



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

이 학 석 사 학 위 논 문

양식 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 주요병변과
혈액 바이오마커와의 상관관계 분석



2022년 8월

부 경 대 학 교 대 학 원

수산생명의학과

박 종 남

이 학 석 사 학 위 논 문

양식 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 주요병변과
혈액 바이오마커와의 상관관계 분석

지도교수 허 민 도

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함.

2022년 8월

부 경 대 학 교 대 학 원

수산생명의학과

박 종 남

박 종 남의 이학석사 학위논문을 인준함.

2022년 8월 26일



목차

목차	i
Abstract	ii
I. 서론	1
II. 재료 및 방법	2
1. 실험어류	2
2. 혈액학적 파라미터 분석	2
1) Hematocrit	2
2) Hemoglobin	3
3. 혈액생화학적 파라미터 분석	3
4. 조직병리학적 파라미터 분석	4
5. 통계분석	4
III. 결과	5
1. 혈액학적 파라미터	5
2. 혈액생화학적 파라미터	7
3. 조직병리학적 결과	13
4. 상관관계 분석	17
5. 병변별 정도에 따른 혈액 바이오마커 수치	18
IV. 고찰	30
V. 요약	35
VI. 감사의 글	36
VII. 참고문헌	37

The Correlation Analysis between Blood Biochemical marker and Major lesions in farmed
Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*

Jong-nam Park

Department of Aquatic Life Medicine, The Graduate School,
Pukyong National University

Abstract

Olive Flounder(*Paralichthys olivaceus*) farmed at a fish farm located in Wando, Jeollanam-do for 6 months from May to October 2020 was investigated at 1-month intervals. As a result of statistically analyzing the results of 2 hematological biomarkers(Hematocrit, Hemoglobin), 12 blood biochemical biomarkers(Alanine aminotransferase, Alkaline phosphatase, Total bilirubin, Gamma glutamyl peptidase, Blood urea nitrogen, Creatinine, Glucose, Total protein, Cholesterol, Albumin, Calcium, Phosphate), and pathological analysis, Total bilirubin, Blood urea nitrogen, Cholesterol, and Calcium levels were highly correlated with pathological lesions. As a result of the analysis, TBIL levels increased when Intercellular oedema was observed in Gill, and BUN increased when Activation of haematopoiesis appeared in Head kidney and Pericarditis appeared in Heart. CHOL levels decreased when Tubular Atrophy in Body kidney and Increase of MMC appeared in Spleen, and TBIL increased and Ca decreased when Hyaline droplets were observed in Body kidney. In addition, when atrophy was observed in Liver, BUN increased and CHOL and Ca decreased.

I. 서론

국내 천해양식 생산량은 2021년 기준 2,395,040 M/T이고 그 중 어류 생산량은 89,376 M/T에 달한다. 어류 중에서는 넙치가 천해양식 어류 생산량의 약 절반에 달하는 41,791M/T(수산정보포털, 2021)로 가장 많은 양을 차지하고 있어, 명실상부한 국내 양식 대표 어종으로 볼 수 있다.

하지만 1990년대 이후 양식 생산량을 늘리기 위해 사료 과급이와 높은 사육밀도 유지로 인해 양식에 질병이라는 것이 발생하기 시작하였고, 각종 병원체들에 감염되어 현재도 연중 폐사가 발생하고 있다. 병원체 감염에 의한 폐사는 현대 넙치 양식산업에 있어 가장 큰 걸림돌이 되고 있다(심 등 2019).

양식산업의 개선을 위해서는 질병 발생의 요인이 되는 사육 환경 및 각종 바이오마커에 대한 기초 연구가 필요하고, 질병의 조기진단을 통해 감염균과 비감염균의 격리, 약제 처방 등의 선제적 조치가 필요한 상황이다.

하지만 질병검사를 위해서는 최소 3일~15일가량 시간이 소요되고, 침습적인 진단 과정이 필수적이다. 이러한 과정을 줄일 수 있는 방법을 찾기위해 사람에서도 간이 건강검진에 사용하는 방법인 혈액검사를 넙치에 적용하기 위해 혈액 데이터(Lee et al., 2007)에 관심을 가지게 되었다. 혈액은 전신을 순환하여 변화에 예민하게 반응하는 수치이다(Lee et al., 2007). 따라서 각종 병변과 혈액 데이터와의 상관관계 분석을 통해 질병 발생 시 변화하는 혈액 바이오마커를 조사해 보았다(이 등., 2015).

II. 재료 및 방법

1. 실험어류

실험어는 완도지역에 위치한 육상수조 양식장 2곳을 선정하여 2020년 5월부터 2020년 10월까지 6개월간 매월 사육중인 넙치(*Paralichthys olivaceus*)를 15마리씩 샘플링 진행하였다. 실험어는 각 양식장 당 단일로트를 추적하여 샘플링 하였으며, A수산은 76,000미(2019년 8월 입식), B수산은 100,000미(2019년 10월 입식)의 사육량을 갖고 있었다. 두 양식장 모두 MP를 급여하였으며, 개체측정 값은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. 실험어의 표준체장 및 중량

	5월	6월	7월	8월	9월	10월
A 수산	표준체장(cm)	27.63 ±1.32	36.67 ±2.67	27.81 ±1.58	35.92 ±1.18	34.78 ±1.82
	중량 (g)	357.29 ±50.98	1,069.43 ±238.3	459.11 ±88.5	842.81 ±97.94	832.62 ±141.89
B 수산	표준체장(cm)	23.25 ±1.91	24.3 ±1.59	26.77 ±1.58	32.94 ±1.91	32.94 ±1.96
	중량 (g)	255.17 ±60.39	285.22 ±66.83	425.6 ±87.24	711.95 ±93.62	666.29 ±66.57

2. 혈액학적 파라미터 분석

1) Hematocrit

혈액은 넙치의 미부정맥으로부터 헤파린을 처리하지 않은 주사기를 사용하여

개체별로 채취하였고, 채취된 혈액은 적혈구 용적 Microhematocrit(Capillary)법을 이용하여 Hematocrit를 측정하였다(이 등. 2013).

2) Hemoglobin

혈액 중 헤모글로빈은 페리시안화 칼륨과 반응하여 Methemoglobin으로 전환되고, 다시 시안화칼륨과 반응하여 Cyanmethemoglobin으로 전환되며, 이 반응액을 분광광도계 파장 540nm에서 흡광도를 측정하여 헤모글로빈 양을 구하였다.

혈액은 넙치의 미부정맥으로부터 채취하여 Lithium heparin tube에 전혈(Whole blood) 보관한 후 헤모글로빈 분석에 사용하였다. 헤모글로빈 분석은 헤모글로빈 kit(AM-503K, asan pharmaceutical)를 사용하여 분석하였다.

3. 혈액생화학적 파라미터 분석

혈액은 넙치의 미부동맥으로부터 채취하여 Serum Separating tube를 원심분리기(DM0412S, Nasco korea)에 삽입한 후 4,500rpm, 20분 원심분리하여 혈청을 분리하여 동결보존(-80℃)하여 혈액분석 전까지 보관하였다.

혈액분석은 혈액분석기(PT10V, Samsung, Korea)를 사용하여 Alanine aminotransferase(ALT), Alkaline phosphatase(ALP), Total bilirubin(TBIL), Gamma glutamyl peptidase(GGT), Blood urea nitrogen(BUN), Creatinine(CREA), Glucose(GLU), Total protein(TP), Cholesterol(CHOL), Albumin(ALB), Calcium(Ca), Phosphate(PHOS)를 분석하였다.

Table 2. PT10V의 분석 항목 및 범위

분석항목	분석범위
Alanine aminotransferase(ALT)	10 ~ 1,000 U/L
Alkaline phosphatase(ALP)	10 ~ 1,000 U/L
Total bilirubin(TBIL)	0.1 ~ 30.0 mg/dl
Gamma glutamyl peptidase(GGT)	5 ~ 1,500 U/L
Blood urea nitrogen(BUN)	5.0 ~ 200.0 mg/dl
Creatinine(CREA)	0.1 ~ 20.0 mg/dl
Glucose(GLU)	10 ~ 1,000 mg/dl
Total protein(TP)	2.0 ~ 11.0 g/dl
Cholesterol(CHOL)	50 ~ 450 mg/dl
Albumin(ALB)	1.0 ~ 6.5 g/dl
Calcium(Ca)	4.0 ~ 16.0 mg/dl
Phosphate(PHOS)	0.1 ~ 40.0 mg/dl

4. 조직병리학적 파라미터 분석

아가미, 간, 위, 장, 비장, 체신, 두신, 심장을 10% Neutral Formalin에 전고정한 후 24h 후 동일한 고정액으로 후고정하였다. 그 후 24h내에 수세하고 70% - 100% 알코올로 순차적으로 탈수한 뒤 파라핀과 친화를 위해 xylene으로 전처리과정을 진행하였다. 포매 후 4 μ m두께로 박절하고 Hematoxylin-Eosin 염색(H&E염색법)을 실시한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

5. 통계 분석

각 병변과 바이오마커간의 상관관계를 분석하기 위해 SPSS ver. 20을 사용하여 분석하였으며, 상관관계 분석 후 유의한 마커들 간의 유의분석을 위해 평균비교를 실시하였고, 각 통계의 유의수준 P값은 0.05미만으로 정의하였다(SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Ⅲ. 결과

1. 혈액학적 파라미터

샘플링 일자에 따른 A수산의 혈액학적 파라미터 조사 결과, Hematocrit 값은 5월(26.00 ± 3.74), 6월(24.57 ± 6.68), 7월(28.73 ± 6.12), 8월(34.79 ± 2.57), 9월(32.13 ± 5.60), 10월(37.27 ± 2.84)으로 조사되었으며, 10월이 유의적으로 높은 것으로 나타났다.

