

사후 생화학 (I) : 심장 표지자

민병우¹ · 박종태^{1,2} · 최종순³

¹전남대학교 의과대학 법의학교실
및 법과학연구소

²전남대학교 법학전문대학원

³기초과학지원연구원

접 수 : 2012년 4월 24일

게재승인 : 2012년 5월 10일

This work was supported by the NAP (National Agenda Project) of the Korea Research Council of Fundamental Science & Technology.

책임저자 : 박종태
(501-746) 광주광역시 동구 학5동
전남대학교 의과대학 법의학교실
전화 : (062) 220-4090
FAX : (062) 223-4250
E-mail : jtpark@jnu.ac.kr

Postmortem Biochemistry (I) : Cardiac Markers

Byeong Woo Min¹, Jong Tae Park^{1,2}, Jong Soon Choi³

¹Department of Forensic Medicine and the Research Institute of Forensic Science, Chonnam National University Medical School, Gwang-Ju, Korea

²Chonnam National University Law School, Gwang-Ju, Korea

³Korea Basic Science Institute

In cases of atherosclerotic occlusion of coronary artery, is it appropriate to conclude that myocardial infarction is the true cause of death? More sensitive and specific diagnostic methods for the postmortem diagnosis of myocardial infarction are sometimes necessary because macroscopic or microscopic changes associated with early-phase acute myocardial injuries or myocardial infarct are sometimes absent in sudden cardiac death.

Postmortem biochemical assessment of cardiac markers may help to evaluate the pathological cardiac status in sudden unexpected death without obvious cause. However, forensic pathologists are generally interested only in the macroscopic and microscopic findings for postmortem diagnosis of myocardial diseases and hesitate to use postmortem biochemical data because of the risk of postmortem changes.

There are several clinically useful cardiac markers antemortem cardiac events such as myocardial injuries, infarct, or heart failure and postmortem data on cardiac markers in autopsy cases of sudden death have been reported.

This review of postmortem data on cardiac markers in blood, other body fluids, and myocardial tissue will serve to introduce the recent international research trends and provide a foundation for a new field in postmortem biochemistry.

Key words : postmortem biochemistry, cardiac markers, sudden death

서 론

법의학에는 다양한 분야들이 있으나 사망의 원인과 종류, 사후경과시간, 개인식별 등이 주된 분야로 분류될 수 있다. 그 중에서도 개인식별 분야는 분자생물학의 급진적인 발전과 함께 유전자형 분석 및 염기서열 분석이 보편화된 감정 방법으로 활용됨으로써 이제는 연구의 단계를 지나서 일반화된 검사 기법으로 발전하였다. 심지어는 ‘범인 검거를 위한 유전자 은행의 data base의 범위를 어디까지로 할 것인가?’가 국민의 인권 및 개인정보 보호와 함께 중요한 논점이 되고 있을 정도로 개인식

별 분야는 연구의 단계를 넘어서 보편화되어 있다.

개인식별 분야와는 달리 사후경과시간은 고전적인 방법인 각막의 혼탁, 체온 하강, 시반, 시강 등 사망 후 시간 경과에 따른 시체 현상들과 일부 부패의 정도, 변사체 주변의 상황이나 목격자의 진술 등을 토대로 종합적으로 판단하고 있지만, 변사체가 놓인 환경 및 변사체의 신체적 차이, 목격자 진술의 신뢰성 여부 등 기타 여러 요인과 검사자의 주관적 판단에 의해 영향을 받게 된다는 것은 부정할 수 없다. 이러한 현실적인 문제 때문에 사후경과시간에 관련된 논란이 자주 발생하므로 생화학 또는 분자생물학적 기법을 비롯한 다양한 기법을 이용하여 사후경과시간을 객관적으로 입증할 수 있는 연구의 필요성이

대두되고 있다.

사망의 원인 또한 오래 전부터 주로 육안적 소견과 병리조직학적 소견에 의해 진단되어 왔으며, 그러한 이유 때문에 법의학을 법의병리학이라고 하기도 한다. 그러나 복잡다난해진 사회에서 사망에의 기여도나 유발 인자 등 죽음에 관련된 세밀한 정보를 요구하는 경우가 증가하는 경향을 고려하면, 모든 사망의 원인이나 종류들을 판단하는데 고전적인 법의병리학적 접근만으로는 한계가 있음을 부정할 수는 없다. 법의병리학적 접근의 한계를 극복하기 위한 방법 중 하나가 임상의학에서 시행되고 있는 생화학적 분석을 법의병리학 분야에 접목시키는 것이라고 할 수 있으며, 달리 표현하면 사인 진단을 위한 생화학적 접근이라고 할 수 있다. 현실적으로 법의병리학 분야에서는 이러한 생화학적 접근이 매우 드물다. 이는 사망 후 시체의 변화와 함께 생체에서 기능적 역할을 수행하는 대부분의 생화학 물질이 변성됨으로써 생체에서의 검사 결과와 차이를 보이게 될 것이므로 어찌할 수 없는 부분이라고 생각되기도 한다. 또한 사망의 경과, 즉 사망의 원인 질환이나 손상 발생 후부터 사망이 완료되기까지의 경과, 또는 사전기 직전의 시간적 길이, 심폐소생술 여부, 사망 전 사인 이외의 질병상태 등에 따른 생체 내 생화학 물질의 변화도 한 몫 할 것으로 추정된다.^{1,2)} 아직까지는 생화학적 분석 방법을 적용하는 것이 매우 제한적임에도 불구하고 사후경과시간 추정이나 사망의 원인 진단을 위한 육안적 및 조직학적 판단의 한계점을 극복하고자 생화학적 변화에 대한 연구가 꾸준히 진행되고 있다. 사후 생화학이나 분자생물학 연구의 주요 목표가 사망 전 상태나 죽음이 진행되는 동안 나타나는 병태생리학적 또는 기능적 변화를 찾고자 하는 것이며, 육안 소견이나 조직 소견 등 법의병리학적으로 판단하는 생활반응에 대응한다는 개념에서 ‘pathophysiological vital reactions(병태생리학적 생활반응)’이라고 부르기도 한다.³⁻⁵⁾

심근경색의 특징적인 병리조직학적 소견을 찾는 것이 어려운 일은 아니지만, 심근경색 발생 초기의 생화학적 변화만 있는 단계 즉, 심근경색이 발생하여 생화학적 변화는 진행 중이지만 형태학적 변화가 시작되기 전에 사망한 경우에는 심근경색의 병리조직학적 소견을 찾기 어렵고, 관상동맥의 폐쇄 정도만을 관찰하고서 심근경색 외에는 사인이 될 만한 다른 소견이 없다는 방법 즉, 배제적인 방법으로 심근경색을 진단하게 된다.⁶⁻⁸⁾ 따라서 심근경색이 의심되기는 하지만 조직학적으로 심근경색에 의한 심근 괴사가 분명하지 않는 경우에는 생화학 표지자(biochemical marker)들의 변화 추이를 분석하는 것이 사인 진단을 위한 보조적인 수단으로서 의미가 있다고 할 수 있겠다.

또한 단순한 또는 심각한 외상이 복합된 경우에는 심인성 사망인지, 어떤 것을 사인의 우선으로 할 것인지, 외상과의 관계는 어떻게 할 것인지 등은 법률적으로 또는 보험과 관련하여 매우 중요하게 평가되는 경우가 많다. 특히 변사자의 병력을 알기 어려운 경우가 많은 우리나라의 현실을 감안하면 임상의

학에서 진단 목적으로 사용되고 있는 생화학 물질들을 대상으로 하여 사인 진단에 응용하기 위한 연구를 시도하는 것은 그 의미가 적지는 않다고 생각된다.

이에 임상의학 분야에서 심장 질환의 상태를 파악하는데 활용되고 있는 몇몇 주요 심장 표지자(cardiac marker)들에 관련된 논문들을 검토하고, 사후 검체들에서의 연구 경향을 정리하여, 우리나라의 법의학계에서도 기능적 연구를 수행할 수 있는 정보를 공유함으로써 법의학의 연구 분야를 다양화하는데 기여하고자 하였다.

1. 생체에서의 심장 표지자

심근세포의 대표적인 미세 구조적 이상은 심근세포의 비후, 세포내 소기관의 변성, 수축 관련 단백질의 소실, 세포골격의 증가 등이며, 심근세포의 허혈성 손상에 의한 심부전뿐만 아니라 비허혈성 심부전에서도 관찰된다.⁹⁾ 심부전, 심장의 과부하, 또는 허혈성 심근 상태 등에 의해 심근의 근육원섬유(myofibrils)가 변성되면 심근세포가 손상된다. 손상 받은 심근세포의 막은 투과성이 증가하게 되고, 세포질에 액체 상태로 존재하는 단백질이 순환 혈액으로 방출된다. 결국 심근세포의 구조적 변화에 의해 심근 단백질이 순환 혈액에서 증가하게 되므로 혈액이나 기타의 체액에서 심장 표지자를 분석할 수 있다.¹⁰⁻¹²⁾ 이와 같이 혈액 내에 증가하는 심근 단백질의 종류들을 통해 심장 질환을 진단하거나 예후를 판단하는데 활용할 수 있으므로 이 단백질들을 심장 표지자라고 하며, 이는 병태생리학적 관점에서 (1) 심장의 부담 또는 과부하에 의한 neurohormone 계열, (2) 심근 손상에 의한 표지자, (3) 심근 손상 또는 변형과 관련된 염증 반응의 표지자 등으로 분류할 수 있다.¹³⁾ 예를 들어 WHO에 따르면 임상적으로 급성 심근경색 진단을 위해서는 1) 흉통, 2) 심전도의 변화, 3) 혈청 내 심장 효소(cardiac enzyme)의 점진적인 증가 중 2개 이상이 있어야 하는데,¹⁴⁾ 이들 중 혈청 내 심장 효소는 심근경색을 진단할 수 있는 대표적인 심장 표지자이며, 임상의학 분야에서는 새로운 심장 표지자들을 발굴하고 응용하기 위한 연구들이 지속적으로 진행되고 있다.

1-1. Myoglobin

Myoglobin은 Kagen 등¹⁵⁾에 의해 임상적 유용성이 제기되었으며, 급성 심근경색의 진단을 위한 최초의 생화학 표지자로서 kit가 만들어지기도 하였다. 즉, 최초로 임상의학분야에 응용된 심장 표지자라고 할 수 있다. Myoglobin은 18 kD의 세포액 내에 존재하는 단백질이며, 허혈성 손상을 받은 심근 조직으로부터 신속하게 배출되는데, 일반적으로 혈청에서는 심근경색에 의한 흉통 직후 처음 2시간 전후에 증가하고 6시간 내지 9시간에 최고치를 이루므로 심근경색 초기에는 어떠한 심장 표지자들 보다는 더 예민한 표지자라고 보고되었다.¹⁶⁻¹⁸⁾ 심근경색에

의한 심근세포 손상의 초기에 가장 먼저 증가하는 단백질이므로 매우 예민한 표지자이지만, 한편으로는 골격 근육의 질병이나 손상 또는 과격한 운동 때에도 골격 근육으로부터 순환 혈액으로 방출되므로 심근 손상을 대변할 수 있는 특이적인 단백질이라고 할 수 없다는 보고도 있다.¹⁹⁾ 예를 들어, 법의병리학 적 측면에서 살펴보면, 과격한 운동 후 심근경색이 아닌 다른 내인성 급사의 원인 질환이나 손상으로 사망하였다면 골격 근육으로부터 방출된 myoglobin 때문에 급성 심근경색으로 오인할 가능성이 높다. 물론 심폐소생술의 소요 시간에 의해 혈중 myoglobin 농도가 증가하는 경우도 배제하기 어려울 것이다.

