 재발성 요로감염증 1예의 임상 진단으로 1981년 4월부터 1983년 3월까지 서울대학교병원에 입원한 환자들로서, 2예에서는 소변배양검사에서 양성으로 나타났고, 전 예에서 요검사에 이상을 보이며 임상적으로도 요로감염증의 증상 및 증후를 보여 요로감염증이 확인된 예들이었다. 이들은 흔히 볼 수 있는 요로감염증보다는 비교적 중한 임상적인 경과를 취하였다.

요 LD Isozyme검사(Fig. 1, 2.)

증례 4를 제외하고는 모두 요로감염증의 치료를 실시하기 전에 신선한 소변을 채취하였고, 4시간이내 요증 LD활성치 및 LD isozyme검사를 실시하였다.

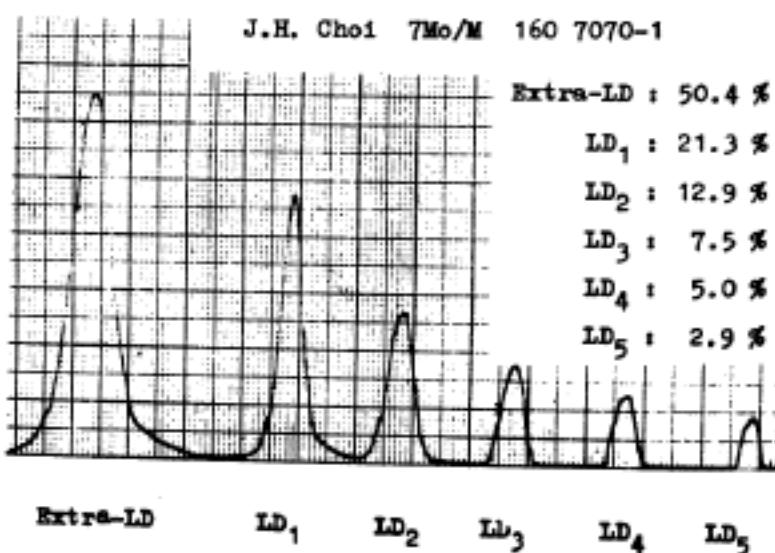


Fig. 2. The densitogram of urinary LD isozyme of case 2. showing extra LD band and "fast zone" pattern.

LD isozyme검사는 전기영동기의 양쪽 완충용액槽에 Extra H-R 완충용액(Helena Lab) 50ml씩을 채운 다음 적당한 크기의 여과지를 적셔서 영동지지체와 접촉이 될 수 있게 준비하였다. H-R완충용액에 20분 이상 담근 2장의 cellulose acetate strip 중 한장을 꺼내어 습기를 없앤 다음, applicator를 이용하여 요를 2번 반복하여 점적한 다음 전기영동장치에 얹고 300Voltage에서 10분간 전기영동을 시켰다. 그다음 남은 한장의 cellulose acetate를 꺼내어 수평판 위에서 LD 발색시약 1.5ml를 고르게 바른 다음 영동이 끝난 cellulose acetate와 공기가 들지 않도록 주의하면서 겹쳐누른 상태(sandwich method)에서 아래 위로 압력을 가하면서 37°C 항온기에서 15분간 incubation시킨 후 570nm에서 densitometer(Beckman, Model R-112-F)로서 주사시켜 요증 LD isozyme의 분획을 백분율로 산출하였다.

요증 LD isozyme의 분획상을 살펴보면 증례 1은 주로 LD₅와 LD₄(LD₃)의 분획이 현저히 증가된 소위 "slow zone" pattern을 보여 상부요로감염증을 시사하였고²²⁾, 증례 2, 3, 4는 LD₁과 LD₂의 분획이 주로 증가하여 "fast zone" pattern을 나타내 하부요로감염증을 시사하는 소견을 보였다(Table 2).

요증 LD isozyme의 5가지 정규분획 외에 전기영동성이 다른 extra band가 4예에서 모두 관찰되었던 바이들 extra band분획은 요증 LD활성치의 17.3%~50.4%를 차지하였다. extra band분획은 4예 모두에서 LD₁보다 양극쪽에 위치하였고 비교적 일정한 전기영동