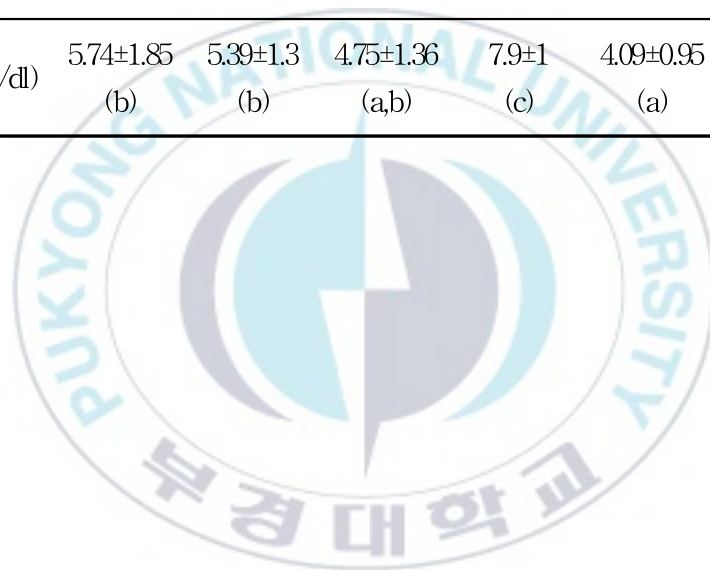
Hemoglobin 값은 5월(5.23 ± 1.48), 6월(5.19 ± 1.37), 7월(7.39 ± 1.49), 8월(8.81 ± 1.04), 9월(4.23 ± 0.89), 10월(9.06 ± 1.58)으로 조사되었으며, 8월 및 10월이 유의적으로 높은 것으로 나타났고 5월, 6월 및 9월이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

샘플링 일자에 따른 B수산의 혈액학적 바이오마커 조사 결과, Hematocrit 값은 5월(23.20 ± 3.41), 6월(21.00 ± 4.97), 7월(24.33 ± 4.06), 8월(33.90 ± 3.21), 9월(34.47 ± 2.20), 10월(32.67 ± 4.47)으로 조사되었으며, 8월, 9월 및 10월이 유의적으로 높은 것으로 나타났고 6월이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

Hemoglobin 값은 5월(5.74 ± 1.85), 6월(5.39 ± 1.30), 7월(4.75 ± 1.36), 8월(7.90 ± 1.00), 9월(4.09 ± 0.95), 10월(7.46 ± 2.23)으로 조사되었으며, 8월 및 10월이 유의적으로 높은 것으로 나타났고 9월이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다(Table 3).

Table 3. Monthly hematological parameters(Hematocrit, Hemoglobin)

Farm	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	
A	Ht(%)	26±3.74 (b,c)	24.57±6.68 (a,b)	28.73±6.12 (c,d)	34.79±2.57 (e,f)	32.13±5.6 (d,e)	37.27±2.84 (f)
	Hb(g/dl)	5.23±1.48 (a)	5.19±1.37 (a)	7.39±1.49 (b)	8.81±1.04 (c)	4.23±0.89 (a)	9.06±1.58 (c)
B	Ht(%)	23.2±3.41 (a,b)	21±4.97 (a)	24.33±4.06 (b)	33.9±3.21 (c)	34.47±2.2 (c)	32.67±4.47 (c)
	Hb(g/dl)	5.74±1.85 (b)	5.39±1.3 (b)	4.75±1.36 (a,b)	7.9±1 (c)	4.09±0.95 (a)	7.46±2.23 (c)



2. 혈액생화학적 파라미터

샘플링 월에 따른 A수산의 혈액생화학적 파라미터 분석 결과 ALT값을 보면 5월(32.67 ± 14.77), 6월(12.57 ± 3.11), 7월(16.40 ± 8.62), 8월(11.84 ± 2.87), 9월(19.60 ± 19.92), 10월(13.20 ± 4.20)으로 조사되었으며, 5월이 유의적으로 높은 것으로 나타났다.

ALP값을 보면 5월(166.80 ± 72.85), 6월(108.47 ± 39.54), 7월(159.13 ± 53.70), 8월(162.58 ± 27.77), 9월(151.47 ± 41.53), 10월(150.33 ± 33.82)으로 조사되었으며, 6월이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

TBIL값을 보면 5월(0.31 ± 0.24), 6월(0.10 ± 0.00), 7월(0.10 ± 0.00), 8월(0.10 ± 0.00), 9월(0.11 ± 0.03), 10월(0.10 ± 0.00)으로 조사되었으며, 5월이 유의적으로 높은 것으로 나타났다.

BUN값을 보면 5월(2.67 ± 0.67), 6월(3.85 ± 2.38), 7월(3.46 ± 1.49), 8월(2.58 ± 0.45), 9월(2.91 ± 0.54), 10월(2.96 ± 0.75)으로 조사되었으며, 6월이 유의적으로 높은 것으로 나타났고 5월 및 8월이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

CREA값을 보면 5월(0.16 ± 0.09), 6월(0.20 ± 0.08), 7월(0.19 ± 0.12), 8월(0.94 ± 0.86), 9월(0.15 ± 0.07), 10월(0.12 ± 0.06)으로 조사되었으며, 8월이 유의적으로 높은 것으로 나타났다.

GLU값을 보면 5월(25.13 ± 8.42), 6월(64.08 ± 40.23), 7월(43.20 ± 22.66), 8월(74.37 ± 45.00), 9월(78.13 ± 44.53), 10월(79.20 ± 35.41)으로 조사되었으며, 8월, 9월 및 10월이 유의적으로 높은 것으로 나타났고, 5월이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

TP값을 보면 5월(4.59 ± 0.39), 6월(5.76 ± 1.05), 7월(4.67 ± 0.70), 8월

(6.44±0.83), 9월(5.99±0.50), 10월(4.33±1.54)으로 조사되었으며, 8월이 유의적으로 높은 것으로 나타났고 5월, 7월 및 10월이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

CHOL값을 보면 5월(212.87±48.87), 6월(311.62±129.51), 7월(313.13±83.95), 8월(423.63±44.89), 9월(391.07±92.51), 10월(393.60±109.80)으로 조사되었으며, 5월이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

ALB값을 보면 5월(1.20±0.13), 6월(1.66±0.16), 7월(1.15±0.19), 8월(1.49±0.18), 9월(1.43±0.24), 10월(1.53±0.18)으로 조사되었으며, 6월이 유의적으로 높은 것으로 나타났고, 5월 및 7월이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

Ca값을 보면 5월(12.05±0.63), 6월(15.04±1.35), 7월(14.63±1.06), 8월(15.69±0.31), 9월(15.32±0.68), 10월(15.27±0.92)으로 조사되었으며, 8월이 유의적으로 높은 것으로 나타났고 5월이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

Phos값을 보면 5월(11.18±1.61), 6월(16.49±2.91), 7월(10.41±2.03), 8월(16.39±3.11), 9월(12.08±1.65), 10월(14.39±2.70)으로 조사되었으며, 6월 및 8월이 유의적으로 높은 것으로 나타났고 5월 및 7월이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다(Table 4).

B수산의 혈액생화학적 파라미터 분석 결과 ALT값을 보면 5월(11.40±1.80), 6월(20.00±7.30), 7월(19.47±5.82), 8월(25.55±5.27), 9월(22.00±8.98), 10월(18.40±5.64)으로 조사되었으며, 8월이 유의적으로 높은 것으로 나타났고 5월이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

ALP값을 보면 5월(138.00±53.67), 6월(228.67±76.60), 7월(92.60±20.49), 8월(188.05±32.23), 9월(106.33±25.88), 10월(106.07±24.54)으로 조사되었으며, 6월이 유의적으로 높은 것으로 나타났고 7월이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

타났다.

TBIL값을 보면 5월(0.10 ± 0.00), 6월(0.10 ± 0.00), 7월(0.12 ± 0.06), 8월(0.10 ± 0.00), 9월(0.17 ± 0.15), 10월(0.11 ± 0.03)으로 조사되었으며, 9월이 유의적으로 높은 것으로 나타났고 5월, 6월, 8월 및 10월이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

BUN값을 보면 5월(3.87 ± 2.52), 6월(2.15 ± 0.49), 7월(2.13 ± 0.29), 8월(2.80 ± 0.43), 9월(2.11 ± 0.59), 10월(2.46 ± 0.75)으로 조사되었으며, 5월이 유의적으로 높은 것으로 나타났다.

CREA값을 보면 5월(0.13 ± 0.10), 6월(0.25 ± 0.14), 7월(0.44 ± 0.23), 8월(0.41 ± 0.22), 9월(0.40 ± 0.21), 10월(0.19 ± 0.12)으로 조사되었으며, 7월, 8월 및 9월이 유의적으로 높은 것으로 나타났다.

GLU값을 보면 5월(38.00 ± 14.98), 6월(80.87 ± 42.57), 7월(129.47 ± 175.26), 8월(26.25 ± 14.75), 9월(90.07 ± 40.21), 10월(51.13 ± 23.56)으로 조사되었으며, 7월이 유의적으로 높은 것으로 나타났고 8월이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

TP값을 보면 5월(4.83 ± 0.81), 6월(5.01 ± 0.42), 7월(4.93 ± 0.37), 8월(6.26 ± 0.67), 9월(5.42 ± 0.42), 10월(4.01 ± 1.54)으로 조사되었으며, 8월이 유의적으로 높은 것으로 나타났고 10월이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

CHOL값을 보면 5월(268.58 ± 125.19), 6월(323.67 ± 69.32), 7월(357.20 ± 73.46), 8월(377.80 ± 86.44), 9월(364.40 ± 75.60), 10월(347.80 ± 93.52)으로 조사되었으며, 7월, 8월, 9월 및 10월이 유의적으로 높은 것으로 나타났고 5월이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

ALB값을 보면 5월(1.49 ± 0.15), 6월(1.32 ± 0.14), 7월(1.09 ± 0.13), 8월(1.48 ± 0.13), 9월(1.04 ± 0.06), 10월(1.30 ± 0.17)으로 조사되었으며, 5월 및 8월

이 유의적으로 높은 것으로 나타났고 7월 및 9월이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

Ca값을 보면 5월(13.57 ± 1.27), 6월(14.85 ± 0.82), 7월(14.30 ± 1.06), 8월(15.67 ± 0.53), 9월(15.06 ± 0.89), 10월(15.39 ± 1.15)으로 조사되었으며, 8월에 유의적으로 높은 것으로 나타났다.