1-2. Creatine kinase

Creatine kinase(CK)와 그 아형들은 세포의 에너지 대사에 관여하는 매우 중요한 세포질 효소이며,²⁰⁾ creatine의 가역적 인산화(phosphokinase)의 과정에서 세포의 에너지를 생성하는 기능을 하므로 뇌와 근육의 기능에 매우 중요하다.²¹⁾

CK는 80 kD~86 kD의 분자로서 골격 근육과 심장 근육에 존재하는 CK-MM과 뇌를 비롯한 다양한 조직에 존재하는 CK-BB, 사립체에 존재하는 2종의 CK-Mi 등 최소한 4개의 아형이 있으며, CK-MM은 골격근에 많고, CK-BB는 뇌를 비롯한 기타의 여러 조직에 분포하며,²²⁾ CK-MM과 CK-BB의 혼합형인 CK-MB의 형태로 관찰된다.²³⁻²⁵⁾ 특히, CK-MB는 심근 단백질의 20%를 차지하며, 골격 근육 단백질의 1% 내지 20%를 차지하므로 비교적 심근 특이성이 있는 효소라고 할 수 있다.²⁶⁾ CK-MB의 심근 조직 특이성 때문에 myoglobin과 함께 오래 전부터 임상의학 분야에서 심근경색 진단에 매우 중요한 검사 항목으로 활용되어 왔다.²⁷⁻³⁰⁾

1-3. Cardiac Troponin

Cardiac troponin은 cardiac troponin I(cTnI), T(cTnT), C(cTnC)의 3가지 아형이 있으며 이들은 actin에 결합하여 actin과 myosin의 상호 작용에 의해 근육의 수축력과 수축 속도를 조절한다.

cTnT는 37 kD의 단백질로 troponin과 tropomyosin의 결합에 관여하며, 심근세포 손상으로 인한 심장 질환의 중요한 표지자로 보고되고 있다.³¹⁾ 특히 cTnT는 급성 심근경색뿐만 아니라 심부전, 진구성 심근경색, 허혈성 손상과 무관한 기타의 심질환 등에서도 증가하므로 만성 심장 질환의 경과를 추적하는데 적합하다고 한다.^{11, 32-34)}

cTnI는 21 kD의 단백질이며 심근의 thin filament로서, 근육의 수축 과정에서 나타나는 actin-myosin 결합에 중요한 actomyosin ATPase의 활성을 방해하는 역할을 하는 polypeptide이다. cTnI의 92-98%는 심근섬유에 결합되어 있는 비수용성이지만 2-8%는 수용성으로 세포질에 있기 때문에 심근세포 손상 직후에는 수용성인 cTnI가 순환혈액에서 검출되므로 cTnT와 함께 심근세포 손상으로 인한 심장 질환의

중요한 표지자로 알려져 있다.^{35, 36)} cTnI는 골격 근육의 troponin I와는 다르며, N-terminal에 31개의 amino acid로 구성되고, 정상인이나 심근 손상 등 심장 질환이 없는 환자의 혈청에서는 검출되지 않지만, 심근세포 괴사가 있으면 혈청에서 검출되므로 심근 손상 초기의 급성 심근경색 진단이나 치료 효과 등을 판단하기 위한 일반적인 검사에 활용되고 있다.³⁷⁻⁴¹⁾

cTnI는 급성 심근경색뿐만 아니라 확장성 심근병증에 의한 심부전이나 심근경색의 후유증에 의한 심부전(NYHA class III and IV)에서도 증가하는데, 이는 만성 심장 질환 자체에 의한 증가가 아니고 만성 심장 질환에서 심근세포가 어떠한 이유로 손상을 받는 경우에 증가하는 것이므로 급성 또는 만성 심장 질환에서 심근세포 손상이 진행 중인지 여부를 판단할 수 있는 생화학 물질^{10, 42)}이라고 할 수 있다. 예를 들어 항암제의 독성에 의한 심근세포 손상으로 좌심실 기능에 이상이 있는 경우에도 cTnI가 증가하므로 cTnI는 심근세포 손상이 진행 중인지 여부를 파악하는데 좋은 지표이며,⁴³⁾ 심지어는 만성 심부전 환자가 일상적인 운동을 하는 과정에도 증가한다고 한다.⁴⁴⁾ 즉, 심장 질환의 급성 또는 만성 여부보다는 심근세포 손상이 현재 진행되고 있는 것인지 여부를 알 수 있는 단백질이므로 심부전 환자의 치료에 대한 반응 여부나 예후를 판단하는 데에도 도움이 되는 심장 표지자라고 할 수 있다.

심근경색 발작으로 인한 흉통 등의 증상이 발현한 후 혈액 내로 방출되는 시기를 살펴보면, cTnI는 심근경색으로 인한 흉통 증상 발생 후 6시간 이내에 측정가능하고 12시간째에 최고치를 보이며, 144시간 까지도 고농도 상태로 남아있다고 한다.^{45, 46)} 그러므로 cTnI는 급성 심근경색의 발생 시기 및 진행 양상 등을 추적할 수 있는 심장 표지자로도 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

cTnC의 유전자는 골격근의 troponin C 유전자와 동일한 염색체 위치인 3p21.3-p14.3에 있어서 동일한 amino acid 서열을 가지므로 심근 특이적이 아니며 골격근에서 유래된 troponin C와의 차이가 없다.⁴⁷⁾ 즉, cTnC는 myoglobin처럼 심근이나 골격근 손상에서 검출될 수 있는 단백질이다.

1-4. ANP, BNP, N-terminal propeptides

심근병증(cardiomyopathy)의 원인은 다양하지만, 기전적으로는 미세 혈류 장애로 인해서, 축적성으로 심근이 괴사되고 괴사된 부위는 섬유조직으로 변하면서 심근의 구조적 이상을 초래한다. 즉, 관상동맥의 미세 분지 순환 장애가 심근병증의 원인으로 설명되고 있다.⁴⁸⁾ 그 외에도 neurohormone 이나 oxidative stress 또는 cytokine 등이 그 기전으로 설명되기도 한다.⁴⁹⁾ 심근세포의 사망은 괴사(necrosis)의 과정으로 이루어지기도 하며⁵⁰⁾ 세포자멸사의 과정으로 이루어지기도 하는데^{51, 52)} 어떤 형태로든지 심근세포들이 괴사되면 결국 섬유화가 진행되고, 이로 인하여 심근에 구조적 변화가 이루어지면 좌심실 압력 증가 등 기능에 부담이 발생된다. 이때 noradrenaline,

ANP(atrial natriuretic peptide), BNP(brain natriuretic protein) 등이 방출되고 renin-angiotensin 계가 활성화 된다.⁵³⁻⁵⁵⁾

1-4-1. BNP(brain natriuretic peptide) 와 NT-proBNP

좌심실의 압력이 증가되면 좌심실의 심근세포에서 proBNP가 방출되고, proBNP는 생물학적으로 활성화된 BNP와 BNP의 N-terminal 쪽에 있으면서 비활성 상태인 NT-proBNP(N-terminal ProBNP)로 분리된다. BNP는 생리적으로 혈관 확장, 이뇨, 나트륨배설 촉진 등의 기능을 한다.⁵⁶⁾ 또한 BNP는 만성 심부전에서 좌심실의 기계적 과부하에 의해 심실근에서 분비되는 대표적인 신경호르몬으로써, 좌심실의 기능 판단과 예후를 추정하는 중요한 지표가 된다고 알려져 있다.^{55, 57, 58)}

한편 심장의 afterload와 관련있는 BNP의 전구체인 NT-proBNP는 심부전의 초기 상태를 평가하는데 BNP보다도 더 유용하다고 하는데, 비활성화 상태인 NT-proBNP의 생체 내 반감기는 120분이고, 활성화 상태인 BNP의 반감기는 20분이라는 보고⁵⁹⁻⁶²⁾를 고려하면, 혈액으로 방출된 심장 표지자를 검출할 수 있는 기술적 측면, 즉 반감기가 짧으면 검출이 가능한 시간대에 영향을 받는다는 점에서 BNP보다도 NT-proBNP가 심부전의 기능 평가나 예후 추정에 더 중요하고 실용적인 표지자라고 생각된다.

1-4-2. ANP(atrial natriuretic peptide)와 NT-proANP

BNP와 함께 심장의 기능 부전을 평가할 수 있는 단백질인 ANP(atrial natriuretic peptide, 28 amino acid residues)는 심방의 심근세포에서 proANP의 형태로 생성된 후 ANP와 NT-proANP로 분리되면서 ANP가 활성화된다. 임상적으로 ANP의 혈청 농도 증가는 심장의 preload 증가와 관련이 있다.^{63, 64)} 고 알려져 있다. 그러나 BNP나 NT-proBNP가 임상 의학 분야에서 활발하게 이용되고 있는 반면 ANP나 NT-proANP는 그 활용도가 낮은 것으로 생각된다.

1-5. H-FABP(heart specific fatty acid binding protein)

H-FABP는 132개의 amino acid, 15 kD의 저분자 산성 단백질이며, 심근세포의 세포액내에 풍부하게 존재하고, 심근세포 내에서 fatty acid 이송에 관여하며⁶⁵⁾ 허혈 상태에 노출된 심근세포를 보호하는 역할을 한다.⁶⁶⁾ 심근경색 등에 의해 심근의 손상이 발생하면 순환혈액으로 방출되므로 급성 심근경색 초기 단계에서 진단적 가치가 있는 표지자이다.⁶⁷⁻⁷⁰⁾

그러나 H-FABP는 심근경색 발생의 초기뿐만 아니라 말기 심부전 환자에서도 증가하므로 H-FABP농도가 매우 높게 증가하면 심부전 환자의 예후가 좋지 않다는 것을 의미한다.^{71, 72)} 또한 H-FABP는 주로 심장에서 생성되지만 골격 근육에서도

생성되므로 심폐소생술이나 다장기 기능부전, 수술, 과격한 운동 등을 비롯한 외상에 의해서도 증가한다.^{73, 74)} 그렇다면 myoglobin, cTnC와 유사한 심장 표지자라고 할 수 있으며, 심근 특이성에 대한 논란이 있을 수 있다.

H-FABP는 확장성 심근병증, 진구성 심근경색, 고혈압성 심질환, 판막질환, 또는 선천성 심질환 등에 의한 심부전 환자에서 심근의 구조적 변화와 관계있지만⁷¹⁾ cTnI나 cTnT처럼 심근세포의 손상이 진행되고 있다는 것을 판단하게 하는 표지자 역할을 하므로 진행된 심부전 환자의 혈청 H-FABP농도는 심부전의 병태생리나 치료에 대한 반응 또는 예후를 파악하는데 매우 중요하며 H-FABP의 증가는 심근세포의 괴사에 의해 좌심실의 기능 부전이 발생한다는 병리 기전을 설명하는 근거가 된다.^{71, 72, 75)}

1-6. Myosin

Troponin과 함께 myosin light chain 1(MLC-1)은 심근의 수축 · 이완계의 일부이며 급성 심부전 환자의 혈청에서 troponin과 함께 증가하면 환자의 예후가 불량하다고 판단하므로 심부전 환자의 예후 지표이기도 하다.^{76, 77)} Troponin이 actin과 myosin 사이의 가교역할을 한다는 생리적 기능을 고려하면 MLC 1도 cTnI나 cTnT와 유사한 임상학적 의의가 있을 것으로 생각된다.

