

까치 살모사(*Agkistrodon saxatilis*)의 혈액학적 성상과 위장관 점막세포의 조직화학적 연구

노영복

조선대학교 자연과학대학 생물학과

까치 살모사(*Agkistrodon saxatilis*)의 활동기와 동면기에서 일반적인 혈액성상과 혈액 내 가스함량의 변화 또한 위장관 점막세포에 대한 형태적 및 조직화학적 변화 양상을 규명 비교하고자 한다. 활동기와 동면기에 까치 살모사의 혈액내 총이산화탄소량(TCO_2), 이산화탄소부분압(PCO_2), 산소압(PO_2)과 pH는 활동기보다 동면기에 증가하였으며, 적혈구수, 혈색소, 적혈구 용적 백분율은 활동기보다 동면기에 약간 증가하는 경향이였다. 또한 백혈구수는 활동기보다 동면기에 뚜렷한 감소를 보였다. 활동기와 동면기의 위점막에서는 현저한 차이는 없으나, 소장 점막은 동면기에 그 주름수가 감소하고 높이가 낮아지며 점막세포가 위축되었으며, 위 표면 점막세포는 활동기에 중성 점액질과 약간의 Sialomucin을 포함한 산성 점액질로 구성되었으나, 동면기에는 중성 점액질과 Sialomucin이 약간 감소하였다. 위점액경세포는 활동기에 중성 점액질만을 포함하고 있었으나, 동면기에는 Sialomucin을 포함한 산성 점액질이 소량 검출되었다. 소장 점막세포는 활동기에 산성 점액질과 중성 점액질로 구성되었으며, 산성 점액질에는 Sulfomucin과 Sialomucin이 포함되어 있었으나 동면기에는 Sulfomucin과 Sialomucin이 다소 감소하는 경향이였다. 주사전자현미경 관찰을 통한 까치 살모사의 위장관 표면 상피세포의 미세구조적 변화는 각 동면기 별로 차이를 인정할 수가 있었다. 위장관점막 상피세포는 활동기에 비해 동면기에 상당한 구조적 위축현상을 보이는 경향을 알 수 있다.

KEY WORDS: Hibernation, Blood gas, Blood pictures, Mucous cell, Histochemical examination

동면(hibernation)은 동면동물이 주변환경의 온도 변화에 대해 섬세한 체항산성(homeostasis)을 효율적으로 유지하는 생체 적응현상으로 알려져 있다(Lyman, 1948; Mrosovsky, 1968). 즉 동면현상은 동면동물이 먹이가 부족하거나 체온을 유지하기 어려운 겨울철을 지내는 한 수단으로서 체온의 저하와 함께 수면과 비슷한 혼수상태에 빠지게 되는 현상을 말한다. 또한 동면기간 중에는 동면동물의 체중이 감소하며 심장박동을 및 대사율이 활동기간 보다 현저하게 저하된 생리현상을 갖게 되지만 극히 섬세한 체항산성을 효율적으로 유지하고 있는 것이 특징으로 되어 있다(Lyman, 1951; Lyman and Chatfield, 1955; 오와강, 1979). 동면에 관한 연구로서는 동면상태에서 호르몬의 변화

(Draskoczy and Lyman, 1966), 심장을 및 체온변화(Davis, 1970), 음식물 소비 및 체중 변화(Kulpa et al, 1986), 혈액내 성분 변화(노, 1988), 그리고 온도와 빛의 변화가 동면에 미치는 영향(Vagvogyi and Halpern, 1983) 등 동면현상을 규명하려는 의도에서 동면과정의 여러 분야가 발표되었다. 특히 동면동물에 있어서 주변 온도변화와 혈액성분 변화에 관한 연구 보고는 Person(1950), Lyman(1951, 1957), Svihla 과 Bownman(1952), Lyman 과 Chatfield(1955), Greenwald(1971), Stinner(1982, 1987), 노(1988)등에 의해서 다수가 발표되었다. 이와같이 동면동물에 있어서의 혈액상의 변화는 동면 기전을 밝히는데 대단히 중요한 연구의 한부분이라고 할 수 있다. 그