Phos값을 보면 5월(9.61 ± 1.11), 6월(13.35 ± 1.55), 7월(12.79 ± 2.03), 8월(14.75 ± 2.15), 9월(14.21 ± 2.49), 10월(16.03 ± 2.06)으로 조사되었으며, 10월이 유의적으로 높은 것으로 나타났고 5월이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다 (Table 5).



Table 4. Monthly Blood biochemical parameters by A farm(ALT, ALP, TBIL, GGT, BUN, CREA, GLU, TP, CHOL, ALB, Ca, Phos)

Farm	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct
ALT(U/L)	32.67±14.77 ^b	12.57±3.11 ^a	16.4±8.62 ^a	11.84±2.87 ^a	19.6±19.92 ^a	13.2±4.2 ^a
ALP(U/L)	166.8±72.85 ^b	108.47±39.54 ^a	159.13±53.7 ^b	162.58±27.77 ^b	151.47±41.53 ^b	150.33±33.82 ^b
TBIL(mg/dl)	0.31±0.24 ^b	0.1±0 ^a	0.1±0 ^a	0.1±0 ^a	0.11±0.03 ^a	0.1±0 ^a
GGT(U/L)	1.27±0.46	3.53±1.36	1.07±0.26	1.74±0.87	1.67±0.62	1.27±0.46
BUN(mg/dl)	2.67±0.67 ^a	3.85±2.38 ^b	3.46±1.49 ^{ab}	2.58±0.45 ^a	2.91±0.54 ^{ab}	2.96±0.75 ^{ab}
CREA(mg/dl)	0.16±0.09 ^a	0.2±0.08 ^a	0.19±0.12 ^a	0.94±0.86 ^b	0.15±0.07 ^a	0.12±0.06 ^a
GLU(mg/dl)	25.13±8.42 ^a	64.08±40.23 ^{bc}	43.2±22.66 ^{ab}	74.37±45 ^c	78.13±44.53 ^c	79.2±35.41 ^c
TP(g/dl)	4.59±0.39 ^a	5.76±1.05 ^b	4.67±0.7 ^a	6.44±0.83 ^c	5.99±0.5 ^{bc}	4.33±1.54 ^a
CHOL(mg/dl)	212.87±48.87 ^a	311.62±129.51 ^{ab}	313.13±83.95 ^{ab}	423.63±44.89 ^b	391.07±92.51 ^b	393.6±109.8 ^b
ALB(g/dl)	1.2±0.13 ^a	1.66±0.16 ^c	1.15±0.19 ^a	1.49±0.18 ^b	1.43±0.24 ^b	1.53±0.18 ^{bc}
Ca(mg/dl)	12.05±0.63 ^a	15.04±1.35 ^{bc}	14.63±1.06 ^b	15.69±0.31 ^c	15.32±0.68 ^{bc}	15.27±0.92 ^{bc}
Phos(mg/dl)	11.18±1.61 ^a	16.49±2.91 ^c	10.41±2.03 ^a	16.39±3.11 ^c	12.08±1.65 ^a	14.39±2.7 ^b

Table 5. Monthly Blood biochemical parameters by B farm(ALT, ALP, TBIL, GGT, BUN, CREA, GLU, TP, CHOL, ALB, Ca, Phos)

Farm	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct
ALT(U/L)	11.4±1.8 ^a	20±7.3 ^{bc}	19.47±5.82 ^{bc}	25.55±5.27 ^d	22±8.98 ^{cd}	18.4±5.64 ^{bc}
ALP(U/L)	138±53.67 ^b	228.67±76.6 ^d	92.6±20.49 ^a	188.05±32.23 ^c	106.33±25.88 ^{ab}	106.07±24.54 ^{ab}
TBIL(mg/dl)	0.1±0 ^a	0.1±0 ^a	0.12±0.06 ^{ab}	0.1±0 ^a	0.17±0.15 ^c	0.11±0.03 ^a
GGT(U/L)	2.73±1.03	2.6±0.83	1±0	1.8±0.89	1±0	1.07±0.26
BUN(mg/dl)	3.87±2.52 ^b	2.15±0.49 ^a	2.13±0.29 ^a	2.8±0.43 ^a	2.11±0.59 ^a	2.46±0.75 ^a
CREA(mg/dl)	0.13±0.1 ^a	0.25±0.14 ^a	0.44±0.23 ^b	0.41±0.22 ^b	0.4±0.21 ^b	0.19±0.12 ^a
GLU(mg/dl)	38±14.98 ^{ab}	80.87±42.57 ^{abc}	129.47±175.26 ^c	26.25±14.75 ^a	90.07±40.21 ^{bc}	51.13±23.56 ^{ab}
TP(g/dl)	4.83±0.81 ^{bc}	5.01±0.42 ^c	4.93±0.37 ^c	6.26±0.67 ^d	5.42±0.42 ^c	4.01±1.54 ^a
CHOL(mg/dl)	268.58±125.19 ^a	323.67±69.32 ^{ab}	357.2±73.46 ^b	377.8±86.44 ^b	364.4±75.6 ^b	347.8±93.52 ^b
ALB(g/dl)	1.49±0.15 ^c	1.32±0.14 ^b	1.09±0.13 ^a	1.48±0.13 ^c	1.04±0.06 ^a	1.3±0.17 ^b
Ca(mg/dl)	13.57±1.27 ^b	14.85±0.82 ^{cd}	14.3±1.06 ^c	15.67±0.53 ^e	24.54±36.93 ^{de}	15.39±1.15 ^{de}
Phos(mg/dl)	9.61±1.11 ^a	13.35±1.55 ^{bc}	12.79±2.03 ^b	14.75±2.15 ^{cd}	14.21±2.49 ^{bc}	16.03±2.06 ^d

3. 조직병리학적 결과

조직병리학적 분석 결과 6개 장기에서 총 33가지의 병변이 관찰되었다 (Fig 1, Fig 2).

Gill의 주요 병변(Bernet et al., 1999)은 7가지이며, 그 중 괴사가 관찰된 개체는 없었고, 50마리에서 Hyperplasia가 관찰되었고, 47마리에서 염증이 관찰되었다.

Body kidney의 주요 병변은 7가지이며, 모든 병변이 관찰되었으며, 거의 대부분의 개체인 185마리에서 사구체신염이 관찰되었고, 58마리에서 보먼 주머니 확장이 관찰되었으며, 2마리에서 괴사가 관찰되었다.

Head kidney의 주요 병변은 6가지이며, 조혈모세포의 N/C ratio가 증가하는 병변과 괴사와 Pus는 관찰되지 않았고, 44마리에서 RES활성이 관찰되었으며, 33마리에서 조혈활성 소견이 관찰되었다.

조직학적으로 가장 중요한 장기인 Liver에서는 11가지의 주요 병변이 있으며, 담관 주위염은 관찰되지 않았고, 괴사와 MMC증가가 각 1마리씩 관찰되었다. 25마리에서 위축 소견을 보였고, 59마리에서 Hypertrophy, 37마리에서 지방간 소견이 관찰되었다.

Spleen의 주요 병변은 4가지이고, Pus는 관찰되지 않았고, 88마리에서 RES활성 소견이 관찰되었다.

Heart의 주요 병변은 5가지이며, 66마리에서 심외막염 소견을 보였고, 19마리에서 심근염 소견이 관찰되었다(Table 6).

관찰된 병변을 정도에 따라 정상/경도/중등도/심도로 구분하여 스코어링하여 혈액생화학적 분석 결과와 상관관계를 분석하였다.

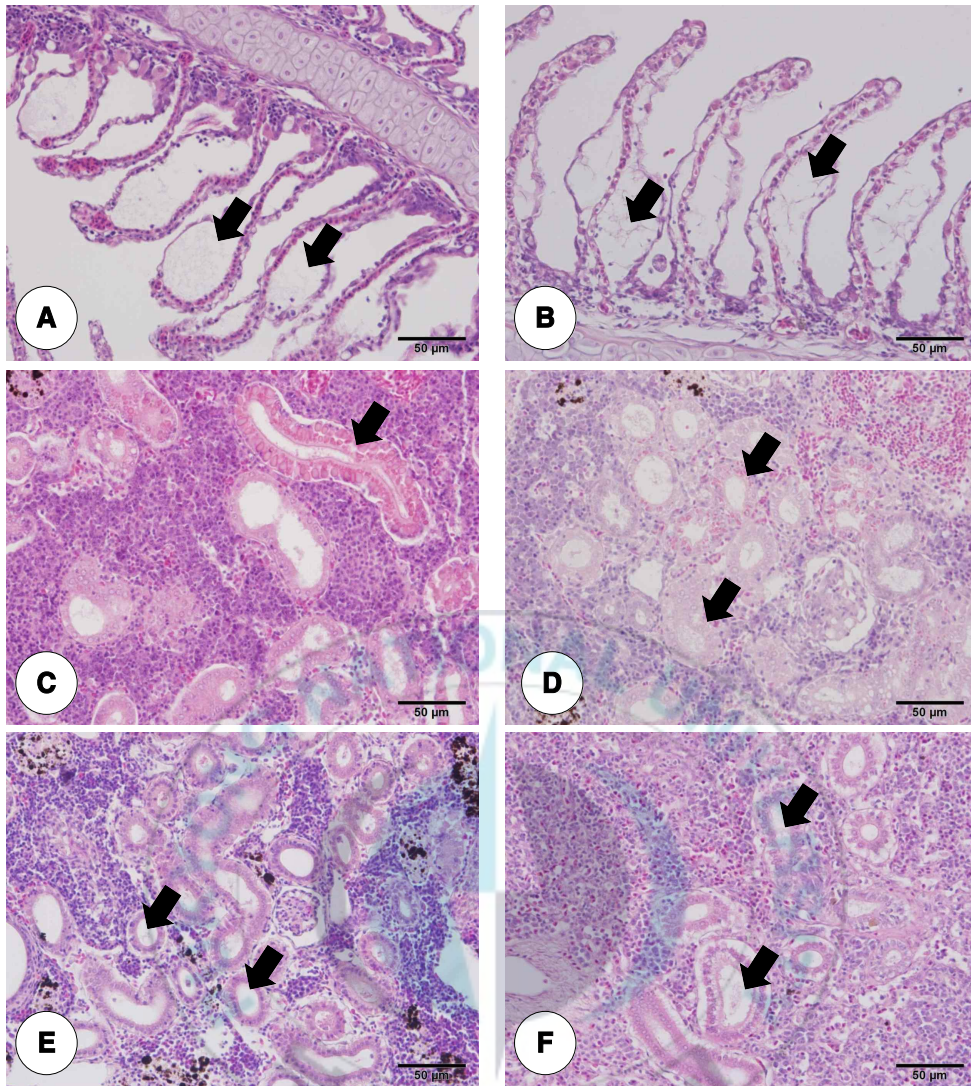


Fig 1. Major lesions of olive flounder observed. A,B: Intercellular oedema in gill, C,D: Hyaline dro in body kidney, E,F: Tubular Atrophy in body kidney