Myosin heavy chain 단편은 급성 심근경색 2일째부터 순환 혈액으로 방출되어 8-10일까지 고농도로 관찰된다.⁷⁸⁾

1-7 심장 표지자들의 조합

새로운 심장 표지자들에 대한 연구들이 보고되면서, 보다 정확한 진단과 판단을 위하여 여러 개의 심장 표지자들을 조합하여 심장 질환의 진단과 예후 판단에 이용하고 있다.

Myoglobin은 심근과 골격근에 존재하므로 심근 손상이나 골격근 손상에서 모두 증가한다. 또한 신부전, 근육주사, 격렬한 운동, 약독물 섭취 등에 의해서도 증가할 수 있으므로 급성 심근경색 진단을 위해서는 심근 특이적인 단백질인 cTnI 나 cTnT 또는 배제적인 진단을 위해서 골격근 특이 효소인 carbonic anhydrase III 등을 조합하여 이용해야 한다.^{19, 79)}

울혈성 심부전에서 혈청 내 MLC-I, H-FABP, CK-MB, TnT는 안정기에서보다 급성기에서 증가하므로 즉, 치료 전후를 비교하여 치료 후 급격히 감소하므로 MLC-I, H-FABP, CK-MB, TnT의 혈청 농도는 울혈성 심부전의 중등도나 치료에 반응하는지 여부를 판단하는데 의미가 있다고 보고⁷⁶⁾되기도 하고, cTnI, cTnT, 및 MLC-1은 매우 진행된 울혈성 심부전(advanced CHF)에서 증가한다고 보고¹⁰⁻¹²⁾되기도 한다. 또한 울혈성 심부전에서 세포액 내에 있는 H-FABP와 CK-MB의 혈청 내 농도는 세포막을 통해 누출되는 것이므로 손상된 심근세포 막의 투과성 변화에 의해 영향을 받는 것은 당연하다.⁸⁰⁾

Nageh 등⁸¹⁾은 109예의 경피적 관상동맥 시술 환자에서 CK-MB, cTnT, cTnI를 추적 검사한 결과 경피적 관상동맥 시술 후 나타나게 되는 심근 괴사의 표지자로서 cTnI가 가장 예민한 표지자이고, CK-MB, cTnT도 신뢰할 수 있는 표지자라고 하였다.

이상의 내용을 종합하면 심장 표지자들은 처음 이용될 때에는 단독으로 심근경색 등에 의한 심근 손상을 증명할 수 있다고 하기도 하고, 심부전 등 만성 심장 질환의 치료에 대한 반응이나 예후를 판단하는데 유용하다고 한다. 그러나 심장 질환의 현 상태를 알기 위해서 하나의 심장 표지자보다는 여러 종류의 심장 표지자들에 대한 혈중 농도를 반복적으로 분석하여 그 변화 추이를 종합하고 판단하는 것이 심장 질환의 상태를 정확하게 알 수 있는 방법이다.

2. 사후 체액에서의 심장 표지자

심근경색 발생 후 수 시간이 경과되기 전에 급하게 사망이 완료되면 심근경색에 의한 병리조직학적 변화를 보이지 않는다. 심근 손상 후 생화학적 변화가 병리조직학적 변화보다 빠르게 진행되므로 조직학적 변화를 보이기 전의 심근경색 등 심장 질환에 의한 사망을 진단하기 위해서는 생화학 표지자의 분석이 매우 중요하므로 법의병리학적 응용 연구의 경향을 알아보고자 하였다.

2-1 Myoglobin

Püschel 등⁸²⁾은 58예에서 혈청 내 myoglobin 농도와 사후경과시간, 사망의 원인 중 특히 감전사, 채혈 부위 등을 비교하였는데, 사후경과시간이 진행될수록 myoglobin 농도가 분명하게 증가하였고, 채혈 부위는 심근이나 골격근이 있는 부위인 심장이나 대퇴 정맥의 혈청에서 의미있게 높은 농도를 보였으나, myoglobin 농도와 감전사와의 관련은 없다고 하였다. Fieguth 등⁸³⁾도 감전으로 사망한 9예와 기타의 원인으로 사망한 74예의 심장 혈액과 대퇴정맥 혈액에서 myoglobin 농도를 비교하였는데, 사망의 원인이나 채혈 부위에 무관하게 사후경과시간에 따라 증가하는 양상을 보이는 하였지만, 총 83예의 59%에서는 심장 혈액의 myoglobin 농도가 대퇴 정맥에서보다 높았고, 나머지 41%에서는 그 반대의 양상을 보여서, 결국 심장 혈액과 대퇴정맥 혈액에서의 이와 같은 myoglobin 농도의 변화는 사후경과시간이나 사망의 원인과 관련성이 없다고 하였다. 심지어는 다발성 근육 손상이나 심근경색으로 사망한 예들을 근육 손상이 없는 기타 사망 예들과 비교해도 혈액 내 myoglobin의 농도는 큰 차이는 없었다고 하였다. 따라서 혈액 내 myoglobin의 농도만으로 감전사를 진단하는 것은 충분하지 않다고 하였다.

Zhu 등⁸⁴⁾도 210예의 다양한 사인들을 대상으로 뇨 및 일부 혈액에서 myoglobin 농도를 측정하였으며, 열사병, 화상, 대량

의 근육 손상, 심근 비대, 사망 직전의 저산소증에 의한 경련 등으로 사망한 경우에는 뇨에서 myoglobin 농도가 증가하였다고 하였다. 즉, 심근경색의 특이적인 단백질이 아니라는 의미로 해석된다. 한편 Zhu 등⁸⁴⁾은 myoglobin의 혈중 농도와 뇨중 농도는 상호 일치하지 않았는데, 그 이유는 사후 방광 근육의 자가 용해, 사망 당시의 조직 손상, 사망에 이르게 되기까지의 시간 지연 등이 뇨의 myoglobin 농도 증가의 원인일 것으로 추정하였다. 그러나 방광에서만 사후변화가 발생하는 것이 아니고 심근에서도 사후 심근의 용해, 사망 당시의 심근 손상, 사망에 이르게 되기까지의 시간 지연 등의 변화가 발생할 것이므로 이러한 설명은 적합하지 않을 것으로 생각된다.

전반적으로 myoglobin은 심근이나 골격근 손상 후 가장 먼저 검출되는 생화학 물질이지만 사후 변화나 자가용해 등 간접 현상 뿐만 아니라 심근 특이성의 문제 때문에 확진적인 역할보다는 다른 심장 표지자의 보조적인 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다.

2-2 CK

Burns 등⁸⁵⁾은 급성 심근경색에서 조직학적 변화가 진행되기 전인 초기 단계를 진단하기 위해서 심근경색으로 사망한 것이 분명한 군, 관상동맥폐쇄는 있으나 심근경색에 의한 사망이 아닌 군, 비심인성으로 사망한 군으로 분류하였고, 심낭액, 말초 혈액, 우심방 혈액에서 creatine phosphokinase, creatine phosphokinase isoenzymes, aspartate aminotransferase, hydroxybutyrate dehydrogenase의 활성도를 측정하였다. 심근경색으로 사망한 군에서는 일반적인 조직병리학적 검사에서 심근경색의 소견이 관찰되지는 않았지만 creatine phosphokinase 증가하였음을 관찰하여 creatine phosphokinase는 형태학적 변화가 진행되기 전에 심근경색을 진단할 수 있는 진단적 가치가 있다고 하였다.

사망 후 48시간 이내에 부검을 통해 채취한 심낭액에서 CK 농도는 심근경색으로 사망한 경우와 심근경색이 아닌 다른 원인으로 사망한 경우에서 차이가 있었고 CK와 CK 아형은 진단적 가치가 있으며, 특히 'cardiac status'를 파악하는데 중요하다는 보고도 있다.^{86, 87)}

2-3 cTnI

Osuna 등⁸⁸⁾은 급성 심근경색에 의한 사망이라는 진단에 cTnI가 도움이 될 것인지를 평가하기 위해서 총 89예의 심낭액과 대퇴정맥의 혈청에서 cTnI, myosin heavy chain, myoglobin의 농도를 측정하였고, 대퇴 정맥의 혈청보다는 심낭액에서 증가된 cTnI의 농도가 진단적 가치가 매우 크다고 하였다.

그러나 Cina 등⁸⁹⁾은 심인성 사망으로 진단된 38예와 비심인성 사망으로 진단된 52예의 심낭액에서 cTnI 농도는 비심인성 사망으로 진단된 예들보다 심인성 사망으로 진단된 예들에서

높은 농도를 보인 것은 분명하지만, 통계적으로 분석해보면 심인성 사망임을 예측할 수 있는 지표가 되지는 못한다고 하였다. 오히려, 심장의 무게, 진구성 또는 최근의 심근 손상 유무, 심각한 관상동맥의 질환의 유무 등이 심인성 사망임을 보조할 수 있는 조건이라고 하였다. 그렇지만 심낭액에서의 cTnI 농도는 흉부 외상이나 심폐소생술에 영향을 받지 않는다고 하였다.

2-4 cTnT

Ellingsen과 Hetland⁹⁰⁾는 102예 중 최근에 발생한 심근경색에 의한 병리조직학적 소견이 있는 34예에서 cTnT의 농도 평균은 1.95 ug/L이었고, 비심인성 사망으로 진단된 35예에서 cTnT 농도 평균은 0.16 ug/L, 급성 심근경색의 병리조직학적 소견은 없지만 심인성 급사로 추정되는 33예에서 cTnT 농도 평균은 0.61 ug/L로써 의미가 있는 결과를 보였다. 따라서 cTnT의 농도는 심근 손상의 증거이며, 사후 심인성 사망을 진단할 때 필요한 심장 표지자라고 하였다. Khalifa 등⁹¹⁾도 심근경색이 분명한 심인성 급사 15예 모두에서 정맥 혈액의 cTnT 농도가 증가하였으며, 응급소생술 여부는 cTnT 농도와 무관하였고, 응급소생술을 받지 않은 비심인성 사망 15예 중에서 감전사에서만 cTnT가 높게 관찰되어서 cTnT는 사후 심근경색 진단을 위한 생화학적 표지자라고 하였다.