러나 대개의 연구보고는 실험동물이 포유류에 편재되어 있거나 일반적인 혈액성상의 변화만을 측정하는 등 다양하지 못하며 더군다나 보고자에 따라서 다른 결과를 보고하고 있는 실정이다. 또한 동면과정 중의 소화관내의 조직학적 연구로서는 동면과정 중 다람쥐의 위장관(Mayer and Bernick, 1958), 개구리의 소화관(Geuzé, 1971; 정과 권, 1982), 관박쥐의 십이지장(강등, 1984) 및 집박쥐의 위장관(안과 권, 1974; 오등, 1986)에서 분비되는 점액질에 관한 보고가 발표된 바가 있다. 그러나 동면동물의 소화관내 점액질은 동물의 종과 소화관 부위에 따라 화학적 또는 조직화학적 조성이 다양하다고 보고되고 있으며(Spicer, 1963; Reifel and Travill, 1978; 권 등, 1982), 더구나 점액질은 국소적 자극이나 전신적 영향에 예민한 반응을 나타내고 있기때문에(Florey, 1962) 동면과정 중의 점액질 연구는 앞으로도 더욱 규명해야 할 소지가 많다고 사료된다. 따라서 본 연구는 동면동물의 하나인 파충류에서 까치 살모사(*Agkistrodon saxatilis*)를 실험동물로 선정하여 동면과정에 따른 동면기와 활동기로 나누어서 조사하였다. 즉 기온이 따뜻하고 신진대사가 활발한 활동기와 기온이 낮고 신진대사가 억제되는 동면기에 있어서 일반적인 혈액성상인 적혈구, 혈색소, hematocrit(적혈구용적 백분율)와 백혈구의 함량조사와 함께 혈액내의 가스함량과 총이산화탄소량(TCO₂: total carbon dioxide), 이산화탄소부분압(PCO₂: carbon dioxide partial pressure), 산소압(PO₂: oxygen pressure) 및 pH를 비교 조사하였으며, 한편 동면과정에 따른 위장관 점액세포내 점액질에 대한 조직화학적 성상과 성분을 비교 조사하였다. 또한 주사전자현미경을 이용한 동면과정 중의 위장관 점액세포의 표면구조 변화를 비교 관찰하였다.

이러한 연구는 동면동물의 동면기구를 밝혀내는 연구과정으로서 변온동물인 파충류의 한 종인 까치 살모사의 동면과정에 대한 생물학적 기초자료로서 충분히 응용되리라고 사료되는 바이다. 본 실험은 다년간에 걸쳐 점진적으로 실험을 수행하였으며 혈액학적 및 조직학적으로 약간의 결

과를 얻었기에 발표하고자 한다.

재료 및 방법

실험동물

본 연구의 실험동물은 활동기인 7월부터 8월과 동면기인 12월부터 1월에 전남 무등산 일원의 자연상태에서 채집된 체중 45~50g, 체장 50~55cm 정도의 성숙한 까치 살모사(*Agkistrodon saxatilis*)를 각 시기별로 10마리씩 사용하였다.

혈액학적 조사

실험동물의 채혈방법은 노(1988)등의 방법에 따라 수행하였다. 즉 까치 살모사는 경동맥을 절개하여 채혈하였다. 절개 즉시 혈액내의 정밀한 가스 측정을 하기 위해서 heparin이 처리되어 있는 혈액가스 측정용 주사기(Preza Pack, Tokyo 사 제품)로 혈액 1~2ml를 채혈하였다. 채혈된 혈액은 가능한 신속히 측정하였으며 혈액내 가스함량인 PCO₂, TCO₂, 와 PO₂의 함량은 혈액가스자동분석기(Blood Gas Analyser, AVL, 940, Swiss.)를 사용 측정하였다. 혈액의 일반적 성상인 적혈구와 혈색소 및 적혈구 용적 백분율은 자동혈구계산기(Auto Hematocyte Counter: MINOS STL, France)로 측정하였으며 정확도를 기하기 위해서 정도 관리 표준물질(MBX, MBC 21)을 사용하여 3회 반복 측정하였다. 백혈구의 계산은 Thomas와 Rees-Ecker method에 준해서 측정하였다(서, 1976).