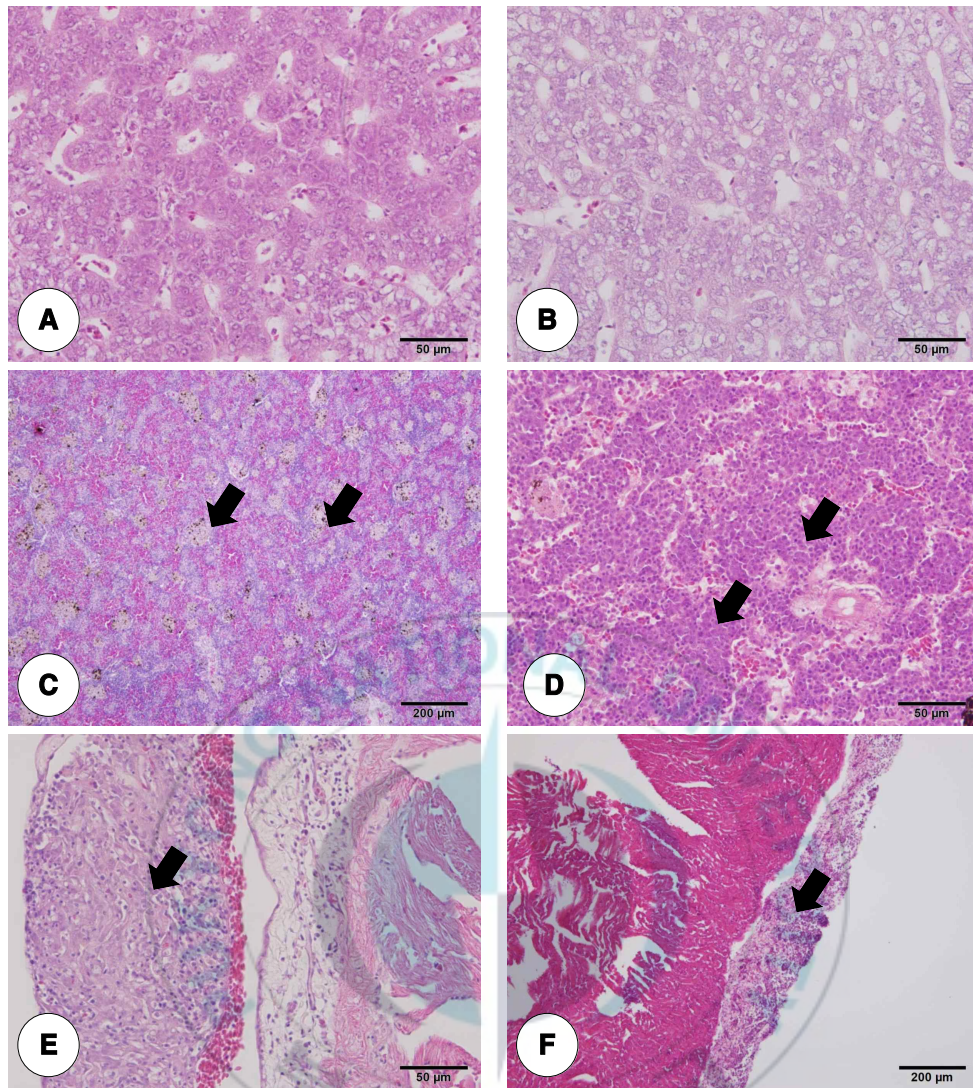


Fig 2. Major lesions of olive flounder observed. A,B: Atrophy in liver, C: Increase of MMC in spleen, D: Activation of haematopoiesis in head kidney, E,F: Pericarditis in heart

Table 6. Major tissue-specific lesions of Olive flounder

Tissue(6)	Major lesion(39)	Detected lesion	number
Gill (7)	Aneurysm	o	n=12
	Intercellular oedema	o	n=7
	Lamellae fusion	o	n=11
	Hypertrophy	o	n=2
	Necrosis	x	-
	Hyperplasia	o	n=50
	Inflammation	o	n=47
Body kidney (7)	Bowman's capsule enlargement	o	n=58
	Hyalinedroplet	o	n=18
	Hydrophic degeneration	o	n=48
	Tubular Atrophy	o	n=34
	Necrosis	o	n=2
	Glomerulusnephritis	o	n=185
	PUS	o	n=23
Head kidney (6)	N/C ratio	x	-
	Necrosis	x	-
	Increase of MMC	o	n=12
	Activation of haematopoiesis	o	n=33
	Activation of RES	o	n=44
	Pus	x	-
Liver (11)	Aneurysm	o	n=12
	Atrophy	o	n=25
	Hypertrophy	o	n=59
	Fatty change	o	n=37
	Hyaline droplet	o	n=8
	Nuclear alterations	o	n=2
	Necrosis	o	n=1
	Increase of MMC	o	n=1
	Hepatitis/Inflammation	o	n=19
	PUS	o	n=3
	Bile duct Inflammation	x	-
Spleen (4)	Necrosis	o	n=1
	Increase of MMC	o	n=21
	Activation of RES	o	n=88
	PUS	x	-
Heart (5)	Increase of MMC	o	n=1
	Pericarditis	o	n=66
	Myocarditis	o	n=19
	Necrosis	o	n=4
	PUS	o	n=1

4. 상관관계 분석

병변과 혈액 및 혈액 생화학적 바이오마커와의 상관관계를 알아보기 위해 파라미터별로 단순상관분석을 진행하였고, 그 결과는 TBIL(mg/dl)은 아가미 부종과 양으로 0.500의 강한 상관관계를 보였고, 체신내의 Hyaline droplet과 양으로 0.339의 상관관계를 보였다. BUN(mg/dl)은 간위축과 양으로 0.550의 강한 상관관계를 보였고, 두신의 조혈활성과 양으로 0.410의 상관관계, 심장의 심외막염과 양으로 0.308의 상관관계를 보였다. CHOL(mg/dl)은 간위축과 음으로 0.442의 상관관계를 보였고, 체신의 세뇨관 위축과 음으로 0.321의 상관관계, 비장의 MMC증가와 음으로 0.384의 상관관계를 보였다. Ca(mg/dl)은 간위축과 음으로 0.444의 상관관계를 보였고, 체신의 Hyaline droplet과 음으로 0.315의 상관관계를 보였다(Table 7).

Table 7. Correlation between lesions and blood biomarkers

	Intercellular oedema(GI)		Hyaline droplet(BK)			
TBIL	상관계수	0.500	상관계수	0.339		
	P	0.000	P	0.000		
	Atrophy(LI)		Activation of hematopoiesis		Pericarditis	
BUN	상관계수	0.550	상관계수	0.410	상관계수	0.308
	P	0.000	P	0.000	P	0.000
	Atrophy(LI)		Tubular Atrophy		Increase of MMC(SP)	
CHOL	상관계수	-0.442	상관계수	-0.321	상관계수	-0.384
	P	0.000	P	0.000	P	0.000
	Atrophy(LI)		Hyaline droplet(BK)			
Ca	상관계수	-0.444	상관계수	-0.315		
	P	0.000	P	0.000		

5. 병변별 정도에 따른 혈액 바이오마커 수치

TBIL은 중등도의 아가미 부종(Fig 3)이 나타났을 때와 중등도의 체신 Hyaline droplet(Fig 4)가 나타났을 때 유의적으로 수치가 높아지는 것을 확인할 수 있었다.

BUN은 중등도와 심도의 간위축(Fig 5)이 나타났을 때, 심도의 두신 조혈활성(Fig 6)이 나타났을 때, 심도의 심외막염(Fig 7)이 나타났을 때 유의적으로 수치가 높아지는 것을 확인할 수 있었다.

CHOL은 중등도, 심도의 간위축(Fig 8)이 나타났을 때, 중등도와 심도의 신세뇨관(Fig 9)이 위축되었을 때, 경도와 중등도의 비장 MMC증가(Fig 10)시에 유의적으로 수치가 낮아지는 것을 확인할 수 있었다.

Ca은 경도와 중등도의 간위축(Fig 11)이 나타났을 때, 중등도의 체신 Hyaline droplet(Fig 12)가 나타났을 때 수치가 유의적으로 낮아지는 것을 확인할 수 있었다(Table 8).