Table 3. Various extra-bands of serum LD isozyme

Site of extra band	Clinical condition or material	Author
1. LD ₁ - LD ₂	Elderly person (complex of LD and IgG ₃)	Biewenga et al (1975) ¹⁾
2. LD ₂ - LD ₃	Esophageal carcinoma with liver metastasis	Fujimoto et al (1968) ²⁾
	Myocardial infarction	Biewenga et al (1970) ³⁾
3. LD ₃ - LD ₄	Hodgkin's disease (complex with IgA)	Markel et al (1974) ⁴⁾
	Abnormal macro-LD isoenzyme	Lindsey et al (1979) ⁵⁾
	Thermostable factor in serum	Kreutzer et al (1965) ⁶⁾
	Macromolecular LD	Thomas et al (1974) ⁷⁾
4. LD ₄ - LD ₅	Severe hepatic disease (complex with IgG)	Lubrano et al (1971) ⁸⁾
	HBe Ag positive in serum	Vyas et al (1977) ⁹⁾
5. LD ₅ - (LD ₆)	Cardiovascular disease with hepatic congestion and azotemia	Cabello et al (1980) ¹⁰⁾
	Not cross react with Ig (heat stable)	Bhagavan et al (1982) ¹¹⁾
	Cirrosis with severe liver failure	Vladutio et al (1980) ¹²⁾

성을 보였다. extra band와 LD₁간의 거리를 'X', LD₁과 LD₂간의 거리를 'Y'로 할 때, X/Y 비율이 1.84에서 2.20 사이로 4에 모두에서 대체적으로 2:1의 유사한 전기영동성을 나타내었다.

증례 3에서는 치료를 실시하여 요로감염증이 치유된 후에 다시 요증 LD isozyme검사를 실시한 결과, extra band가 소실되고 매우 미약한 LD₁-LD₃의 분획만 나타나 정상요에서 볼 수 있는 LD isozyme양상으로 변화된 것을 확인할 수 있었다.

고 안

요증 LD는 요증의 다른 효소들과 마찬가지로 신장에서 기원된 것이 주이고, 요도나 방광의 상피세포는 요증 효소들의 양상에는 크게 기여하지 못한다고 한다. 신사구체는 분자량이 70,000이하의 입자만을 여과시키고^{26,27)}, 요증 LD의 분자량은 129,000내지 155,000이므로²⁸⁾; 신사구체에 병변이 없는 한 혈청중의 LD는 요증에 나타날 수 없다. 신장, 특히 신세뇨관세포는 여러 가지 생화학적인 기능을 담당하므로 고도의 효소활성치를 함유하고 있어서 이세포의 교체율(turn over rate)과 세포막의 투과성이 요증 LD 활성치의 변동에 주요한 역할을 한다²⁹⁾. 따라서 신장의 손상, 특히 신세뇨관 세포의 손상이나 질환이 있으면 요증 LD의 활성치가 증가하므로 이를 이용하여 요로의 종양이나 감염 등의 진단에 이용하고자 하는 많은 시도가 있었으나 요증 효소

활성치의 특이도가 낮으므로 실제 임상에 적용하기가 힘들었다. 그러나 최근 Carvajal(1975)등²¹⁾에 의해 요증 LD isozyme검사가 요로감염증 병소부위의 감별진단에 이용될 수 있다는 가능성이 제시된 이래 많은 연구가 활발히 진행되어 요로감염의 부위판별에 좋은 결과를 얻었다는 보고가 늘고 있다²²⁻²⁴⁾.

혈청 LD isozyme에 있어서는 정규적인 5가지 분획 외에 여러 종류의 extra band에 관하여 보고된 바 있다 (Table 3). 혈청중 LD isozyme의 extra band는 대부분 starch gel이나 polyacrylamide gel 전기영동을 통하여 밝혀졌는데, 전기영동성은 LD₁과 LD₂사이^{1,2)}, LD₂와 LD₃사이^{2,3)}, LD₃와 LD₄사이⁴⁻⁶⁾, LD₄와 LD₅사이⁷⁻⁹⁾, 그리고 LD₅의 음극쪽¹⁰⁻¹¹⁾등으로 다양하게 보고되어 있다. 특히 Cabello등은 cellulose acetate 전기영동을 통하여 LD₅보다도 음극쪽으로 이동하는 band를 LD₆라고 명하고 18명의 심한 간질환 환자에서 볼 수 있었다고 보고한 바 있다¹⁰⁾.

저자들이 조사한 바로는 요증 LD의 extra band에 관한 보고는 찾을 수 없었다. 저자들이 경험한 4예의 요증 extra-LD isozyme의 위치는 LD₁보다도 더 양극(anodal side)쪽으로 이동하여 비교적 일정한 전기영동성을 나타내었다. 4예에서 모두 요로감염증이 있었고 그중 추적검사가 가능하였던 증례3에서는 치료하여 요로감염증에서 회복된 후에는 요증 extra-LD band가 소실된 것을 확인할 수 있었으므로 요로감염증이 있었던 때에만 extra band가 나타난 점이 흥미롭다.