조직화학적 조사

각 시기별로 실험동물인 까치 살모사를 단두도 살하여 위장관 전체를 복강에서 들어낸 뒤 위의 체부와 소장의 중간 부위를 절취하였으며, 절취한 조직편을 10% neutral buffered formalin에 24시간 동안 고정하고, paraffin에 포매하여 두께 4 μ m의 절편을 만들었다. 염색방법으로는 일반적 관찰을 위해 hematoxylin-eosin 염색

법을 실시하였고, 점액질의 성분 조성을 조직화학적으로 관찰하기 위해 Alcian blue pH 2.5 염색법(AB 2.5), Periodic acid-Schiff reaction(PAS), Alcian blue pH 2.5-Periodic acid-Schiff reaction(AB 2.5-PAS), Alcian blue pH 1.0-Periodic acid-Schiff reaction(AB 1.0-PAS), Aldehyde fuchsin pH 1.7 염색법(AF 1.7), Aldehyde fuchsin pH 1.7-Alcian blue pH 2.5 염색법 (AF 1.7-AB 2.5) 등을 실시하였다.

조직학적 관찰방법은 점액질의 색조와 농도를 기준으로 하였으며, 색조는 Munsell color system 판별법(Gove, 1967) 및 Spicer (1963), Spicer와 Sun(1967)등의 방법에 준하여 구분하였다. 단일 염색에서는 농도에 따라서 5등급으로 나누어 표시하였고, 혼합 염색에서는 색조에 따라서 청색으로 염색되는 경우를 B (Blue), 적색으로 염색되는 경우를 R(Red), 자색으로 염색되는 경우를 P(Purple), 청자색으로 염색되는 경우를 BP(Blue-Purple) 등으로 표시하였으며, 그 염색성의 강약에 따라서 0, 1, 2, 3, 4 등급으로 나누었고 음성을 0으로 표시하였다(Spicer and Meyer, 1960; 조 1974; Sheahan and Jervis, 1976; 정과 권, 1981; 권등, 1982; 신과 권, 1985).

주사 전자현미경적 관찰

까치 살모사의 위장관 점액세포의 미세 표면구조를 관찰하고자 동면과정인 각성기(1990. 3. 15), 활동기(1990. 8. 5), 잠입기(1990. 11. 1), 동면기(1991. 1. 20)에 자연 상태에서 채집된 실험동물을 사용하였다. 주사전자현미경 시료 제작을 위해 전향과 같은 방법으로 단두 도살 후 즉시 위장관 전체를 복강에서 들어 낸 후 위의 체부와 소장의 중간 부위 그리고 결장 부위를 절취한 조직편을 0.1M phosphate buffer(pH 7.2) 용액내에서 적당한 크기로 세절한 후 잘 세척하여 이물질들을 제거하였다. 조직편을 2.5% glutaraldehyde 용액에 전 고정시킨 다음 1% osmium tetroxide 용액으로 후 고정하였다. 다음 상승농도순의 알코홀로 탈수하고 isoamyl

acetate로서 처리하였으며, critical point dryer로 임계점에서 건조시키고, ion coater로 200~250Å의 금 도금막을 입혀 각 동면기 별로 점액상피세포의 미세구조 변화를 주사 전자현미경(Jeol 840 A)으로 20KV 하에서 비교 관찰하였다.

결 과

혈액학적 조사

본 실험은 활동기와 동면기에 파충류인 까치 살모사의 혈액내 가스함량과 압력인 TCO₂, PCO₂와 PO₂의 혈액내 일반적 정상인 백혈구, 적혈구, 혈색소 및 적혈구용 백분율의 변화치를 조사한 결과로서 다음과 같은 성적을 얻었다.

1) 혈액 가스 함량의 변화

까치 살모사에 있어서 활동기와 동면기의 혈액내 가스함량과 압력의 변화는 Table 1과 같다. 즉 측정된 성적은 동면기와 활동기에 있어서 혈액내 가스 함량의 평균치가 상당히 다르다는 것을 알 수 있었다. PCO₂는 체온이 낮은 동면기에 1.7mmHg 정도 약간 증가한 결과를 나타내었다. 또한 TCO₂는 활동기에 비해 동면기에 7.4m mol/l 이상의 현저한 증가를 나타냈다. 역시 PO₂에서도 동면기에 있어서 활동기보다 17.4mmHg의 높은 성적을 나타내고 있다. 한편 혈액내 pH의 값도 활동기에 비해 동면기에 있어서 약간 증가한 값을 나타내고 있다.