Table 8. Biomarker score according to the degree of lesions

Biomarker	Degree	Intercellular oedema	Hyaline droplet	
TBIL	normal	0.12±0.07 ^a	0.12±0.07 ^a	
	mild	0.1±1.32 ^a	0.12±0.04 ^a	
	moderate	0.75±0.21 ^b	0.35±0.32 ^b	
Biomarker	Degree	Atrophy(LI)	Activation of haematopoiesis	Pericarditis
BUN	normal	2.61±0.66 ^a	2.66±1.04 ^a	2.69±0.84 ^a
	mild	3.36±1.53 ^a	3.07±1.4 ^a	2.55±0.69 ^a
	moderate	5.36±4.1 ^b	3.14±0.88 ^a	3.35±2.47 ^a
	severe	7.4±0.57 ^b	7.3±1.91 ^b	5.09±2.72 ^b
Biomarker	Degree	Atrophy(LI)	Tubular Atrophy	Increase of MMC
CHOL	normal	358.93±90.86 ^a	357.22±97 ^a	358.85±93.03 ^a
	mild	298.92±120.78 ^a	318.8±90.8 ^a	258±112.96 ^b
	moderate	164.43±38.17 ^b	242.22±121.45 ^b	215.4±100.23 ^b
	severe	125.5±62.93 ^b	193.67±49.74 ^b	–
Biomarker	Degree	Atrophy(LI)	Hyaline droplet	
Ca	normal	14.98±1.21 ^a	14.89±1.25 ^a	
	mild	13.89±1.23 ^b	14.16±1.7 ^a	
	moderate	12.47±0.93 ^c	12.63±1.01 ^b	

Intercellular oedema(GI)

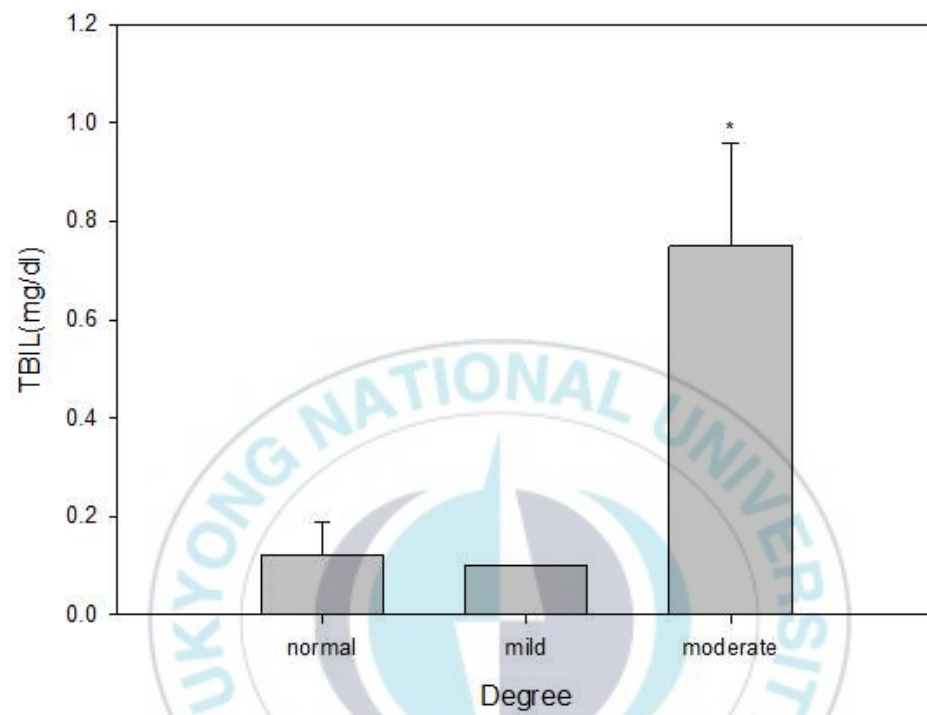


Fig 3. Change in TBIL levels when intercellular oedema is observed in the Liver

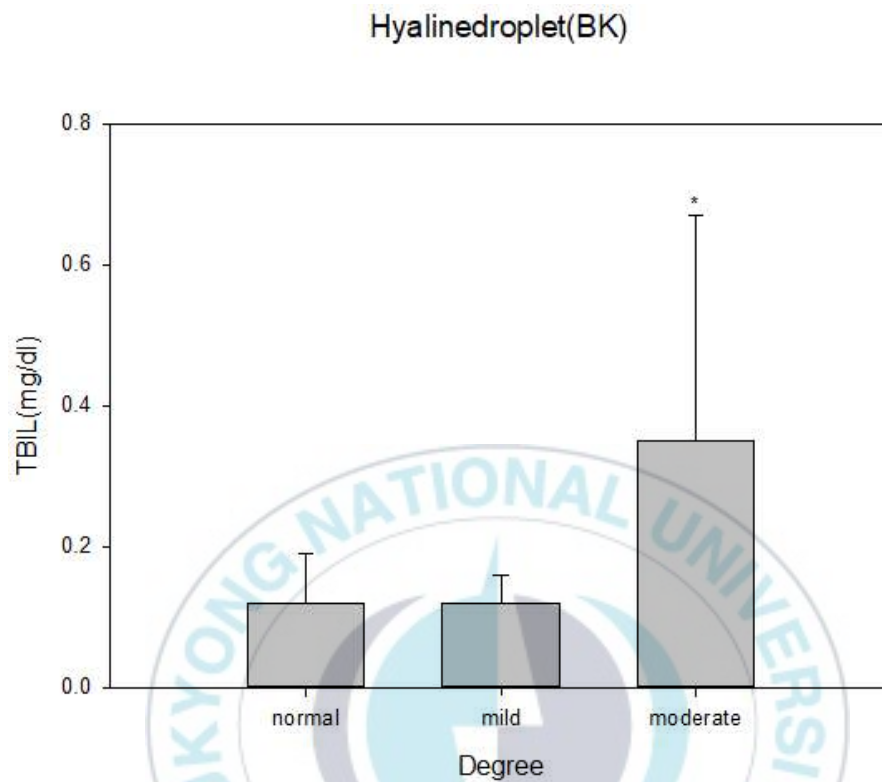


Fig 4. Change in TBIL levels when Hyaline droplet is observed in the Body kidney

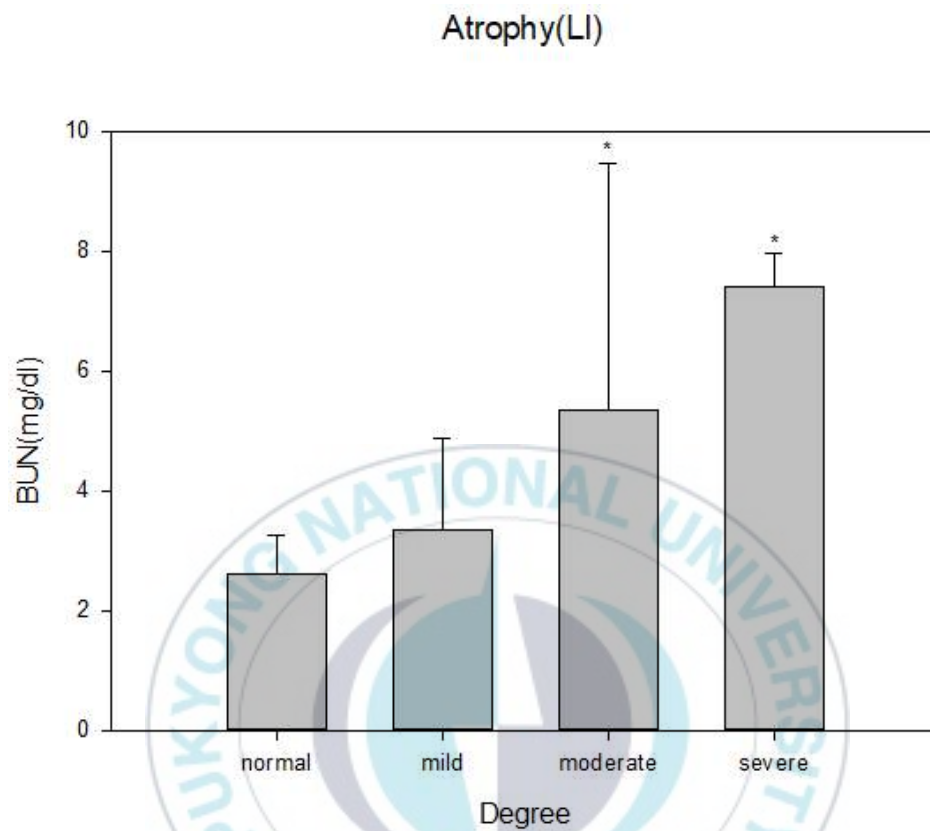


Fig 5. Change in BUN levels when Atrophy is observed in the Liver

Activation of haematopoiesis(HK)

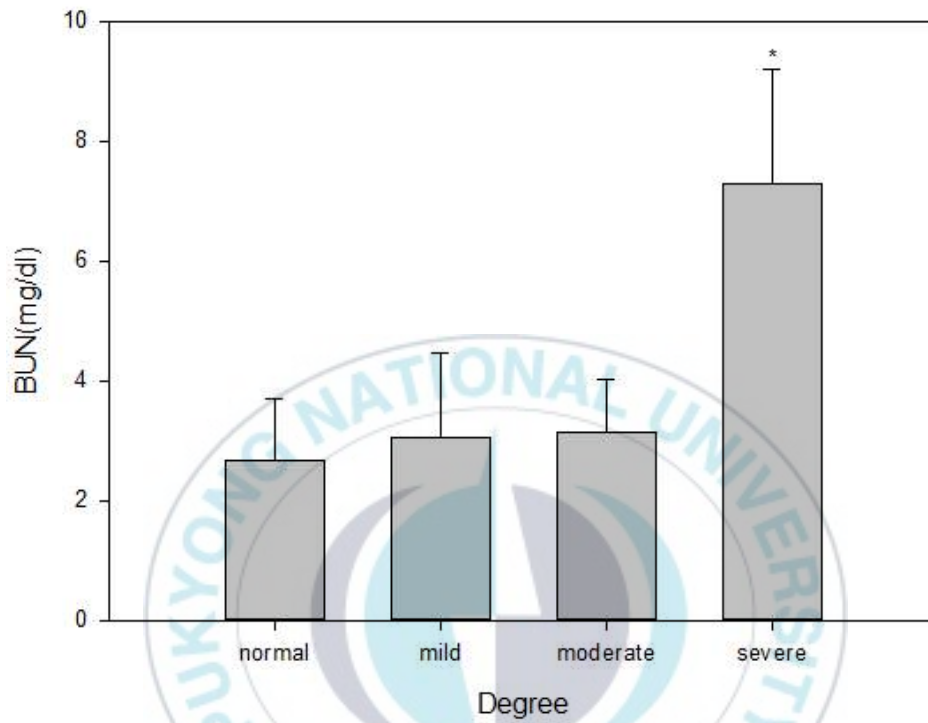


Fig 6. Change in BUN levels when Activation of haematopoiesis is observed in the Head kidney

Pericarditis(HE)