Zhu 등⁷⁾은 405예(둔기 손상사 122예, 예기 손상 21예, 익사 27예, 화재사 94예, 고체온사 13예, 저체온사 6예, methamphetamine 중독사 12예, 일산화탄소 중독사 5예, 심근경색에 의한 사망 57예, 뇌혈관계 질환 사망 13예)를 대상으로 혈액과 심낭액에서 cTnT 농도를 측정할 결과, 사후 12시간 이내의 cTnT 농도보다 사후 12시간 내지 24시간의 cTnT 농도가 높았고, methamphetamine 중독사, 일산화탄소 중독사, 심근경색에 의한 사망에서 cTnT 농도가 높게 나왔으며, 각 부검 예의 심근 손상을 등급화하여 비교하면 심근 손상이 진행된 부검 예에서 높았다고 하여 진단적 가치가 크다는 것을 시사했다. 또한 Zhu 등⁹²⁾은 심인성 급사 96예와 대조군 75예를 대상으로 하여 cTnT 농도를 비교한 결과, 심장 혈액보다 심낭액에서, 그리고 진구성 심근경색에서보다 급성 심근경색과 재발된 심근경색에서 높게 관찰되었는데, 이는 cTnT가 심근 내 출혈, 피사 등 심근의 손상 정도와 크기 및 사후경과시간과 상관관계가 있는 결과라고 하였으며, 체액의 채취 부위마다 결과가 다를 수 있으므로 다양한 종류 및 부위의 검체를 대상으로 해야 한다는 점을 시사한다고 할 수 있다.

Cina 등⁹³⁾은 40예를 대상으로 검안 과정에 말초혈액을 채혈하여 즉시 이루어진 cTnT 검사 결과, 변사자의 나이, 사후경과 시간, 심폐소생술 여부 등을 기록하였다. 부검 후 최종 사인을 결정하여 20예의 심인성 사망자와 20예의 비심인성 사망자로 분류하였으며, 심인성 사망 예의 85%(17예/20예)에서 cTnT가 증가하였고, 비심인성 사망 예의 30%(6예/20예)에서만 증가하였으므로 심폐소생술의 영향은 없을 것으로 판단하였다.

통계적으로는 50세 이상의 연령군에서 심인성 사망으로 진단할 수 있는 민감도는 91%이고, 특이도는 86%라고 하였다. 일반적으로 심좌상은 심폐소생술에 의한 손상과 구별이 어려운데, Dressler 등⁹⁴⁾은 심좌상으로 사망한 것이 확실한 13예의 혈액에서 측정된 cTnT의 평균은 97.75 ng/mL (SD 48.39 ng/mL)이었으며, 심좌상이 없으면서 심폐소생술에도 불구하고 사망한 10예에서 cTnT의 평균 농도는 0.07 ng/mL (SD 0.03 ng/mL)로써 심좌상과 심폐소생술에 의한 간접현상을 구별할 수 있을 정도로 큰 차이를 보인다고 하였다.

그러나 cTnT가 사후 채액에서 심근 손상 판단의 진단적 가치가 있다는 보고와는 달리 Hausdörfer 등⁹⁵⁾은 정상인의 혈액에서 관찰되지 않는 cTnT가 119예 거의 모두에서 증가하였고 대퇴 정맥 혈액에서보다 심장 혈액에서 더 높은 농도를 보였는데, 그 이유는 cTnT의 농도와 심근섬유 변성 정도와는 연관성은 없고, 심근의 사후 자가용해의 결과로 cTnT가 방출되었다는 것으로 해석하였다. 또한 Matoba 등⁹⁶⁾도 임상적으로 사용되고 있는 cTnT kit를 부검 예에 적용하였는데, 좌심실과 우심실의 혈액에서는 95.1%의 강한 cTnT 양성율을 보였고, 말초혈액에서는 71.2%의 강한 cTnT 양성율을 보였지만, 사후 cTnT의 농도는 비심인성 질환에 의한 사망, 사후변화, 및 응급소생술에 의해 영향을 받기 때문에 법의병리학 분야에서 활용 가치가 없다고 하였다.

2-5 CK, cTnI

Batalis 등⁹⁷⁾은 급성 심근경색에 의해 사망한 5예와 심인성 급사가 아닌 5예를 대상으로 하여 심낭액과 여러 부위에서 채혈한 혈액에서 CK, CK-MB의 활성도와 cTnI 농도를 측정하였는데, 생체에서 측정한 활성도나 농도보다 높았고, 채혈 부위에 따라 활성도와 농도가 다르다고 하였다. Cina 등⁹⁸⁾은 cTnI는 CK-MB보다 더 민감도가 높을 것으로 가정하고 28예의 쇄골하 정맥으로부터 혈액을 채혈하여 CK-MB 활성도와 cTnI를 정량하였으며, CK-MB와 cTnI가 모두 높게 정량되기는 하였지만, 비심인성 사망에서보다 심인성 사망에서 CK-MB와 cTnI가 높게 정량되었다. 따라서 CK-MB와 cTnI는 부정맥으로 사망하거나 또는 미세조직학적 변화가 없는 심인성 사망과 비심인성 사망을 감별하는데 유용할 것이라고 하였다. Zhu 등⁹⁹⁾은 사후경과시간이 48시간 이내에 있는 234예의 심장 및 말초 혈액과 심낭액에서 cTnI와 CK-MB를 측정하였으며, cTnI와 CK-MB 사후경과시간에 따라서 서서히 증가하는 경향을 보이기는 하였지만, cTnI는 급성 심근경색, 뇌혈관계 질환, 고열에 의한 사망(hyperthermia), methamphetamine 남용 중독사, 일산화탄소 중독사 등에서는 의미있는 증가를 보였고, 재발성 심근경색, 만성 심부전, 익사 등에서는 의의가 없었던 반면, CK-MB는 일산화탄소 중독사에서는 의미 있게 증가하였고, 익사에서는 cTnI와 마찬가지로 의의가 없다고 하였다.

한편, Welsh 등¹⁰⁰⁾은 29세에서 79세로 구성된 6예의 좌심실

근육에서 CK-MB와 cTnI를 측정하여 고령군에서는 35세 이하에서보다 CK-MB는 86배 높게 측정되는 반면, cTnI는 7.7배 낮게 측정되어서 심근경색 진단 가능성의 여부를 판단하기 위해서는 연령대별 기준치가 먼저 마련되어야 한다고 하였다.

2-6 Myoglobin, CK, cTnI

Pérez-Cárceles 등¹⁰¹⁾은 총 188예(심근경색으로 사망한 52예, 질식사 59예, 다발성 외상 41예, 심근경색이 배제된 병사 36예)의 혈청과 심낭액에서 CK-MB, myoglobin, cTnI 농도를 분석 비교하였는데, CK-MB, myoglobin, cTnI는 심낭액에서 많은 차이를 보였지만 심근경색으로 사망한 예에서 가장 높은 농도를 보인다고 하였다. Wang 등¹⁰²⁾은 사망 후 48시간 이내에 부검이 이루어진 295예의 심낭액과 뇌척수액에서 CK-MB, cTnI, myoglobin 농도를 비교하여 사인과의 관계를 분석하였다. CK-MB, cTnI, myoglobin 등은 사후경과시간에 따라 약간 증가하는 경향을 보였지만, 열사병(heat stroke)과 methamphetamine을 남용한 예의 심낭액과 뇌척수액에서 myoglobin이 증가하였고, CK-MB는 열사병으로 사망한 예에서보다 methamphetamine을 남용한 예에서 더 높았다. 또한 향정신성 약물 중독사, 감전사, 뇌혈관 질환에 의해 사망한 예에서는 심낭액에서 CK-MB, cTnI, myoglobin 모두의 농도가 증가하였고, cTnI는 뇌척수액에서도 증가하였다. 급성 폐색전증에서는 심낭액에서 cTnI가 증가하였지만 CK-MB나 myoglobin의 증가는 없었다. 뇌척수액에서의 CK-MB는 둔기에 의한 뇌손상, methamphetamine 중독에서 증가하였다. 대부분의 자연성 뇌손상사, 저체온사, 폐렴으로 사망한 예의 심낭액이나 뇌척수액에서 CK-MB, cTnI, myoglobin의 농도는 낮거나 약간 증가하였고, 심인성 급사, 질식사, 화재사 등에서도 특징적인 증가는 없었다. 이러한 결과들을 종합하면 심낭액과 뇌척수액에서의 CK-MB, cTnI, myoglobin 농도는 사인별로 상호 비교함으로써 사망이 진행되는 과정에서 심근이나 골격근 손상의 중증도를 평가하는데 중요하며, 열사병, 저체온증, 감전사, 중독사 등을 판단하는데 도움이 될 것으로 생각된다.

그러나 이러한 긍정적인 보고와는 달리 Tomášková와 Vorel¹⁰³⁾은 심근경색이 조직학적으로 확인된 38예와 4예의 심부전, 6예의 뇌실질 출혈 등을 포함한 다양한 원인으로 사망한 33예의 혈액과 심낭액에서 CK-MB와 myoglobin은 모두 증가하였으며, cTnI는 모든 부검 예의 심낭액에서 증가하여 급성 심근경색의 의한 사망 여부를 구분할 진단적 가치가 없다고 하면서, 혈액에서 급성 심근경색으로 사망한 경우의 87%에서 증가하였고, 급성 심근경색이 아닌 다른 원인으로 사망한 경우의 91%에서 증가하였으므로 결국 myoglobin, CK-MB, cTnI 등은 급성 심근경색에 의한 사망인지 여부를 알 수 있는 진단적 가치가 없다고 하였다.

2-7 cTnI, cTnT

Ooi 등¹⁰⁴⁾은 사망 전의 CK, CK-MB, cTnI, cTnT 농도가 증가했지만 임상적으로는 심근경색이 발생하였다는 임상적 증상이 없는 상태에서 사망하여 부검을 시행한 78예 중 15예에서는 심근의 병리조직학적 변화가 없었고, 진구성 심근경색에 의한 섬유화가 9예, 최근의 심근경색에 의한 병리조직학적 변화가 있는 27예, 회복된 심근경색 7예, 울혈성 심부전에서의 심근세포 변성 12예, 기타 심근 변화가 8예에서 관찰되었으며, 특히 심근경색이나 심근의 병리조직학적 변화를 평가하는데 cTnT가 cTnI보다도 더 예민한 단백질이라고 하였다.

반면 Davies 등¹⁰⁵⁾은 사망 전 즉 생체에서의 cTnT와 cTnI 검사 결과가 확보되어 있는 환자가 병원에서 사망한 5예를 부검 하였고, 여러 부위에서 채취한 혈액에서 cTnT와 cTnI를 검사한 결과, 심인성 급사와 비심인성 급사를 구분하는데 도움이 되지 않았으며 단지 사망 직전의 심각한 질병 상태와 관련이 있을 것이라고 하면서도, 선택적으로 진단에 도움을 준다고 하였다. 물론 본 문헌¹⁰⁵⁾에서는 다소 적은 예인 5예에 대한 분석 결과이므로 단정적인 결과라고 할 수는 없으며, 생체에서의 농도와 사후 농도를 비교하는 연구는 심장 표지자를 사후 진단에 활용하기 위해서 매우 중요하다고 생각된다.