2) 혈액상의 변화

까치 살모사에 있어서 활동기와 동면기의 일반적 혈액 성분의 변화는 다음 Table 2와 같다. 즉 Table 2에서 보는 바와 같이 각 시기에 따라서 측정 종목별로 증감을 달리하고 있는 것을 알 수 있다. 혈액내 적혈구의 수는 활동기에 비해서 동면기가 약 0.07×10^6 mm³정도 증가한 결과를 나타내었다. 혈색소의 함량은 동면기가 활동기에 비해서 0.9 g/dl정도 증가한 결과를 나타내었다. 또한 적혈구 용적 백분율도 동면기가 활

Table 1. Blood gas changes of the vipers under active and hibernating phases

	PCO ₂ (mm Hg)	TCO ₂ (m mol/l)	PO ₂ (mm Hg)	pH (unit)
Active Phase (Summer) E.T.; 26~29° C, B.T.; 18~20° C	12.0±1.41	10.8±1.01	15.7±1.83	7.46±0.09
Hibernation Phase (Winter) E.T.; 3~7° C, B.T.; 7~10° C	13.7±1.71	18.2±1.54	33.1±2.21	7.62±0.11

Mean ± Standard deviation, E.T.: Environmental Temperature, B.T.; Body Temperature

Table 2. Blood pictures changes of the vipers under active and hibernating phases

	RBC (10 ⁶ /mm ³)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	WBC (10 ⁶ /mm ³)
Active Phase (Summer) E.T.; 26~29° C, B.T.; 18~20° C	0.84±0.06	8.9±0.36	26.2±0.28	12.8±0.54
Hibernation Phase (Winter) E.T.; 3~7° C, B.T.; 7~10° C	0.91±0.08	9.8±0.48	28.0±0.35	6.7±0.42

Mean ± Standard deviation, E.T.; Environmental Temperature, B.T.; Body Temperature

동기에 비해 약 1.8%정도 증가되었다. 이에 반하여 백혈구의 수는 활동기에 비해 동면기에 많은 감소 경향을 나타내었다.

조직학적 조사

1) 일반 조직학적 소견

활동기 위의 일반 조직학적 소견은 Fig. 1A와 같이 위점막 주름은 비교적 규칙적이며, 넓은 주름 형태였으며 위점막 주름을 덮고 있는 표면 상피는 비교적 높고 규칙적인 원주세포로 구성되어 있었다. 소장외의 일반조직학적 소견은 Fig. 9A와 같이 소장 점막 주름은 비교적 높게 잘 발달되었으나, 장선의 분화는 관찰되지 않았다. 점막 주름을 덮고 있는 표면 상피는 불규칙한 형태를 이루고 있었고, 점액세포는 은와와 움모에 고르게 분포되고 있었다. 동면기 위의 일반 조직학적 소견은 Fig. 1B와 같이 위점막은 활동기의 것과 형태상 현저한 차이를 관찰할 수 있었으며 위점막주름이 상당한 위축현상과 불규칙한 형태를 나타내고 있다. 표면 점액세포는 원주형으로

불규칙적으로 배열되어 있었다. 소장의 일반조직학적 소견은 Fig. 9B와 같이 소장점막 주름은 활동기의 것에 비해 상당히 수축되어 있으며 단순한 형태를 이루고 있었고 점액세포는 활동기에 비해 소수인 것으로 관찰되었다.

2) 점액질 조직화학적 소견

활동기 위의 점액질에 대한 소견은 다음과 같다. 즉 위점막의 표면 점액세포에 있는 점액질은 PAS반응(Fig. 2)에서 강한 양성을 띄었고, AB 2.5-PAS 혼합염색(Fig. 3)과 AB 1.0-PAS 혼합염색(Fig. 4)에서 강한 자색을 띄었다. AB 2.5염색에서 약한 양성을 띄었으며 AB 1.0 염색 AF 1.7염색에서 음성 반응을 나타내었고, AF 1.7-AB 2.5 혼합염색(Fig. 5)에서 미약한 청색반응을 나타내었다. 점액경세포에 있는 점액질은 PAS반응(Fig. 2)에서 강한 양성을 띄었고, AB 2.5-PAS 혼합염색(Fig. 3)과 AB 1.0-PAS혼합염색(Fig. 4)에서 강한 적색을 띄었으며 AB 2.5염색, AF 1.7염색 및 AF 1.7-AB 2.5 혼합염색(Fig. 5)에서는 음성 반응을