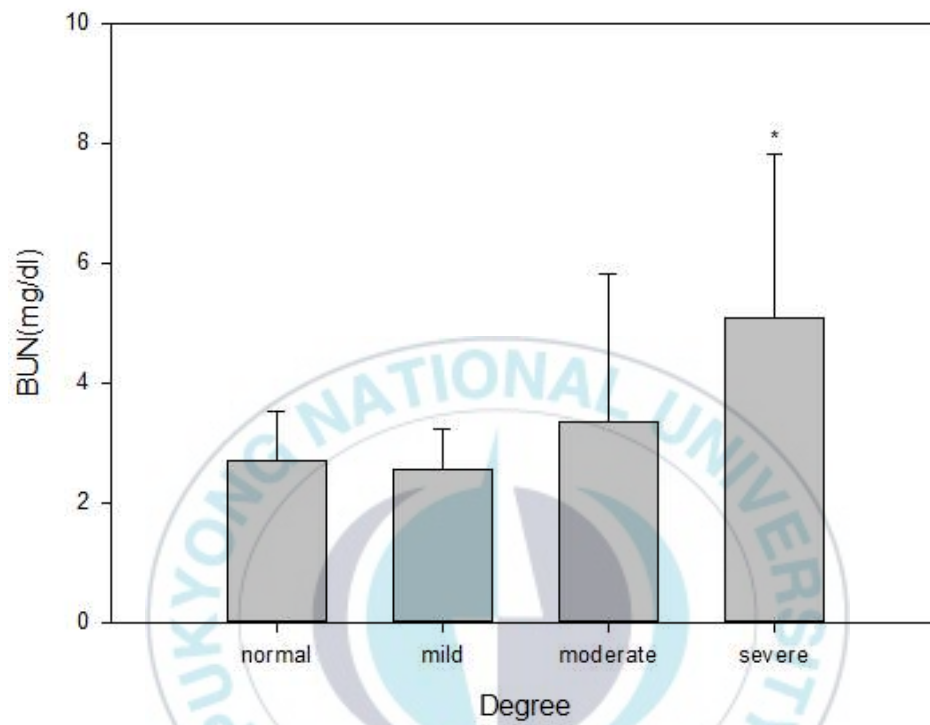


Fig 7. Change in BUN levels when Pericarditis is observed in the Heart

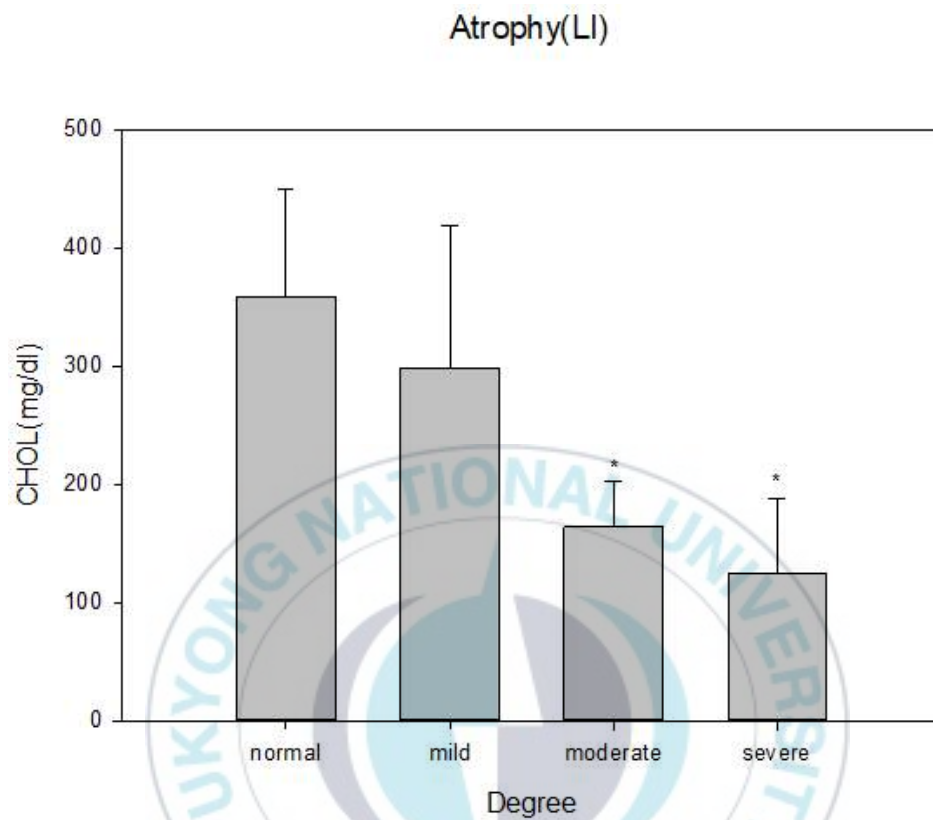


Fig 8. Change in CHOL levels when Atrophy is observed in the Liver

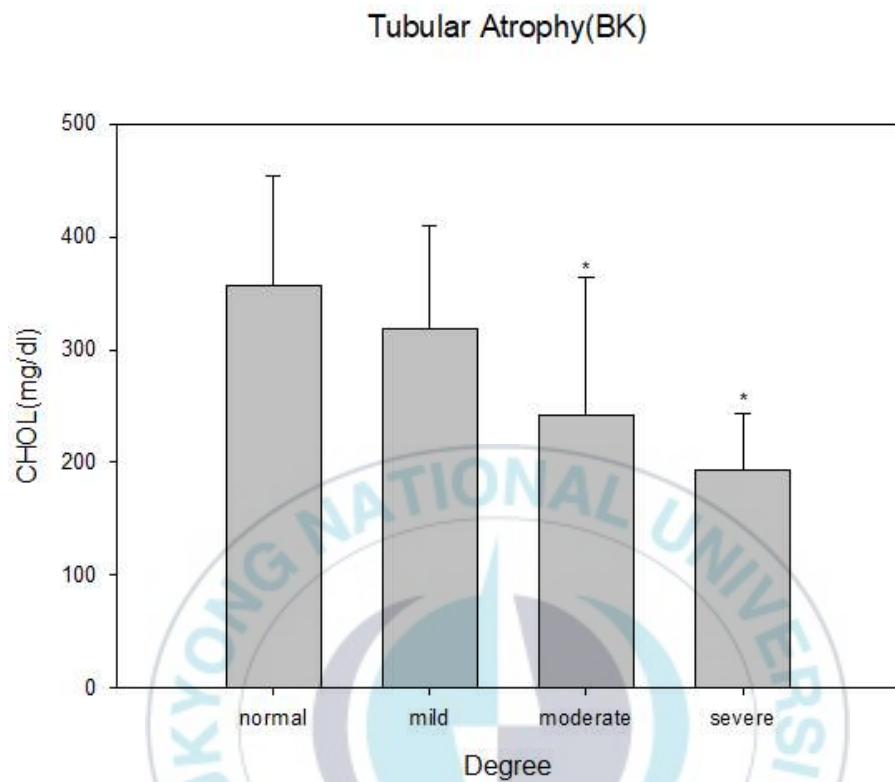


Fig 9. Change in CHOL levels when Tubular atrophy is observed in the Body kidney

Increase of MMC(SP)

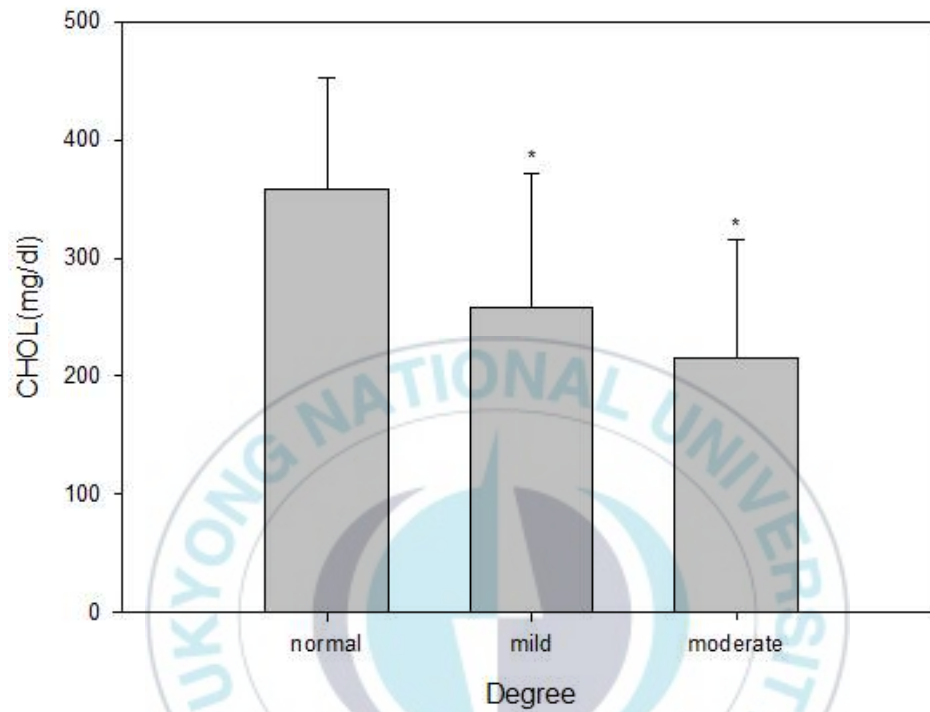


Fig 10. Change in CHOL levels when Increase of MMC is observed in the Spleen

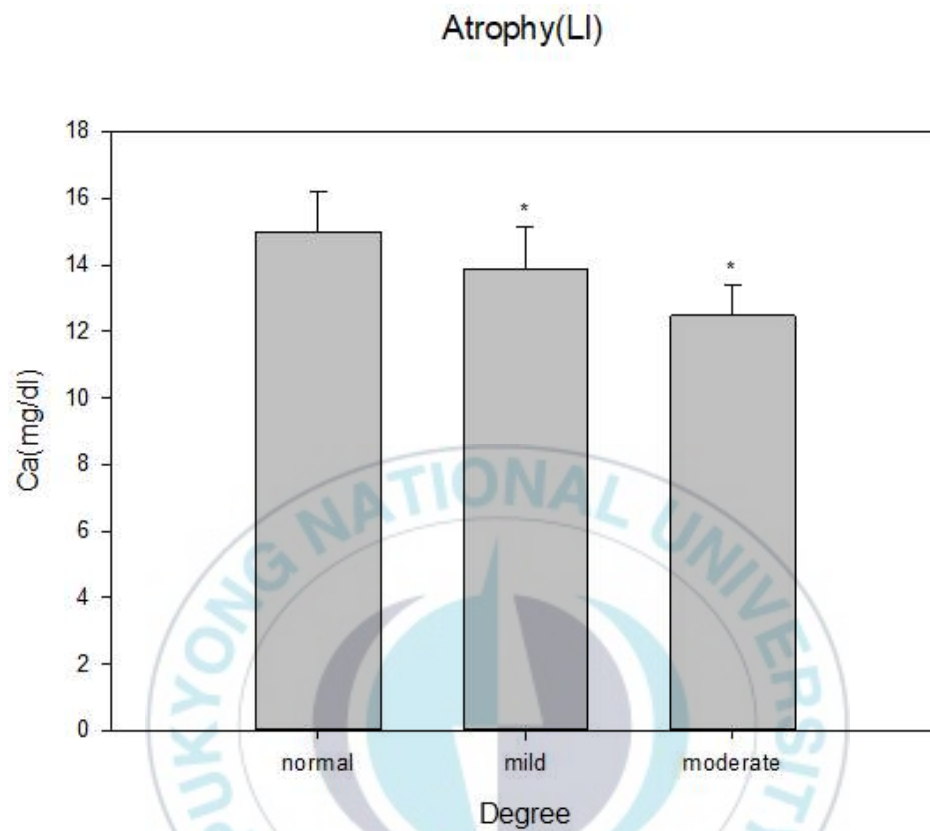


Fig 11. Change in Ca levels when Atrophy is observed in the Liver

Hyalinedroplet(BK)