2-8 cTnI, cTnT, cTnC

심근 특이 단백질 cardiac troponin으로 심좌상을 증명할 수 있는지를 확인하기 위해서 Peter 등¹⁰⁶⁾은 심좌상이 분명한 25예의 정맥 혈액에서 cTnT, cTnI, cTnC의 농도는 심장에 외상이 없는 대조군인 11예에서의 농도보다 매우 높게 관찰되었으며, 면역조직화학적 염색에서 심좌상이 분명한 부검 예의 심근 조직에서의 cTnT, cTnI, cTnC 발현은 대조군에 비교하여 크게 감소한다고 하였다. 즉, 심근 조직에서 순환 혈액으로 방출된 결과라고 해석할 수 있다. 그러나 이러한 결과에 대하여 Gaze 등¹⁰⁷⁾은 cTnI와 cTnT는 심근 특이성이 있으므로 Adams 등¹⁰⁸⁾과 Obnibene 등¹⁰⁹⁾의 보고와 일치한다고 하였다. 하지만 cTnC의 유전자는 골격근의 troponin C 유전자와 동일한 염색체 위치인 3p21.3-p14.3에 있어서 동일한 amino acid 서열을 가지므로⁴⁷⁾ 심근 특이적이 아니며 골격근에서 유래된 troponin C와의 차이를 알 수 없다고 하였다. 따라서 cTnC는 체액에서 보다는 조직 특이성이 문제가 되지 않는 심근 조직에서 면역조직화학적 방법으로 분석해야 할 것으로 생각된다.

2-9 H-FABP

Meng 등¹¹⁰⁾은 실험쥐의 급성 심근경색 모델에서 심근경색 직후 15분 후에 혈중 H-FABP 농도는 정상 쥐 혈중 농도의 4배이었고, 허혈의 시간이 진행됨에 따라 증가하면서 허혈 4시간째에 최고의 농도를 보이고 그 이후에는 감소한다고 하였다. 이는 심근경색 후 myoglobin이 가장 먼저 혈액에서 검출된다는 보고¹⁶⁻¹⁸⁾보다 빠르게 증가한 것이며, 그 이유는 아마도 심혈

쥐의 기초대사 속도와 관련이 있을 것으로 생각해 볼 수 있다. Meng 등¹¹⁰⁾은 이러한 동물 모델과 함께 H-FABP 농도를 측정 한 22 부검 예에서도 혈중 H-FABP 농도는 사후 경과시간에 따라 약간 감소하는 경향이었지만 사후 48시간까지는 의미 있게 높은 농도를 보였다. 급성 심근경색 실험 모델의 심근세포에서 H-FABP의 면역조직화학적 발현은 심근경색 15분 후부터 감소하였으며, 허혈 시간이 진행될수록 H-FABP 발현도 더욱 감소하였다. 심근경색이 분명한 부검 예의 심근경색 부위에서는 H-FABP 발현이 소실되었고, 급성 심근경색이 추정되는 부검 예의 심근 조직에서도 H&E 염색에서는 심근경색에 해당되는 조직학적 변화가 관찰되지 않았지만, 면역조직화학적 염색에서는 H-FABP 발현이 소실되는 부위가 관찰되었다. 따라서 H-FABP는 급성 심근경색에서 심근의 초기 손상을 알 수 있는 표지자라고 할 수 있으며, 사후 자가용해에 의한 영향을 받지 않는다고 하였다. 이러한 결과로 볼 때 H-FABP는 심근경색 초기의 진단에 유용할 것으로 판단되며, H-FABP에 대한 임상의학적인 연구보고는 많지만 사후 응용에 대한 연구보고는 매우 미흡하므로 추후 사후 생화학적 및 면역조직화학적 연구의 가치가 크다고 생각된다.

2-10 ANP, BNP

Michaud 등¹¹¹⁾은 대조군 40예와 관상동맥 경화에 의한 급성 또는 만성 허혈성 심질환으로 사망한 총 96예의 심낭액, 대퇴 정맥의 혈액, 안방수에서 NT-proBNP 농도를 측정하여 만성 허혈성 심질환으로 사망한 예의 심낭액, 대퇴 정맥의 혈액 및 혈청에서 NT-proBNP가 증가하였으며, 급성 허혈성 심질환에서는 의미가 없는 결과를 보였지만 만성 허혈성 심질환을 평가하는데 의의가 있다고 하였다. Sabatasso 등¹¹²⁾은 168예를 대상으로 하여 NT-proBNP의 혈액 농도를 측정하여 50.7%의 민감도와 72.6%의 특이성이 있었으며, 안방수에서의 NT-proBNP 농도도 혈액에서의 농도와 비례한다고 하였다.

Zhu 등¹¹³⁾은 263예의 심낭액에서 ANP, BNP cTnI를 측정하여 ANP 및 BNP의 농도와 cTnI의 농도 사이에는 관련성이 없었으나, 익사의 경우 ANP는 매우 높게 측정되었지만 BNP는 약간 높게 측정되었다고 보고하였고, 이는 익사 과정에서 이루어지는 전해질 불균형에 의한 심부전, 물이 폐에 흡입됨으로써 폐고혈압과 함께 심방이 팽팽해지면서 나타나는 급성 심방 부담(acute atrial overload)에 의한 심부전, 또는 순환 혈액량의 증가로 나타나는 심방의 부담에 의한 심부전 등 심장의 preload가 증가된 결과라고 해석하였다.

NT-proANP와 NT-proBNP에 대한 임상의학적인 연구보고는 많지만, 사후 응용에 대한 연구보고는 매우 미흡하므로 추후 법의학적인 연구의 가치가 크다고 생각된다.

2-11 Myosin

Osuna 등¹¹⁴⁾은 100예의 심낭액과 혈청에서 myoglobin,

myosin heavy chain, CK-MB 농도와 활성도 비율은 다양하였지만 특히 myosin의 농도 비율은 심근 괴사의 범위를 알 수 있는 표지자라고 하였다. Pérez-Cárceles 등¹¹⁵⁾도 myosin은 심근세포의 주요 구성 성분이므로 심근세포 손상의 표지자가 될 것으로 기대하여 105예의 심장 혈액과 심낭액에서 myosin heavy chain 농도를 측정하였으며, 심근경색의 조직학적 소견이 있는 경우 myosin heavy chain의 농도가 높다는 것을 확인하였고, myosin heavy chain의 심낭액/혈청 농도 비율 평균은 심근 손상이 있는 예와 심근 손상이 없는 예에서 의미있게 차이가 있다고 하였다. Pérez-Cárceles 등¹¹⁶⁾은 심근경색의 중등도에 따라 7개의 군으로 분류한 후 혈청, 심낭액, 안방수에서 CK, CK-MB, LDH의 활성도와 myosin의 농도를 측정하여 심낭액에서만 급성 심근경색의 중등도에 따른 차이를 보인다고 하였고, 특히 심근경색의 조직학적 변화가 분명하게 관찰된 경우에 매우 높게 관찰된다고 하였다.

3. 심폐소생술, 사전기, 자가용해에 의한 간섭현상

사후 생화학 물질 분석에서 가장 문제가 되는 것이 자가용해 등 사후 변화, 심폐소생술에 의한 심근의 손상, 사전기 직전의 심실 부정맥이나 심실 세동 등에 의한 생화학 물질의 변화에 의한 간섭현상이라고 할 수 있다.^{95, 96)}

Myoglobin은 허혈성 손상을 받은 부위로부터 신속하게 배출되기 때문에 혈청에서는 흉통 직후 처음 2시간 내에 증가하며 6시간 내지 9시간에 최고치를 이루고,^{17, 18)} cTnI는 심근경색으로 인한 흉통 증상 발생 후 6시간 이내에 측정가능하고 12시간째에 최고치를 보이며, 144시간 까지도 고농도 상태로 남아있다고 한다.^{45, 46)} Myoglobin 방출은 심근경색으로 인한 흉통 증상 발생 후 2시간 정도부터이며 CK-MB 방출 시기보다는 빠르지만 전체적으로는 CK-MB와 myoglobin의 방출은 유사한 양상을 보인다. Myosin heavy chain 단편은 급성 심근경색 2일째부터 방출되어 8-10일까지 고농도로 관찰된다.⁷⁸⁾ 이처럼 심장 표지자들은 손상 직후 순환 혈액 내로 방출되는 것이 아니고, 세포 손상 후 심장 표지자들마다 서로 다른 일정한 시간이 경과되어야 한다. 그런데, 심폐소생술을 시행한 시간이 짧다면 사후 생화학적 분석에서 심폐소생술에 의한 간섭현상은 무시해도 될 듯하다. 보다 자세히 설명하면, 심폐소생술의 결과로 심근 손상이 발생되었다고 하여도 심장 표지자가 순환 혈액 내로 방출될 시간이 필요하며, myoglobin은 그 소요 시간이 2시간이고 cTnI는 6시간이 소요된다는 것이다. 또한 심폐소생술을 시행받는 환자는 심근 손상이 주어지겠지만 혈압 맥박 등 활력징후가 약해진 사망 직전의 상태이므로 심근 손상에 의한 심장 표지자의 방출은 거의 없을 것으로 생각된다. 이러한 설명의 논리는 골격근을 대상으로 한 면역조직화학적 염색에서 사망 후 72시간이 경과하여도 actin, myosin, desmin and myoglobin의 발현 감소가 진행되지 않았다고 한 보고¹¹⁷⁾와도 일치한다고 할 수 있

다. 그 외에도 심폐소생술이 사후 심장 표지자의 농도에 큰 영향을 주지 않는다는 보고들이 있다.^{89, 91, 93, 94)} 그러나 myoglobin 처럼 심근경색 발생 후 비교적 빨리 순환 혈액 내로 방출되는 심장 표지자들에 대해서는 사후 생화학적 분석에서 심폐소생술의 시간을 고려해야 할 것으로 생각된다.

사후 채액에서 생화학 물질의 증가는 자가용해 후 인접 혈관의 혈액으로 확산(diffusion)되는 효과에 의한 것이라고 설명할 수 있는데, 정상인의 혈액에서 관찰되지 않는 cTnT가 119 부검 예 거의 모두에서 증가하였고 대퇴 정맥 혈액에서보다 심장 혈액에서 더 높은 농도를 보였는데, 그 이유는 심근이 자가용해되어 cTnT가 방출되는 것으로 해석하였다.⁹⁵⁾ 따라서 사후 검체에서 심장 표지자를 분석할 때에는 검체 수집 부위에 따라 자가용해에 의한 간섭현상의 정도가 다를 것으로 생각된다. 또한 사후 자가용해에 의한 생화학 물질의 확산 정도를 분석할 수 있으므로 심인성 급사의 원인 질환이나 심장의 상태에 대한 진단은 어렵겠지만 비심인성 사망인 경우에 사후경과시간을 추정할 수 있다는 논리도 가능해진다.

또한 생체에서 심근 손상 후 pro-BNP형태로 방출되어 NT-proBNP나 BNP로 분할되는 심장 표지자의 경우에는 proBNP는 자가용해에 의해 영향을 받을 수 있겠지만 NT-proBNP나 BNP는 자가용해에 의해 생성되지 않을 것이므로 사후 생화학적 분석에 용이할 것으로 생각된다.