나타내었다. 소장의 점액질에 대한 조직화학적 소견은 소장 점막의 은와에 있는 점액질은 PAS 반응 (Fig. 10)과 AB 2.5염색(Fig. 11)에서 강한 양성을 띄었고, AB 2.5-PAS 혼합염색 (Fig. 12)에서 강한 청자색과 청색을 띄었으며, AB 1.0-PAS 혼합염색(Fig. 13)에서 강한 청자색과 자색을 띄었다. AB 1.0염색에서 약한 양성을 띄었고, AF 1.7-AB 2.5 혼합염색 (Fig. 14)에서 강한 청색 반응을 나타내었다. 움모에 있는 점액질은 PAS반응(Fig. 10), AB 2.5염색(Fig. 11)및 AF 1.7염색에서 중 정도의 양성을 띄었고, AB 2.5-PAS 혼합염색 (Fig. 12)에서 강한 청자색과 중 정도의 청색을 띄었으며, AB 1.0염색에서 약한 양성을 띄었다. AB 1.0-PAS 혼합염색(Fig. 13)에서는 중 정도의 강한 자색을 띄었고, AF 1.7-AB 2.5 혼합염색(Fig. 14)에서는 중 정도의 청색 반응을 나타내었다.

동면기 위의 점액질에 대한 조직학적 소견은 위점막의 표면 점액세포에 있는 점액질은 PAS 반응(Fig. 6)에서 중 정도의 양성을 띄었고, AB 2.5 염색과 AB 1.0 염색에서 음성 반응을 나타내었으며, AB 2.5-PAS 혼합염색(Fig. 7)에서 강한 자색을 띄었다. AB 1.0 - PAS 혼합 염색(Fig. 8)에서는 중 정도의 적색을 띄었고,

AF 1.7 - AB 2.5 혼합염색에서는 미약한 청색 반응을 나타내었다. 점액경세포에 있는 점액질은 PAS반응(Fig. 6)에서 강한 양성을 띄었고, AB 2.5 - PAS 혼합염색(Fig. 7)과 AB 1.0-PAS 혼합염색(Fig. 8)에서 강한 적색을 띄었다. 소장의 점액질에 대한 조직화학적 소견은 소장 점막의 은와에 있는 점액질은 PAS반응(Fig. 15)과 AB 2.5염색에서 강한 양성을 띄었고, AB 2.5-PAS 혼합염색(Fig. 16)에서 강한 청자색을 띄었으며 AB 1.0-PAS 혼합염색(Fig. 17)에서 중 정도의 청자색을 띄었다. AB 1.0염색과 AF 1.7염색은 미약한 양성을 띄었고, AF 1.7-AB 2.5 혼합염색(Fig. 18)에서 약한 청색 반응을 나타내었다. 움모에 있는 점액질은 PAS 반응(Fig. 15)과 AB 2.5 염색에서 강한 양성을 띄었고, AB 2.5-PAS 혼합염색(Fig. 16)에서 강을 띄었다. AB 1.0 염색과 AF 1.7 염색에서 미약한 양성을 띄었고 AF 1.7-AB 2.5 혼합염색(Fig. 18)에서 중 정도의 청색반응을 나타내었다. 까치 살모사에 있어서 활동기와 동면기의 위장관 점액세포내 점액질에 대한 이상의 종합된 조직화학적 반응 결과는 다음 Table 3과 같으며, 반응 결과에 따른 점액질의 성분을 종합 분석하여 보면 다음의 Table 4에 제시한 바와 같다.