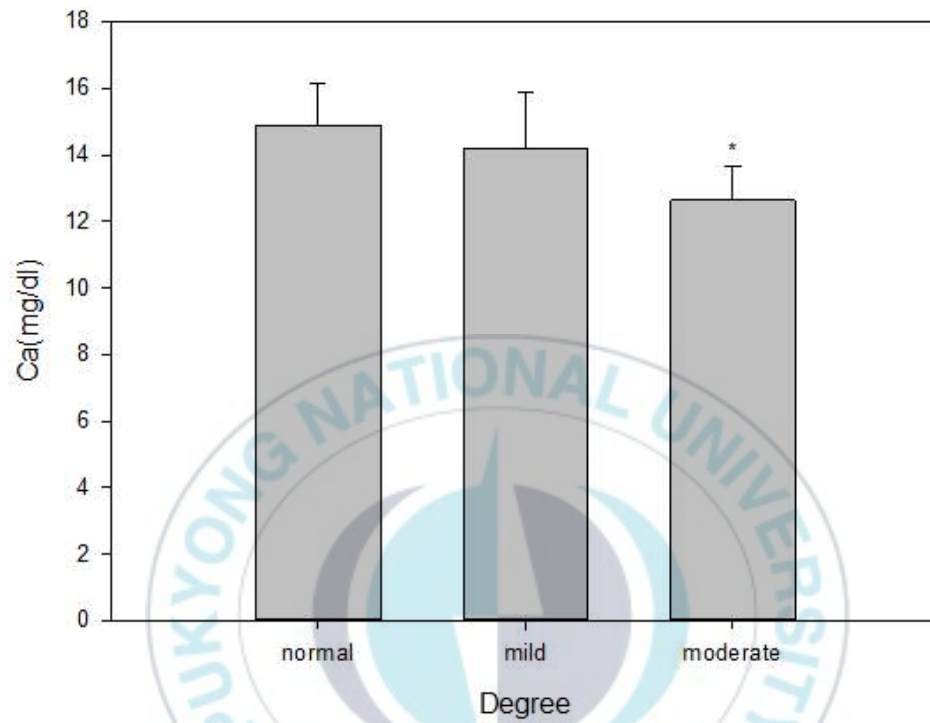


Fig 12. Change in Ca levels when Hyaline droplet is observed in the Body kidney

IV. 고찰

본 연구에서는 양식 넙치에서 나타나는 주요 병변들과 혈액 바이오마커들과의 상관관계 분석을 통해 병변 발생 시 혈액 데이터의 변화 양상을 관찰하였다. 사람에게서는 건강 상태를 확인하기 위해 지표 바이오마커를 사용하여 질병을 예측하고, 변화를 알아내기 위한 연구가 상당수 진행되고 있으나(Yoon et al., 2017) 어류에는 진행되고 있지 않아, 구조(병변)와 기능(혈액 바이오마커)간의 상관관계 분석을 통해 양식 넙치의 건강상태를 유추할 수 있는지를 알아보기 위해 진행하였다.

완도에 위치한 육상수조 양식장 2곳을 선정하여 매월 15마리씩(질병발생 시 추가샘플링) 6개월간 총 189마리의 개체를 분석하였고, 2가지의 혈액학적 파라미터, 12가지의 혈액생화학적 파라미터(Jeon et al., 1995), 39가지 병변(Bernett et al. 1999)에 대한 조직병리학적 분석을 통해 결과를 도출하였다.

조직병리학적 분석 결과로 총 33가지의 병변이 관찰되었고, 해당 병변의 정도에 따라 정상/경도/중등도/심도의 4가지 단계로 구분지어 스코어링하여 혈액 데이터들과 상관관계 분석을 실시하였다.

상관분석 결과 상관계수가 0.5이상 강한 상관관계를 나타내는 항목은 아가미 부종 시 TBIL의 값과, 간위축 시 BUN의 값으로 나타났고, 상관계수 0.4이상의 상관관계를 보이는 항목은 두신에 조혈활성이 관찰되었을 때 BUN의 값, 간위축이 관찰되었을 때 CHOL의 값과 Ca의 값으로 나타났다. 상관계수 0.3이상의 상관관계를 보이는 항목은 두신의 Hyaline droplet이 관찰되었을 때 TBIL과 Ca 값, 심외막염이 관찰되었을 때의 BUN값, 세뇨관 위축이 관찰되었을 때의 CHOL의 값, 비장의 MMC증가가 관찰되었을

때의 CHOL의 값으로 나타났다.

상관분석 결과를 토대로 실제로 값에서 유의미한 차이가 보이는지를 관찰하기 위해 병변별 정도에 따른 각각의 혈액값의 평균을 구하여 일원분산 분석을 통해 비교해 본 결과 실제로 유의성이 관찰되었다.

TBIL은 중등도의 아가미 부종이 나타났을 때와 중등도의 체신 Hyaline droplet이 나타났을 때 유의적으로 수치가 높아지는 것을 확인할 수 있었다. 정상일 때와 경도의 병변이 나타났을 때는 유의적인 차이가 발견되지 않아 중등도 이상의 병변이 발생하면 TBIL의 값이 높아지는 것을 예상할 수 있었다.

TBIL은 혈청빌리루빈 값으로 적혈구 중의 헤모글로빈 색소로부터 만들어지고 적혈구가 파괴되었을 때 형성되는 조직단백이다. 빌리루빈은 간과 관련된 질환들의 바로미터로 사용되고, 사람의 경우 빌리루빈이 높을 시 간염, 황달, 간경변 등의 증상을 나타낼 수 있다(출처 : 대한진단검사의학회). 간은 체내 항상성을 관장하는 중요한 장기로 간장 장애로 인한 아가미와 체신의 병변 발생에 대해서도 연구가 필요해 보인다.

BUN은 중등도와 심도의 간위축이 나타났을 때, 심도의 두신 조혈활성이 나타났을 때, 심도의 심외막염이 나타났을 때 유의적으로 수치가 높아지는 것을 확인할 수 있었다. 간위축이 관찰되었을 때는 중등도의 정도부터 BUN이 유의적으로 높아졌고, 두신의 조혈활성과 심외막염은 심도의 병변이 나타났을 때 유의적으로 높아지는 것을 볼 수 있었다.

BUN은 혈중 요소 질소값으로 음식물로 섭취한 단백질이 간에서 암모니아와 이산화탄소로 대사되어 요소 질소로 변하게 되는데 그 값을 의미한다(출처 : 서울아산병원). 정상일 경우 단백질은 체내에서 대사되어 대부분 신장에서 배설되며, BUN이 높을 경우 신장 장애의 지표가 될 수 있다.

BUN이 높을 경우 세뇨관 괴사, 사구체질환, 신부전, 간경변, 기아 등을 의심할 수 있다.

CHOL은 중등도, 심도의 간위축이 나타났을 때, 중등도, 심도의 세뇨관 위축이 나타났을 때, 경도와 중등도의 비장 MMC증가가 나타났을 때 유의적으로 수치가 낮아지는 것을 볼 수 있었다. 콜레스테롤은 영양상태를 대변하는 혈액 수치로 콜레스테롤 수치가 낮으면 영양이 부족한 것으로, 수치가 높으면 과영양의 상태로 판단할 수 있다. 콜레스테롤이 유의적으로 낮아질 때 간위축과 세뇨관 위축이 나타났고, 이는 영양이 부족하여 발생한 것으로 추정할 수 있고, 간위축이 나타난 개체는 중등도의 간위축은 5월에 4개체, 6월에 1개체, 9월, 10월에 각 1개체로 조사되었고, 심도의 간위축이 관찰된 개체는 6월에 2개체로 조사되었다. 또한 중등도의 세뇨관 위축이 관찰된 개체는 5월에 2개체, 6월에 3개체, 7월에 4개체가 조사되었고, 심도의 세뇨관 위축이 관찰된 개체는 5월에 2개체, 9월에 1개체가 조사되었다. 이를 종합적으로 판단했을 때, 5월에 사료공급이 비교적 적었던 것으로 추정할 수 있고, 그 외의 기간에는 도태된 개체로 추정된다. 이 외에도 MMC증가는 오염물질에 노출되었음의 지표로 사용되는 병변으로 경도의 MMC증가가 관찰된 개체가 5월에 13개체로 5월경에 수질이 좋지 않았음을 추정할 수 있다.

Ca는 중등도의 Hyaline droplet가 체신에서 관찰되었을 때 수치가 유의적으로 낮아지는 것을 확인할 수 있었다. Ca는 CHOL과 마찬가지로 영양상태를 대변하는 바이오마커로 칼슘 수치가 낮을 경우 영양상태가 좋지 않은 것을 의미한다. Hyaline droplet는 정확한 원인을 알 수는 없지만 다양한 원인에 의해 사구체가 손상된 것을 의미하므로 영양과 사구체의 손상과의 밀접한 관계를 유추할 수 있다.