요증 LD isozyme의 extra band의 기원에 대하여 다음의 몇 가지를 생각할 수 있다.

첫째, extra band가 세균에서 유래한 것으로 생각할 수 있다. 일부 세균이나 하동동물의 LD는 분자량이 70,000이하인 dimeric form으로 존재한다고 한다²⁹⁾.

둘째, 이들 환자 모두에서 다양한 정도의 albuminuria를 동반하였으므로 혈청에서 유래한 효소로 추측할 수 있으나, 혈청 중에는 이런 전기영동성을 갖는 extra band에 대한 보고는 찾을 수 없었다.

셋째, 용해된 백혈구에서 유래한 것으로 생각할 수 있다. 용해된 백혈구에 의해 요증 LD₅가 증가하는 것은 잘 알려져 있으나³⁰⁾ LD₁보다 더 양극쪽으로 이동하는 extra band에 관하여는 알려진 바가 없다.

넷째, 요증 LD의 tetrameric form이 냉동과 용해(freezing and thawing)를 반복하면 해리가 되어 dimeric 혹은 monomeric form으로 존재할 수 있음도 알려진 바 있으나³¹⁾, 본 검색의 4예에는 냉동하지 않은 검체로서 검사를 실시하였으므로 이러한 원인은 배제할 수 있다.

이상에서 요증 extra-LD band의 기원 및 임상적 중요성은 확실히 알 수 없으나, 이들 환자들에서 임상증상이 비교적 중한 점과는 깊은 관련이 있을 것으로 사료된다.

결 론

저자들은 최근 요로감염증 환자들에서 요증 LD isozyme 검사를 시행하면 중, LD₁보다 양극쪽(anodal side)으로 비교적 일정한 위치에 따른 전기영동성을 보인 4예의 요증 extra-LD isozyme band를 경험하였기에 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다.

REFERENCES

- 1) Biewenga J, Feltkamp TEW: *Lactate dehydrogenase (LDH)-IgG₃ immunoglobulin complexes in human serum*. *Clin Chim Acta* 64:101, 1975
- 2) Fujimoto Y, Nazarian I, Wilkinson J: *Lactate dehydrogenase isoenzyme polymorphism in a patient with a secondary carcinoma of liver*. *Enzymol Biol Clin* 9:124, 1968
- 3) biewenga J, Thijs LG: *Lactate dehydrogenase isoenzyme(s) linked to IgA immunoglobulin in a patient with myocardial infarction*. *Clin Chim Acta* 27:293, 1970
- 4) Markel SF, Janich SL: *Complexing of lactate dehydrogenase isoenzyme with immunoglobulin A of the kappa class*. *Am J Clin Pathol* 61:328, 1974
- 5) Lindsey GG, Berman PAM, Purves LR: *An abnormal macrolactate dehydrogenase isoenzyme not due to immunoglobulin binding*. *Clin Chim Acta* 99:153, 1979
- 6) Kreutzer HH, Jacobs, P, Franke C: *Lactate dehydrogenase isoenzymes: irregularities in electrophoretic mobility*. *Clin Chim Acta* 11:159, 1965
- 7) Thomas DW, Rosen SW, Kahn CR, Temple R, Paradopoulos NM: *Macromolecular lactic acid dehydrogenase; a case of increased serum lactate dehydrogenase activity*. *Ann Int Med* 81:434, 1974
- 8) Lubrano T, Dietz AA, Rubinstein HM: *Extra lactate dehydrogenase isoenzyme band in serum of patient with severe liver disease*. *Clin Chim Acta* 17:882, 1971
- 9) Vyas GN, Peterson DL, Townsend RM, et al: *Hepatitis B "e" antigen: an apparent association with lactate dehydrogenase isoenzyme-5*. *Science* 198:1068, 1977
- 10) Cabello B, Lubin J, Rywhin AM, et al: *Significance of a sixth lactic dehydrogenase isoenzyme (LDH₆)*. *Am J Clin Pathol* 73:253, 1980
- 11) Bhagavan NV, Darm JR, Scottolini AG: *A sixth lactate dehydrogenase isoenzyme(LD) and its significance*. *Arch Pathol Lab Med* 106:521, 1982
- 12) Vladutiu AO: *Significance of supernumerary electrophoretic bands of serum lactate dehydrogenase*. *Am J Clin Pathol* 74:712, 1980
- 13) Hoenigova J, Hoenig V: *Unusual band on starch gel electrophoresis of sera from patients with cirrhosis of the liver*. *Clin Chim Acta* 18:313, 1967
- 14) Buckell M, Barnes GK: *Supernumerary fractions of lactate dehydrogenase in two malignant gliomas*. *Br J Cancer* 22:237, 1968
- 15) Grgenti AJ, Brown MT, Weinbaum JG: *Abnormal mobility of serum lactate dehydrogenase isoenzyme during electrophoresis*. *Ann Clin Lab Sci* 8:489, 1978
- 16) Rosalki Wilkinson J II: *Urinary lactic dehydrogenase in renal disease*. *Lancet* 2:327, 1959