4. 사후 채액에서 심장 표지자 분석의 제한점

임상의학 분야에서 사용되고 있는 심장 표지자들은 생체에서 채취한 검체를 기준으로 한 것인데, 사후 검체는 자가용해, 용혈, 미생물의 영향, 기타 많은 인자들에 의해 영향을 받을 수 있으므로 사후 검체에서 사용하는 것은 무리라는 보고가 있다.^{95, 96, 105)}

Hemoglobin은 troponin을 생화학적으로 분석하는 데 방해인자¹¹⁸⁾라고 하였는데, 사후에는 대사가 중단, 자가용해, 미생물에 의한 분해 등이 진행되며, 혈액 내 적혈구도 파괴되어 hemoglobin이 유리되는 일반적인 사후 변화를 참고하면, 부검시 채혈한 혈액에서 troponin 검사는 신뢰도에 문제가 있을 것으로 생각된다. 또한 cTnI는 산화, 환원, 인산화의 형태로도 분석되며^{119, 120)} cTnI 항체를 이용한 면역분석에서 나오는 signal은 cTnI 항체에 의해 인지되는 항원결정인자에 의해 결정된다.¹²¹⁾ 그래서 cTnI가 산화, 환원, 인산화, 단백분해 효소에 의한 변성이나 사후 변성으로 면역 반응력이 다양하게 나타나거나 소실되기도 하므로 분석 결과에 영향을 줄 수 있다.¹²²⁾ 또한 cTnI는 자가 항체, 이중 친화성 항체(heterophilic antibody), 류마티스양 인자(rheumatoid factor) 등에 의해 위양성과 위음성의 결과를 보일 수 있다.¹²³⁻¹²⁵⁾

그러나 사망의 경과를 비롯한 죽음에 관련된 정보를 보다 세밀하게 수집하여 적용하고, 새로운 실험적 분석 방법의 도입하

며, 임상의학이 오랜 기간 동안 서서히 발전하여왔던 것처럼 지속적인 사후 생화학적 연구를 통해서 사후 검체에 대한 기준치를 마련한다면 심장 표지자들에 대한 사후 응용이 가능할 것으로 생각된다.

5. 심근 조직에서 심장 표지자

부검에서 조직학적 변화가 불분명한 초기의 심근경색 진단을 위해서 Hansen과 Rossen¹²⁶⁾은 46예의 심근 조직에서 면역조직화학적 방법으로 심근 단백질인 cTnI의 발현을 관찰하였는데, 분명한 심근경색이 있는 14예 모두에서는 뚜렷한 경계를 보이면서 cTnI 발현이 소실된 부분이 관찰되었고, 심근경색이 추정되는 24예 중 23예에서는 심근경색이 분명한 14예에서처럼 뚜렷한 경계를 보이면서 cTnI 발현이 소실된 부분이 관찰되었으며, 심인성 사망이 아닌 8예에서는 cTnI의 발현 감소가 관찰되지 않았으므로 cTnI 발현은 초기의 심근경색 진단에 민감도가 높은 검사라고 하였다. 또한 Martínez Díaz 등¹²⁷⁾은 50예의 혈액 및 심낭액에서 cTnI, myoglobin, CK-MB 농도를 측정하였고, 심근조직에서는 cTnC와 cTnT에 대한 면역조직화학적 염색을 하였는데, 심근경색으로 사망한 예의 심낭액에서는 심장 표지자의 농도가 의미있게 증가하였고, cTnC는 심근경색으로 사망한 예의 86% 심근 조직에서 미만성의 강한 양성 반응을 보인 반면 cTnT는 증례의 46%의 양성율을 보이므로 cTnC와 cTnT의 면역조직화학적 발현 정도는 심근 손상을 판단할 수 있는 지표라고 하였다.

Ortmann 등¹²⁸⁾은 급성 심근경색의 초기 변화를 면역조직화학적으로 진단하고자 할 때에는 myoglobin, H-FABP, cardiac troponin 등이 진단적 가치가 있으며, 특히 myoglobin의 진단적 가치가 더 크다고 하였다. 면역조직화학적 염색에서 myoglobin은 체액에서와는 달리 심근과 골격근을 구분할 필요가 없으므로 심근 손상 후 가장 빠르게 변화되는 단백질이므로 급성 심근경색의 초기 변화를 면역조직화학적으로 진단하는데 특이성이 높을 것으로 생각된다. 또한 Campobasso 등¹²⁹⁾은 심인성 급사 18예의 심근 조직에서 myoglobin, cardiac troponin, fibronectin, C5b-9 등 4가지 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 하였으며, 여러 개의 항체를 염색하면 일반적인 조직 검사에서 관찰되지 않았던 심근의 허혈성 변화와 괴사를 관찰할 수 있다고 하였다.

Fechner 등¹⁷⁾은 골격근 손상 직후부터 면역조직화학적으로 근육 단백질인 actin, myosin, desmin and myoglobin의 발현 감소가 있었으며, 특히 myoglobin의 발현 감소가 먼저 시작되었다. 그러나 사망 후의 근육 손상에서는 사후 72시간 까지도 actin, myosin, desmin, myoglobin의 발현 감소가 진행되지 않았다고 하였으며, 이러한 소견은 근육의 생활반응 측면에서 광학현미경적 소견과 함께 중요한 현상이라고 추정된다.

Hu 등¹³⁰⁾은 fibronectin은 심근경색이 분명하게 있는 5예의

심근세포에서 염색되었으며, 초기 심근경색이 추정되는 18예 중 15예의 심근세포에서 염색되었고, 심인성 사망이 아닌 대조군 11예의 심근세포에서는 염색되지 않았다고 하면서 fibronectin에 대한 면역조직화학적 분석은 급성 심근경색을 진단에 민감도가 높으며 사후 변화에도 영향을 받지 않을 것이라고 하였다. Hu 등¹³¹⁾은 또한 심근경색과 심근염에 의한 심근 손상이 있는 경우에는 심근세포가 fibronectin에 양성 반응을 보였으며, 기타 질식사, 감전사, 출혈성 속, 심좌상, 유기인제제 중독사 등의 심근세포에서는 양성 반응이 없으므로 fibronectin은 사후 조직에서 진단적 가치가 크다고 하였다.

심근세포 손상 후 순환혈액 내로 방출되는데 필요한 시간^{17, 18, 45, 46, 78)}을 고려하고, 또한 체액에서는 myoglobin처럼 심장 표지자의 조직 특이성 여부가 중요한 점 등을 고려한다면 면역조직화학적 방법으로 심장 표지자들의 발현 여부를 분석하는 것이 혈액이나 기타 체액에서 심장 표지자를 측정하는 것보다 진단적 가치가 더 높다고 생각된다.

결 론

임상의학이나 기초의학 분야는 오래 전부터 수많은 연구 결과들이 축적되어 오늘에 이르렀으며, 아직도 해결되지 못한 부분이 많다. 그간에 법의학 분야는 법의병리학적 진단이라는 특수성 때문에 형태학적 진단에 관련된 연구들이 주를 이루었으나, 임상의학의 발전 속도에 맞추어 기능적 진단에 관련된 연구에도 집중할 필요가 있다고 생각된다. 여기에서 언급된 심장 표지자는 대부분 임상의학에서 심장의 질병 상태를 판단하기 위해 사용되고 있는 생화학 물질들이며, 사후 체액에서 심장 표지자들에 대한 정보는 아직도 논란이 많은 것은 분명하다. 그러나 사망의 경과를 비롯한 죽음에 관련된 정보를 보다 세밀하게 수집하여 적용하고, 새로운 실험적 분석 방법의 도입하며, 임상의학이 오랜 기간 동안 서서히 발전하여왔던 것처럼 지속적인 사후 생화학적 연구 결과의 축적을 통해서 사후 검체에 대한 기준치를 마련한다면 심장 표지자들에 대한 사후 응용이 가능할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Luna A. Is postmortem biochemistry really useful? Why is it not widely used in forensic pathology? *Leg Med (Tokyo)* 2009;11:S27-30.
2. Madea B. Is there recent progress in the estimation of the postmortem interval by means of thanatochemistry? *Forensic Sci Int* 2005;151:139-49.
3. Maeda H. Pathophysiochemistry of acute death: an approach to evidence based assessment in forensic pathology. *Nihon Hoigaku Zasshi* 2004;58:121-9.
4. Maeda H, Zhu BL, Ishikawa T, Quan L, Michiue T. Significance of postmortem biochemistry in determining

- the cause of death. *Leg Med (Tokyo)* 2009;11:S46-9.
5. Maeda H, Zhu BL, Ishikawa T, Michiue T. Forensic molecular pathology of violent deaths. *Forensic Sci Int* 2010;203:83-92.
6. Knight B. Forensic pathology. 4th ed. London: Edward Arnold; 1991. p. 444-72.
7. Zhu BL, Ishikawa T, Michiue T, et al. Postmortem cardiac troponin T levels in the blood and pericardial fluid. Part 1: Analysis with special regard to traumatic causes of death. *Leg Med (Tokyo)* 2006;8:86-93.
8. Davies MJ. The investigation of sudden cardiac death. *Histopathology* 1999;34:93-8.
9. Schaper J, Froede R, Hein St, et al. Impairment of the myocardial ultrastructure and changes of the cytoskeleton in dilated cardiomyopathy. *Circulation* 1991;83:504-14.
10. Missov E, Calzolari C, Pau B. Circulating cardiac troponin I in severe congestive heart failure. *Circulation* 1997;96:2953-8.
11. Setsuta K, Seino Y, Takahashi N, et al. Clinical significance of elevated levels of cardiac troponin T in patients with chronic heart failure. *Am J Cardiol* 1999;84:608-11.
12. Del Carlo CH, O'onnor CM. Cardiac troponins in congestive heart failure. *Am Heart J* 1999;138:646-53.
13. Ishino M, Takeishi Y, Niizeki T, et al. Risk Stratification of Chronic Heart Failure Patients by Multiple Biomarkers - Implications of BNP, H-FABP, and PTX3- *Circ J* 2008;72:1800-5.
14. World Health Organization. Arterial hypertension and ischemic heart disease. WHO Tech Report 1962;231:18.
15. Kagen L, Scheidt S, Roberts L, Porter A, Paul H. Myoglobinemia following acute myocardial infarction. *Am J Med* 1975;58:177-82.
16. Christenson RH, Azzazy HM. Biochemical markers of the acute coronary syndromes. *Clin Chem* 1998;44:1855-64.
17. Kilpatrick WS, Wosornu D, McGuinness JB, Glen ACA. Early diagnosis of acute myocardial infarction: CK-MB and myoglobin compared. *Ann Clin Biochem* 1993;30:435-8.
18. Bhayana V, Cohoe S, Pellar TG, Jablonsky G, Henderson AR. Combination (multiple) testing for myocardial infarction using myoglobin, creatine kinase-2 (mass), and troponin T. *Clin Biochem* 1994;27:395-406.
19. Plebani M, Zaninotto M. Diagnostic strategies using myoglobin measurement in myocardial infarction. *Clin Chim Acta* 1998;272:69-77.
20. Wallimann T, Wyss M, Brdiczka D, Nicolay K, Eppenberger HM. Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. *Biochem J* 1992;281:21-40.
21. Wyss M, Kaddurah-Daouk R. Creatine and creatinine metabolism. *Physiol Rev* 2000;80:1107-213.
22. Eppenberger HM, Dawson DM, Kaplan NO. The comparative enzymology of creatine kinases. I. Isolation and characterization from chicken and rabbit tissues. *J Biol Chem*