Table 3. Histochemical reactions of mucous cells in the gastrointestinal tract of *Agkistrodon saxatilis*, in active and hibernating phases

			PAS	AB2.5	AB1.0	AB2.5-PAS	AB1.0-PAS	AF1.7	AF1.7-AB2.5
Stomach	Surface mucous cell	Active	4	2	0	4R	4R	0-1	1B
		Hibernating	3	0	0	4R	3R	1	1B
	Mucous neck cell	Active	4	0	0	4R	4R	0	0
		Hibernating	4	2	0	4R	4R	0	1B
Small intestine	Crypt	Active	4	4	2	4BP,4B	4BP,4P	1-2	3B-4B
		Hibernating	4	3-4	0	4BP	3BP	1	2B
	Villus	Active	3	3	2	4BP,3B	3BP,4P	3-4	3B
		Hibernating	4	3-4	0	4BP	3BP	1	2B-3B

PAS; Periodic acid-Schiff reaction, AB 2.5; Alcian blue pH 2.5, AB 1.0; Alcian blue pH 1.0, AB 2.5-PAS; Alcian blue pH 2.5-Periodic acid-Schiff reaction, AB 1.0-PAS; Alcian blue pH 1.0-Periodic acid-Schiff reaction, AF 1.7; Aldehyde fuchsin pH 1.7, AF 1.7-AB 2.5; Aldehyde fuchsin pH 1.7-Alcian blue pH 2.5, B; blue, R; Red, P; Purple, BP; Blue-Purple, Numerical values (0-4) designate comparative color intensities.

주사 전자현미경적 관찰

위에 있어서의 각 동면과정 중의 주사 전자현미경적 관찰소견은 다음 Fig. 19, Fig. 20, Fig. 21과 Fig. 22에 제시된 바와 같다. 즉 동면과정인 각성기, 활동기, 잠입기, 동면기의 살모사 위점막의 주름은 비교적 불규칙한 형태로 이루어 졌으며 동면기인 Fig. 22에 보는 바와 같이 동면과정에 따른 각성기(Fig. 19), 활동기(Fig. 20), 잠입기(Fig. 21)에 비해서 위점막의 주름이 깊게 파여져 있는 것이 관찰되었다. 또한 위점막 상피세포의 배열구조 및 크기의 변화상은 그다지 차이가 없는 것으로 관찰되었다.

소장에 있어서의 각 동면과정 중의 주사 전자현미경적 관찰소견은 다음의 Fig. 23, Fig. 24, Fig. 25, Fig. 26에 나타난 바와 같다. 즉 소장점막 주름은 비교적 크게 발달하고 있는 것이 관찰되었으며 점막주름을 덮고있는 표면 상피세포들이 불규칙하게 배열하고 있는 것이 관찰되었다. 또한 까치 살모사의 소장 안벽 전체를 용모가 고르게 분포되고 있는 것이 관찰되었다. 활동기(Fig. 24)와 잠입기(Fig. 25)에 비해서 동면기(Fig. 26)와 각성기(Fig. 23)의 용모의 크기는 다소 위축되어 있는 것이 관찰되었다. 또한 활동기의 소장벽이 상당히 비대하여 졌으며 용모도 상당히 두꺼워진 것이 관찰되기도 하였다(Fig. 24). 소장내의 용모 상피세포의 표면구조

는 각 동면과정에 따라서 상당한 변화를 나타내고 있으며 동면기에 비해 활동기에는 음식물 섭취에 따른 점액질 구조의 변화가 예측될 수 있을 정도로 소장벽의 점액상피세포의 활동이 왕성하며 다양한 구조적 차이를 보이고 있었다. 대장에 있어서의 각 동면과정 중의 주사 전자현미경적 관찰소견은 다음의 Fig. 27, Fig. 28, Fig. 29, Fig. 30에 나타난 바와 같다. 즉 대장 점막 주름은 위점막 주름과 소장 점막 주름에 비해서 비교적 작게 발달하고 있는 것이 관찰되었으며 점막주름을 덮고있는 표면 상피세포들이 각 동면과정에 따라 약간씩 변화하고 있는 것이 관찰되었다. 즉 활동기(Fig. 28)와 잠입기(Fig. 29)에 비해서 동면기(Fig. 30)와 각성기(Fig. 27)에 대장 부위의 점막 주름은 상당한 차이로 형성되고 있는 것이 관찰되었다. 또한 대장표면의 상피세포의 형태적 차이는 각 동면과정에 따라서 약간씩 변화하는 듯 하였으며 활동기의 상피세포들이 가장 규칙적인 배열 상태와 비후해 진듯한 관찰 결과를 나타내었다.