- 17) Kemp E, Laursen T: *Investigations of the excretion of enzyme in urine. Scand J Clin Lab Invest* 12:463, 1960
- 18) Wacker WEC, Dorfman LE: *Urinary lactic dehydrogenase activity: Screening method for detection of cancer of kidneys and bladder. JAMA* 181:172, 1962
- 19) Wacker WEC, Dorfman LE, Amador E: *Urinary lactic dehydrogenase activity: IV. Screening test for detection of renal disease dissociated and in association with arterial hypertension. JAMA* 188:671, 1964
- 20) Schmidt JD: *Significance of total urinary lactic dehydrogenase activity in urinary tract disease. J Urol* 96:950, 1966
- 21) Carvajal HF, Passey RB, Berger M, Travis LB, Lorentz WB: *Urinary lactate dehydrogenase isoenzyme 5 in the differential diagnosis of kidney and bladder infections. Kidney Int* 8:176, 1975
- 22) Devaskar U, Montgomery W: *Urinary lactic dehydrogenase isoenzyme IV and V in the differential diagnosis of cystitis and pyelonephritis. Journal of Pediatrics* 93(5): 789, 1978
- 23) Carvajal HF: *Lactic dehydrogenase isoenzyme in urinary tract infection. Journal of Pediatrics* 94(4):681, 1979
- 24) Applemelk BJ, and Mac Laren DM: *Localization of urinary tract infection with urinary lactic dehydrogenase isoenzyme 5. Lancet* 1:1417, 1981
- 25) Cunningham RJ III, Carvajal HF, and Passey RB: *Urinary LDH isoenzyme 5 experimental phelonephritis. Br J Exp Path* 58:220, 1977
- 26) Bayliss LE, Kerridge PMT, Russel DS: *The excretion of protein by mammalian Kidney. J Physiol (London)* 77:386, 193
- 27) Rigas DA, Heller CG: *The amount and nature of urinary proteins in normal human subjects. J Clin Invest* 30:853, 1951
- 28) Plummer DT, Leathwood PD: *Some properties of lactate dehydrogenase found in human urine. Biochem J* 103:172, 1967
- 29) Raab WP: *Enzymes and isoenzymes in urine, in Dubach UC, editor: Enzymes in urine and kidney, Switzerland, Hans Huber Publishers, 1968. p. 119*
- 30) Long GL, Kaplan NO: *D-Lactate specific pyridine nucleotide lactate dehydrogenase in animals. Science* 162:685, 1968
- 31) Everse J, Kaplan NO: *Lactate dehydrogenase: structure and function, in Meister A, editor; Advances in enzymology and related areas of molecular biology, vol. 37, New York, John Wiley and sons, 1973, p 61*
- = Abstract =
- Urine Lactate Dehydrogenase Electrophoresis Showing Extra Isozyme Band — Report of 4 Cases —**
- Kyung Dong Kim, M.D., Jin Q Kim, M.D.
and Hyoun Chan Cho, M.D.
- Department of Laboratory Medicine, Seoul National University and Seoul National University Hospital
- Serum lactate dehydrogenase (LD) isozyme studies are widely used in various clinical conditions and there are well documented cases of extra LD bands in patients with various diseases.
- However, it is only in recent years that urinary LD isozyme patterns have been utilized for differential diagnosis of urinary tract infections and to our best knowledge extra LD bands in urine have not been reported in the literature.
- In recent two years, we have experienced urinary extra LD bands in 4 patients with clinical and laboratory evidence of urinary tract infections. Two of these patients had spesis and one was in postoperative state of prostatic carcinoma and another one had recurrent urinary tract infection. These extra LD bands showed similar electrophoretic mobility, moving anodal to LD₁ fraction on cellulose acetate electrophoresis.
- The origin and significance of these extra LD bands in urine is not known, and some of the possibilities are discussed.