- 1967;242:204-9.
23. Perriard JC, Caravatti M, Perriard ER, Eppenberger HM. Quantitation of creatine kinase isoenzyme transition in differentiating chicken embryonic breast muscle and myogenic cell cultures by immunoadsorption. *Arch Biochem Biophys* 1978;191:90-100.
24. Caravatti M, Perriard JC, Eppenberger HM. Developmental regulation of creatine kinase isoenzymes in myogenic cell cultures from chicken. Biosynthesis of creatine kinase subunits M and B. *J Biol Chem* 1979;254:1388-94.
25. Trask RV, Strauss AW, Billadello JJ. Developmental regulation and tissue-specific expression of the human muscle creatine kinase gene. *J Biol Chem* 1988;263:17142-9.
26. Lott JA, Nemesansky E. Creatine kinase. New York: Yearbook Press; 1966, p. 166-82.
27. Klein LW, Kierner BL, Howard E, et al. Incidence and clinical significance of transient creatine kinase elevations and the diagnosis of non-Q wave myocardial infarction associated with coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol* 1991;17:621-6.
28. Ravkilde J, Nisse H, Mickley H, et al. Cardiac Troponin T and CKMB mass release after visually successful percutaneous transluminal coronary angioplasty in stable angina pectoris. *Am Heart J* 1994;127:13-20.
29. Kuglemass AD, Cohen DJ, Muscucci M, et al. Elevation of creatine kinase myocardial isoform following otherwise successful directional coronary atherectomy and stenting. *Am J Cardiol* 1994;74:784-94.
30. Abdelmeguid AE, Topol EJ. The myth of the myocardial 'infarctlet' during percutaneous coronary revascularisation procedure. *Circulation* 1996;94:3369-75.
31. Baum H, Braun S, Gerhardt W, et al. Multicenter evaluation of a second generation assay for cardiac troponin T. *Clin Chem* 1997;43:1877-84.
32. Sato Y, Taniguchi R, Makiyama T, et al. Measurements of serum cardiac troponin T and plasma brain natriuretic peptide in patients with severe cardiac decompensation. *Heart* 2002;88:647-8.
33. Katus HA, Remppis A, Neumann FJ, et al. Diagnostic efficiency of troponin T measurements in acute myocardial infarction. *Circulation* 1991;83:902-12.
34. Ohman EM, Armstrong PW, Christenson RH, et al. Cardiac troponin T levels for risk stratification in acute myocardial ischemia. *New Engl J Med* 1996;335:1333-41.
35. Bleirer J, Vorderwinkler KP, Falkensammer J, et al. Different intracellular compartments of cardiac troponins and myosin heavy chains: a causal connection to their different early release after myocardial damage. *Clin Chem* 1998;44:1912-8.
36. Mair J, Genser N, Morandell D, et al. Cardiac troponin I in the diagnosis of myocardial injury and infarction. *Clin Chem Acta* 1996;245:19-38.
37. Bodor GS, Porterfield D, Voss EM, Smith S, Apple FS. Cardiac troponin-I is not expressed in fetal and healthy or diseased adult human skeletal muscle tissue. *Clin Chem* 1995;41:1710-5.
38. Davies E, Gawad Y, Takahashi M, et al. Analytical performance and clinical utility of a sensitive immunoassay for determination of human cardiac troponin I. *Clin Biochem* 1997;30:479-90.
39. Pagani F, Bonetti G, Panteghini M. Comparative study of cardiac troponin I and T measurements in a routine extra-cardiological clinical setting. *J Clin Lab Anal* 2001;15:210-4.
40. Sato Y, Kita T, Takatsu Y, Kimura T. Biochemical markers of myocyte injury in heart failure. *Heart* 2004;90:1110-3.
41. Adams JE, Bodor GS, Devile-Roman VG, et al. Cardiac Troponin I: a marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation* 1993;88:101-6.
42. Missov E, Calzolari C, Davy JM, Leclercq F, Rossi M, Pau B. Cardiac troponin I in patients with hematologic malignancies. *Coron Artery Dis* 1997;8:537-41.
43. Cardinale D, Sandri MT, Martinoni A, et al. Left ventricular dysfunction predicted by early troponin I release after high-dose chemotherapy. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:517-22.
44. Schulz O, Kromer A. Cardiac troponin I: a potential marker of exercise intolerance in patients with moderate heart failure. *Am Heart J* 2002;144:351-8.
45. Bodor GS, Porter S, Landt Y, Ladenson JH. Development of monoclonal antibodies for an assay of cardiac troponin-I and preliminary results in suspected cases of myocardial infarction. *Clin Chem* 1992;38:2203-14.
46. Larue C, Calzolari C, Bertinchant JP, Leclercq F, Grolleau R, Pau B. Cardiac-specific immunoenzymometric assay of troponin I in the early phase of acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1993;39:972-9.
47. Kobayashi T, Takagi T, Konishi K. Amino acid sequence of porcine cardiac muscle troponin C. *J Biochem* 1989;106:55-9.
48. Conway RS, Natelson BH, Chen WH, et al. Enhanced coronary vasoconstriction in the Syrian myopathic hamster supports the microvascular spasm hypothesis. *Cardiovasc Res* 1994;28:320-4.
49. Colucci WS. Molecular and cellular mechanisms of myocardial failure. *Am J Cardiol* 1997;80:15L-25L.
50. Ganote C, Armstrong S. Ischemia and the myocyte cytoskeleton: review and speculation. *Cardiovasc Res* 1995;27:1387-403.
51. Bing OH. Hypothesis: apoptosis may be a mechanism for the transition to heart failure with chronic pressure overload. *J Mol Cell Cardiol* 1994;26:943-8.
52. Katz AM. Cell death in the failing heart: role of an unnatural growth response to overload. *Clin Cardiol* 1995;18:36-44.
53. Francis GS, Cohn JN, Johnson G, et al. Plasma norepinephrine, plasma rennin activity, and congestive heart failure: relations to survival and the effects of therapy in V-HeFT II. The V-HeFT VA cooperative studies group.

Circulation 1993;87:VI40-8.

54. Schrier RW, Abraham WT. Mechanisms of disease: hormones and hemodynamics in heart failure. *N Engl J Med* 1999;341:577-85.
55. Tsutamoto T, Wada A, Maeda K, et al. Attenuation of compensation of endogenous cardiac natriuretic peptide system in chronic heart failure: Prognostic role of plasma brain natriuretic peptide concentration in patients with chronic symptomatic left ventricular dysfunction. *Circulation* 1997;96:509-16.
56. Grantham JA, Borgeson DD, Burnett JC Jr.. BNP: pathophysiological and potential therapeutic roles in acute congestive heart failure. *Am J Physiol* 1997;272:R1077-83.
57. Wei CM, Heublein DM, Perrella MA, et al. Natriuretic peptide system in human heart failure. *Circulation* 1993;88:1004-9.
58. Mukoyama M, Nakao K, Hosoda K, et al. Brain natriuretic peptide as a novel cardiac hormone in humans-evidence for an exquisite dual natriuretic peptide system, atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide. *J Clin Invest* 1991;87:1402-12.
59. Vanderheyden M, Bartunek J, Goethals M. Brain and other natriuretic peptides: molecular aspects. *Eur J Heart Fail* 2004;6:261-8.
60. Pemberton CJ, Johnson ML, Yandle TG, Espiner EA. Deconvolution analysis of cardiac natriuretic peptides during acute volume overload. *Hypertension* 2000;36:355-9.
61. Mueller T, Gegenhuber A, Poelz W, Haltmayer M. Head to head comparison of the diagnostic utility of BNP and NTproBNP in symptomatic and asymptomatic structural heart disease. *Clin Chim Acta* 2004;341:41-8.
62. Emdin M, Passino C, Prontera C, et al. Comparison of Brain Natriuretic Peptide (BNP) and Amino-Terminal ProBNP for Early Diagnosis of Heart Failure. *Clin Chem* 2007;53:289-97.
63. Takahashi T, Allen PD, Izumo S. Expression of A-, B- and C-type natriuretic peptide genes in failing and developing human ventricles-correlation with expression of the Ca²⁺-ATPase gene. *Circ Res* 1992;71:9-17.
64. Ala-Kopsala M, Ruskoaho H, Leppäluoto J, et al. Single assay for amino-terminal fragments of cardiac A- and B-type natriuretic peptides. *Clin Chem* 2005;51:708-18.
65. Schaap FG, van der Vusse GJ, Glatz JF. Fatty acid-binding proteins in the heart. *Mol Cell Biochem* 1998;180:43-51.
66. Glatz JF, van der Vusse GJ. Cellular fatty acid-binding proteins: their function and physiological significance. *Prog Lipid Res* 1996;35:243-82.
67. Glatz JF, van Bilsen M, Paulussen RJ, Veerkamp J, van der Vusse GJ, Reneman RS. Release of fatty acid-binding protein from isolated rat heart subjected to ischemia and reperfusion or to the calcium paradox. *Biochim Biophys Acta* 1988;961:148-52.
68. Kleine AH, Glatz JF, Van Nieuwenhoven FA, van der Vusse GJ. Release of heart fatty acid-binding protein into plasma after acute myocardial infarction in man. *Mol Cell Biochem* 1992;116:155-62.
69. Haastrup B, Gill S, Kristensen SR, et al. Biochemical markers of ischemia for the early identification of acute myocardial infarction without ST segment elevation. *Cardiology* 2000;94:254-61.
70. Tambara K, Fujita M, Miyamoto S, Doi K, Nishimura K, Komeda M. Pericardial fluid level of heart-type cytoplasmic fatty acid-binding protein (H-FABP) is an indicator of severe myocardial ischemia. *Int J Cardiol* 2004;93:281-4.
71. Setsuta K, Seino Y, Ogawa T, Arao M, Miyatake Y. Use of cytosolic and myofibril markers in the detection of ongoing myocardial damage in patients with chronic heart failure. *Am J Med* 2002;113:717-22.
72. Arimoto T, Takeishi Y, Shiga R, et al. Prognostic value of elevated circulating heart-type fatty acid binding protein in patients with congestive heart failure. *J Card Fail* 2005;11:56-60.
73. Van Nieuwenhoven FA, Kleine AH, Wodzig WH, et al. Discrimination between myocardial and skeletal muscle injury by assessment of the plasma ratio of myoglobin over fatty acid-binding protein. *Circulation* 1995;92:2848-54.
74. Sorichter S, Mair J, Koller A, Pelsers MM, Puschendorf B, Glatz JF. Early assessment of exercise induced skeletal muscle injury using plasma fatty acid binding protein. *Br J Sports Med* 1998;32:121-4.
75. Niizeki T, Takeishi Y, Arimoto T, et al. Heart-type fatty acid-binding protein is more sensitive than troponin T to detect the ongoing myocardial damage in chronic heart failure patients. *J Card Fail* 2007;13:120-7.
76. Goto T, Takase H, Toriyama T, et al. Circulating concentrations of cardiac proteins indicate the severity of congestive heart failure. *Heart* 2003;89:1303-7.
77. Hansen MS, Stanton EB, Gawad Y, et al. Relation of circulating cardiac myosin light chain 1 isoform in stable severe congestive heart failure to survival and treatment with flosequinan. *Am J Cardiol* 2002;90:969-73.
78. Leger JOC, Larue C, Ming T, et al. Assay of serum cardiac myosin heavy chain fragments in patients with acute myocardial infarction: determination of infarct size and long-term follow-up. *Am Heart J* 1990;120:781-90.
79. Plebani M, Zaninotto M. Diagnostic strategies in myocardial infarction using myoglobin measurement. *Eur Heart J* 1998;19:N12-5.
80. Sohmiya K, Tanaka T, Tsuji R, et al. Plasma and urinary heart-type cytoplasmic fatty acid-binding protein in coronary occlusion and reperfusion induced myocardial injury model. *J Mol Cell Cardiol* 1993;25:1413-6.
81. Nageh T, Sherwood RA, Harris BM, Byrne JA, Thomas MR. Cardiac troponin T and I and creatine kinase-MB as markers of myocardial injury and predictors of outcome following percutaneous coronary intervention. *Intl J Cardiology* 2003;92:285-93.
82. Püschel K, Lockemann U, Bartel J. Postmortem investigation of serum myoglobin levels with special reference to electrical fatalities. *Forensic Sci Int* 1995;72:171-7.