고 찰

활동기와 동면기에 있어서 파충류인 까치 살모사에 대한 혈액가스의 함량 및 압력의 변화조사와 함께 일반적인 혈액상의 변화를 주장한 결과

Table 4. Distribution and proposed types of the mucosubstances in the gastrointe stinal tract of *Agkistrodon saxatilis*, in the active and hibernating phases.

Site	Portion	Phase	Types of mucin
Stomach	Surface mucous cell	Active	Predominantly neutral mucin, a little amount of sialomucin
		Hibernating	Predominantly neutral mucin and lesser amount of sialomucin
	Mucous neck cell	Active	Neutral mucin
		Hibernating	Predominantly neutral mucin, a little amount of sialomucin
Small intestine	Crypt	Active	Neutral mucin, sialomucin and sulfomucin
		Hibernation	Almost the same as the above active, a little decrease of sulfomucin and sialomucin
	Villus	Active	Almost the same as the active of crypt
		Hibernating	Predominantly neutral mucin, small amount of sulfomucin and sialomucin

로서 여러가지 의의있는 자료를 얻을수가 있었다. 즉 체내의 산과 염기 평형에 중요한 역할을 수행하는 혈액내 총이산화탄소의 함량(TCO₂)이 동면기에 증가하였으며 pH의 값도 동면기에 약간 증가하였다. 또한 혈액내 이산화탄소 부분압(PCO₂)도 활동기에 비해 약간 증가하였으며 산소압(PO₂)도 동면기가 활동기보다 현저한 증가를 보였다. 이러한 결과는 Stinner(1982)의 연구 보고에서 파충류의 체온이 10°C 증가할때 혈액내 CO₂의 함량이 1.3m mol/l 정도 감소하며 pH도 10°C 증가할때 0.157 정도 감소한다는 결과와 동면중인 다람쥐에서 이산화탄소는 호흡율과 심박동에 영향을 받는다는 Person(1950)과 Lyman(1951)의 보고 및 뱀 혈액내의 산소는 온도의 영향에 따라 변화를 받는다는 Greenwald(1971)의 보고와 일치하는 경향을 보였다.

한편, 까치 살모사 혈액내 적혈구수와 혈색소 등의 함량은 활동기에 비해서 동면기에 약간의 증가를 보였는데 이러한 결과는 동면동물중 european hamster(Lyman and Chatfield, 1955)와 golden hamster(Lyman, 1957) 등의 보고에서 나타난 바와 같이 동면기에 적혈구수의 증가 결과와 유사하였으며 혈색소의 함량이 golden hamster에 있어서 동면기에 증가하였다는 Suomalainen(1953)의 보고 결과와 일치하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 동면동물이 동면하는 중 식이를 못한 탈수로 인해서 체내 혈액 농축현상 때문이라는 것과 배설등에 의한 수분의 손실등으로 인해 활동기보다 동면기에 적혈구와 혈색소의 증가를 설명하고 있기도 한다(Svihla and Bowman, 1952). 그러나 다른 연구자들에 의하면 오히려 동면기에 적혈구수의 감소 경향을 보고하고 있으며 동면기에 혈구수의 감소를 비장 활동의 감소와 골수에서의 혈액생성이 저하되어 혈구수가 낮다는 주장도 많다(Stucky and Cocc, 1942). 한편 백혈구수의 증감은 활동기보다 동면기에 낮아진다는 연구보고(Suomalainen, 1953; Svihla와 Bowman, 1953; Lyman, 1957) 등에 의해 많이 발표되고 있다. 본 연구 결과에서도 동면기는 활동기에 비해서 뚜렷한 백혈구수의 감소를 보인