상관관계 분석 중 3가지 혈액 수치와 상관관계를 보인 간위축의 경우 영양이 충분하지 않을 때 주로 발생하는 병변으로 질병이 발생하여 급이를 하지 못해 간위축이 발생했는지, 사료 섭취를 하지 않아 간위축이 발생하여 질병단계로 진행되었는지는 알 수 없지만 지금까지의 결과를 통해 혈액 검사 결과 BUN이 유의적으로 높거나, CHOL, Ca가 유의적으로 낮은 값이 함께 나올 경우 간위축을 의심해 볼 수 있을 것으로 보인다.

또한 개체별로 살펴보았을 때, 심도의 간위축 증상을 보이는 개체들에서 심외막염이 함께 관찰되었고, 중등도의 간위축 증상을 보이는 개체들에서는 심외막염, 비장 MMC증가, 비장의 RES활성 등의 증상이 함께 관찰되는 것으로 보아 해당 증상들을 건강악화의 파라미터로 볼 수 있으며, 인위 감염 실험 등을 통해 병변의 발병순서를 알아보는 것도 후속 연구에서 필요한 방향이다.

결과를 통해 보았을 때, 양식넙치는 단건의 혈액 수치로 건강상태를 확인하기는 어려우며, 여러 가지 바이오마커의 비교분석을 통해 건강을 유추할 수 있을 것으로 보이고, 유추의 정확도를 높이기 위해서는 앞으로 더 많은 연구 결과가 필요할 것으로 보인다.

현재는 양식넙치에 질병이 발생할 경우 해당 개체를 해부하여 침습적 진단을 수행하고 있으며, 기생충 검사의 경우 즉각적으로 결과가 나오지만 세균 검사나 바이러스 검사, 조직병리학적 검사를 수행할 경우 최소 3일에서 15일가량 시간이 소요되기 때문에 실질적으로 양식현장에서 질병이 발생했을 때, 검사가 도움이 되지 못할 때가 많다.

질병과 유의미한 바이오마커를 찾는 것은 매우 의미있는 일이 아닐 수 없다. 바이오마커는 질병을 사전진단하거나 진행 정도를 모니터링함에 있어 아주 중요하다(Yoon et al., 2017).

본 연구는 신속한 진단과 질병 감염 개체를 죽이지 않고 비침습적으로 진단할 수 있는 방법을 찾고자 시작한 연구로 의학적으로 널리 사용되고 있는 혈액검사를 양식 넘치에 적용해보는 시도로 볼 수 있다. 물론 개체수 189마리를 분석한 결과로 n 수가 적고 분석 항목도 많지 않아 완벽한 결과는 도출해 낼 수 없지만 앞으로 개체수가 늘고 항목이 다양해지면 혈액 검사로 질병을 진단하고 예측하여 선제적인 조치가 가능해질 지도 모른다.

앞으로 스마트 양식의 시대로 접어들고 있는 만큼 혈액검사 부분에 대한 연구가 더 필요할 것으로 보인다.



V. 요약

2020년 5월부터 10월까지 6개월 간 완도에 위치한 양식장에서 양식한 넙치(*Paralichthys olivaceus*)를 1개월 간격으로 조사하였다. 혈액학적 파라미터(Hematocrit, Hemoglobin) 2가지, 혈액생화학적 파라미터(Alanine aminoTransferase, Alkaline Phosphatase, Total Bilirubin, Gamma Glutamyl peptidase, Blood Urea Nitrogen, Creatinine, Glucose, Total Protein, Cholesterol, Albumin, Calcium, Phosphate) 12가지와 조직병리학적 분석 결과를 통계학적으로 분석한 결과 혈중 total bilirubin, blood urea nitrogen, cholesterol, calcium 수치가 조직병리학적 병변과 높은 상관관계를 보였다.

분석 결과 Gill에서 Intercellular oedema가 관찰되었을 때 TBIL 수치가 증가하였고, Head kidney에 Activation of haematopoiesis, Heart에 Pericarditis가 나타났을 때 BUN이 증가하는 양상을 보였다. Body kidney에서 Tubular Atrophy와 Spleen에서 Increase of MMC가 나타났을 때는 CHOL 수치가 감소하였고, Body kidney에서 Hyaline droplet가 관찰되었을 때는 TBIL은 증가하고, Ca는 감소하는 양상을 보였다. 또한 Liver에서 Atrophy가 관찰되었을 때는 BUN은 증가하고, CHOL과 Ca는 감소하는 양상을 보였다.

VI. 감사의 글

석사과정 학위를 취득하기까지 많은 이들의 도움이 있었기에 마무리 할 수 있었습니다. 제일 먼저, 항상 믿어주시고 응원해 주시는 부모님이 계셔서 힘들지만 잘 끝낼 수 있었던 것 같습니다. 감사합니다.

또한 항상 따뜻한 가르침을 주시고 인생의 방향을 설정해 주신 허민도 교수님이 계셔서 많은 가르침을 받았습니다. 교수님께서 가르쳐주신 모든 것 잊지 않고 평생 되새기며 살아가겠습니다. 그리고 실험실에서 정신적 지주가 돼주시는 이무근 박사님이 계셔서 석사과정을 끝마칠 수 있었습니다. 감사합니다.

바쁘신 와중에도 논문을 심사해 주시고 부족한 부분을 보완 및 지도해주신 정준기 교수님, 김기홍 교수님께도 감사드립니다. 늘 관심가져 주시는 김도형 교수님, 김광일 교수님, 강주찬 교수님께도 머리숙여 감사드립니다.

직장생활을 하며, 실험실을 자주 오지 못했음에도 불구하고 실험적이나, 생활적으로 도움을 많이 준 다혜랑 노을이에게도 감사합니다.

논문의 아이디어를 제공해 주신 최혜승 과장님, 조미영 연구관님, 김아란 박사님께도 감사드리며, 부족한 논문을 완성할 수 있게 해주신 모든 분들께 다시한번 감사드립니다.

VII. 참고문헌

- 수산정보포털. 수산통계. 어업생산통계. 품종별 현황. 2021
- 대한진단검사의학회. 선별검사 및 정기검진
- 서울아산병원. 검사/시술/수술 정보
- 심재동, 황성돈, 장수영, 김태완 and 정지민. 2019. Monitoring of the mortalities in oliver flounder (*Paralichthys olivaceus*) farms of Korea. *Journal of fish pathology* v.32 no.1:29-35
- In Sun Lee, Gyoo yong Chi, Kim jong won, Yong tae Lee and Kyu kon Kim. 2007. Study on Correlation with DSOM Fluents and CBC, Biochemical Examination. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology* 21(1):308~317
- 이효진, 김현진, 이원홍 and 서대건. 2015. 간 섬유화와 혈액생화학적 인자들의 연관성 분석. *대한초음파의료영상학회지* 6 : 87-97
- 이승영, 차상훈, 이성현 and 신동익. 2013. Evaluation of the Effect of Hemoglobin or Hematocrit Level on Dural Sinus Density Using Unenhanced Computed Tomography. *Yonsei Medical Journal*, 54(1):28-33
- D. Bernet, H. Schmidt, W. Meier, P. Burkhardt-Holm and T. Wahli. 1999. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of fish diseases*, 22: 25-35
- Byeong hun Yoon and Yu seop Kim. 2017. Correlation Analysis of Cancer Biomarkers and COPD Using the Word Embedding. *Korean Language Information Science Society* 10a:251-254
- Byeong-Hun Yoon, Young-shin Yoon, Hye-jeong Song, Jong-dae Kim, Chan-young Park, Yu-seop Kim. 2017. Correlation Analysis of BioMedical Entities using Word Embedding, *ICBEI*
- Young-shin Yoon, Chan-young Park, Jong-dae Kim, Hye-jeong Song and

- Yu-seop Kim. 2016. New Biomarker Discovery of Specific Disease using Word Embedding, *IMETI*
- Joon kyun Jeon, Pyong kih Kim, Yong joo Park and Hyung tack Huh. 1995. Study of Serum Constituents in Several Species of Cultured Fish. *J.Korean Fish. Soc.*28(2):123-130
- Heyong Jin Roh, Bo-Seong Kim, Ahran Kim, Nam Eun Kim, Yoonhang Lee, Won-Kyong Chun, Tho Diem Ho and Do-Hyung Kim. 2018. Whole-genome analysis of multi-drug-resistant *Aeromonas veronii* isolated from diseased discus (*Symphysodon discus*) imported to Korea. *Journal of fish diseases* v42(1):147-153
- 김재원, 지정훈, 홍수희 and 강주찬. 2003. Hematological Changes of Olive Flounder, *Paralichthys Olivaceus* Exposed to Aroclor 1254. *한국환경생물학회* 21(2):114-119
- Lee nam sil, Kim aran, Seo han gil, Choi he sung and Cho mi young. 2021. Histopathological Examination of Myxosporean-Infected Olive Flounders *Paralichthys olivaceus*, Cultured in Jeju Island, South Korea. *The Korean Society of Fisheries and Aquatic Science* v54(5):660-667
- Lee Jae-Young, Kwon Jeong-Hyun, Kim Ku-Tae and Shoji-Igawa. 2008. Effect on the change in blood pressure, RBC, hematocrit and hemoglobin and risk factors for cardiovascular disease of combined exercise in the older women prehypertensives(JNC-VII) during 12 weeks. *한국체육과학회지* 17(2):929-937
- Choi hye sung, Jun lyu jin, Kim seoung min, Lim hee young, Yeo in kyu and Jeong joon bum. 2012. Clinical features of fish with pathogens isolated from emaciated olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *The Korean Society of Fish Pathology* v25(2):67-76

- 정승희, 이주석, 한형균, 전창영 and 이해영. 2002. Effects of Medicinal Herb Extract on Non - specific Immune Responses , Hematology and Disease Resistance on Olive Flounder , *Paralichthys olivaceus* by Oral Administration. *한국어병학회지* 15(1):25-35
- 김원진, 김영수 and 장연진. 2010. Comparison of Hematological Properties in Cultured Olive Flounder *Paralichthys olivaceus* on Different Growth Stages and Seasons. *Development&Reproduction* 14(2):131-141