83. Fieguth A, Schumann G, Tröger HD, Kleemann WJ. The effect of lethal electrical shock on postmortem serum myoglobin concentrations. *Forensic Sci Int* 1999;105:75-82.
84. Zhu BL, Ishida K, Quan L, et al. Postmortem urinary myoglobin levels with reference to the cause of death. *Forensic Sci Int* 2001;115:183-8.
85. Burns J, Milroy CM, Hulciewicz B, West CR, Walkley SM, Roberts NB. Necropsy study of association between sudden death and cardiac enzymes. *J Clin Pathol* 1992;45:217-20.
86. Luna A, Villanueva E, Castellano M, Jiménez G. The determination of CK, LDH and its isoenzymes in pericardial fluid and its application to the post-mortem diagnosis of myocardial infarction. *Forensic Sci Int* 1982;19:85-91.
87. Luna A, Carmona A, Villanueva E. The postmortem determination of CK isozymes in the pericardial fluid in various causes of death. *Forensic Sci Int*. 1983;22:23-30.
88. Osuna E, Perez-Carceles MD, Alvarez MV, Noguera J, Luna A. Cardiac troponin I (cTn I) and the postmortem diagnosis of myocardial infarction. *Int J Legal Med* 1998;111:173-6.
89. Cina SJ, Thompson WC, Fischer JC Jr., Brown DK, Titus JM, Smialek JE. A study of various morphologic variables and troponin I in pericardial fluid as possible discriminators of sudden cardiac death. *Am J Forensic Med Pathol* 1999;20:333-7.
90. Ellingsen CL, Hetland O. Serum concentrations of cardiac troponin T in sudden death. *Am J Forensic Med Pathol* 2004;25:213-5.
91. Khalifa AB, Najjar M, Addad F, Turki E, Mghirbi T. Cardiac troponin T (cTn T) and the postmortem diagnosis of sudden death. *Am J Forensic Med Pathol* 2006;27:175-7.
92. Zhu BL, Ishikawa T, Michiue T, et al. Postmortem cardiac troponin T levels in the blood and pericardial fluid. Part 2: analysis for application in the diagnosis of sudden cardiac death with regard to pathology. *Leg Med (Tokyo)* 2006;8:94-101.
93. Cina SJ, Brown DK, Smialek JE, Collins KA. A rapid post-mortem cardiac troponin T assay-laboratory evidence of sudden cardiac death. *Am J Forensic Med Pathol* 2001;22:173-6.
94. Dressler J, Felscher D, Koch R, Muller E. Troponin T in legal medicine. *Lancet* 1998;352:38.
95. Hausdorfer C, Pedal I, Zimmer G, Remppis A, Strobel G. Catecholamines, myofibrillary degeneration of the heart muscle and cardiac troponin T in various types of agony. *Arch Kriminol* 1995;196:46-57.
96. Matoba K, Terazawa K, Watanabe S, Yamada N, Ueda M. Problems in applying a rapid assay kit for cardiac troponin T to medico-legal blood samples. *Hokkaido Igaku Zasshi* 2006;81:359-63.
97. Batalis NI, Marcus BJ, Papadea CN, Collins KA. The role of postmortem cardiac markers in the diagnosis of acute myocardial infarction. *J Forensic Sci* 2010;55:1088-91.
98. Cina SJ, Li DJ, Chan DW, Boitnott JK, Hruban RH, Smialek JE. Serum concentrations of cardiac troponin I in sudden death- pilot study. *Am J Forensic Med Pathol* 1998;19:324-8.
99. Zhu BL, Ishikawa T, Michiue T, et al. Postmortem cardiac troponin I and creatine kinase MB levels in the blood and pericardial fluid as markers of myocardial damage in medicolegal autopsy. *Leg Med (Tokyo)* 2007;9:241-50.
100. Welsh TM, Kukes GD, Sandweiss LM. Differences of Creatine Kinase MB and Cardiac Troponin I Concentrations in Normal and Diseased Human Myocardium. *Ann Clin & Lab Sci* 2002;32:44-9.
101. Pérez-Cárceles MD, Noguera J, Jiménez JL, Martínez P, Luna A, Osuna E. Diagnostic efficacy of biochemical markers in diagnosis post-mortem of ischaemic heart disease. *Forensic Sci Int* 2004;142:1-7.
102. Wang Q, Michiue T, Ishikawa T, Zhu BL, Maeda H. Combined analyses of creatine kinase MB, cardiac troponin I and myoglobin in pericardial and cerebrospinal fluids to investigate myocardial and skeletal muscle injury in medicolegal autopsy cases. *Leg Med (Tokyo)* 2011;13:226-32.
103. Tomášková E, Vorel F. Some possibilities in the diagnosis of early acute ischaemic changes in the heart muscle in sudden death. *Soud Lek* 2010;55:32-5.
104. Ooi DS, Isotalo PA, Veinot JP. Correlation of antemortem serum creatine kinase, creatine kinase-MB, troponin I, and troponin T with cardiac pathology. *Clin Chem* 2000;46:338-44.
105. Davies SJ, Gaze DC, Collinson PO. Investigation of cardiac troponins in postmortem subjects: comparing antemortem and postmortem levels. *Am J Forensic Med Pathol* 2005;26:213-5.
106. Peter J, Kirchner A, Kuhlisch E, Menschikowski M, Neef B, Dressler J. The relevance of the detection of troponins to the forensic diagnosis of cardiac contusion. *Forensic Sci Int* 2006;160:127-33.
107. Gaze DC, Davies SJ, Collinson PO. Cardiac troponin for the forensic diagnosis of cardiac contusion. *Forensic Sci Int* 2007;169:276.
108. Adams JE, Davila-Roman V, Bessey P. Improved detection of cardiac contusion with troponin I. *Am Heart J* 1996;131:308-12.
109. Obnibene A, Mori F, Santoni R. Cardiac troponin I in myocardial contusion. *Clin Chem* 1998;44:889-90.
110. Meng X, Ming M, Wang E. Heart fatty acid binding protein as a marker for postmortem detection of early myocardial damage. *Forensic Sci Int* 2006;160:11-6.
111. Michaud K, Augsburg M, Donzé N, et al. Evaluation of postmortem measurement of NT-proBNP as a marker for cardiac function. *Int J Legal Med* 2008;122:415-20.
112. Sabatasso S, Vaucher P, Augsburg M, Donzé N, Mangin P, Michaud K. Sensitivity and specificity of NT-proBNP to detect heart failure at post mortem examination. *Int J*

- Legal Med 2011;125:849-56.
113. Zhu BL, Ishikawa T, Michiue T, et al. Postmortem pericardial natriuretic peptides as markers of cardiac function in medico-legal autopsies. *Int J Legal Med* 2007;121:28-35.
 114. Osuna E, Pérez-Cárceles MD, Vieira DN, Luna A. Distribution of biochemical markers in biologic fluids: application to the postmortem diagnosis of myocardial infarction. *Am J Forensic Med Pathol* 1998;19:123-8.
 115. Pérez-Cárceles MD, Osuna E, Vieira DN, Luna A. Usefulness of myosin in the postmortem diagnosis of myocardial damage. *Int J Legal Med* 1995;108:14-8.
 116. Pérez-Cárceles MD, Osuna E, Vieira DN, Luna A. Biochemical assessment of acute myocardial ischaemia. *J Clin Pathol* 1995;48:124-8.
 117. Fechner G, Hauser R, Sepulchre MA, Brinkmann B. Immunohistochemical investigations to demonstrate vital direct traumatic damage of skeletal muscle. *Int J Legal Med* 1991;104:215-9.
 118. Yucel, Dalva. Effects of in vitro hemolysis on 25 common biochemical tests. *Clin Chem* 1992;38:575-7.
 119. Wu AHB, Feng YJ, Moore R, et al. Characterization of cardiac troponin subunit release into serum after acute myocardial infarction and comparison of assays for troponin T and I. *Clin Chem* 1998;44:1198-208.
 120. Bodor GS, Oakley AE, Allen PD, Crimmins DL, Ladenson JH, Anderson PAW. Troponin I phosphorylation in the normal and failing adult human heart. *Circulation* 1997;96:1495-500.
 121. Larue C, Defacqua-Lacquement H, Calzolari C, Nguyen DL, Pau B. New monoclonal antibodies as probes for human cardiac troponin I: epitopic analysis with synthetic peptides. *Mol Immunol* 1992;29:271-8.
 122. Apple FS. Clinical and analytical standardization issues confronting cardiac troponin I. *Clin Chem* 1999;45:18-20.
 123. Fitzmaurice TF, Brown C, Rifai N, Wu AHB, Yeo KJ. False increase of cardiac troponin I with heterophilic antibodies. *Clin Chem* 1998;44:2212-4.
 124. Bohner J, von Pape K, Hannes W, Stegmann T. False-negative immunoassay results for cardiac troponin I probably due to circulating troponin I autoantibodies. *Clin Chem* 1996;42:2046.
 125. Parry DM, Krahn J, Leroux M, Dalton J. False Positive Analytical Interference of Cardiac Troponin I Assays: An Important Consideration for Method Selection. *Clinical Biochemistry* 1999;32:667-669.
 126. Hansen SH, Rossen K. Evaluation of cardiac troponin I immunoreaction in autopsy hearts: a possible marker of early myocardial infarction. *Forensic Sci Int* 1999;99:189-96.
 127. Martínez Díaz F, Rodríguez-Morlensín M, Pérez-Cárceles MD, Noguera J, Luna A, Osuna E. Biochemical analysis and immunohistochemical determination of cardiac troponin for the postmortem diagnosis of myocardial damage. *Histol Histopathol* 2005;20:475-81.
 128. Ortmann C, Pfeiffer H, Brinkmann B. A comparative study on the immunohistochemical detection of early myocardial damage. *Int J Legal Med* 2000;113:215-20.
 129. Campobasso CP, Dell' Erba AS, Addante A, Zotti F, Marzullo A, Colonna MF. Sudden Cardiac Death and Myocardial Ischemia Indicators - A Comparative Study of Four Immunohistochemical Markers. *Am J Forensic Med Pathol* 2008;29:154-161.
 130. Hu BJ, Chen YC, Zhu JZ. Immunohistochemical study of fibronectin for postmortem diagnosis of early myocardial infarction. *Forensic Sci Int* 1996;78:209-17.
 131. Hu BJ, Chen YC, Zhu JZ. Study on the specificity of fibronectin for post-mortem diagnosis of early myocardial infarction. *Med Sci Law* 2002;42:195-9.