반면에 적혈구수와 혈색소의 함량이 동면기에 다소 증가하는 결과는 다른 연구자들의 보고와 상이하거나 비슷한 결과를 나타내고 있다. 한편 Stinner(1987)의 최근 보고에 의하면 혈액가스 중 산소와 탄소의 함량변화는 온도에 많은 변화를 보이며 적혈구 백혈구 혈색소등은 온도에 그다지 많은 변화를 보이지 않는다고 하였다. 이와 같이 연구자에 따라서 다소 다른 혈액상의 변화 결과들을 보고하고 있으나 동면 동물들에 대한 혈액학적 및 생리적 제 현상의 변화 연구는 실험동물의 선정 및 연구자들의 연구방법에 따라 다소 차이가 있음을 고려할때 이에 대한 많은 연구가 지속적이고 종합적으로 수반되어야 한다고 사료된다. 한편 점액질은 점액세포에서 분비되는 것으로 위장관 점막의 표면상피에 점액막을 형성하여, 화학적 침해나 물리적 자극으로부터 점막을 보호해주고 기능을 적절히 수행할 수 있도록 해준다고 보고되고 있다(Florey, 1962; Bennet, 1963). 본 실험에서는 Pearse(1975)가 제창한 성분 분류법을 기초로 하여 Reifel and Travill(1978) 및 Sugunuma등(1981)의 견해에 따라 위장관 점액질을 넓은 의미로 neutral mucosubstances, sulfomucin (sulfated mucosubstances), sialomucin (sialic acid containing and other nonsulfated acid mucopolysaccharides)으로 대별하였고, PAS 양성도와 pH조절에 따른 alcianophilia, fuchsinophilia 등을 참고로 한 까치 살모사의 위장관 점액질의 조직화학적 성분을 종합하여 보면 Table 2와 같이 위장관 점액질의 조직화학적 성분은 위 점막에서는 중성 점액질이 많고 소장 점막에서는 산성 점액질이 증가함을 관찰할 수 있었다. 이는 Sheahan과 Jervis(1976), 정과 권(1982) 등의 연구보고와 일치하는 경향이였다. 그리고 Sugunuma 등(1981)은 뱀의 위장관 표면상피는 중성 점액질이 주성분이며 소량의 sialomucin을 포함하고 있다는 점에서 본 실험성적과 일치하였으나, 장 점막 점액질은 sulfomucin으로만 구성되어 있다고 보고하여 본 실험성적과는 상이하였다.

다른 동면동물들의 점액세포내 점액질에 대한

보고에 의하면 Geuze(1971)는 동면 개구리의 위점막세포에서 PAS반응은 변화가 없으나 점액 질량이 감소한다는 보고와, 안과권(1974)은 동면 박쥐의 위장관이 모든 점액세포에서 중성 점액질의 반응이 현저하게 감소되며 위의 표면 점액세포에서는 산성 점액질의 반응을 나타낸다고 보고하였으며 Mayer and Bernick(1958)는 동면 북극 다람쥐의 위점막세포에서 PAS양성 점액량의 증가하나, 대장의 점액세포에서는 감소한다는 보고와 본 실험의 결과가 일치하지 않았다. 이는 종(species)에 따른 차이도 있겠고 염색법과 관찰방법의 차이로 인한 것으로 생각된다. 한편, 활동기 파충류의 점액질에 대한 연구보고를 살펴보면, 김(1972)은 도마뱀, 줄꼬리뱀, 능구렁이의 장점막 배상세포에 대한 연구에서 점액질은 AB 2.5 염색에 강한 양성을 나타내고 남생이, 자라, 도마뱀, 줄꼬리뱀 등은 PAS반응에 농염된다고 하였으며 조(1974)는 자라의 십이지장 배상세포내 점액질은 sulfated mucin과 nonsulfated mucin이 혼합되었다고 하였다. 그리고 박동(1984)은 살모사의 소장 점막은 AB 2.5-PAS 및 AB 1.0 염색반응에서 중 내지 강한 양성을 보이고 AB 2.5-PAS 혼합염색에 강한 자색을 띠며 AB 1.0-PAS 혼합염색에 강한 적자색이 나타내고, AF 1.7-AB 2.5 혼합염색 중 정도의 청색을 띤다고 하였다. 이는 본 실험의 결과와 대체로 일치하였다. 동면기의 까치 살모사 위장관 점액세포가 상당히 위축됨을 관찰할 수 있었는데, 이는 동면기에는 영양분을 섭취하지 않고, 소화대사 기능이 극히 제한된다는 사실로 사료되며, 동면기에 음식물을 섭취하지 않음으로써 일어나는 재과정, 즉 동면동물의 위장관 점액세포에 미치는 물리적 화학적 자극의 감소 및 신진대사의 저하(Hoffman, 1968)등의 연구보고로서 이해할 수 있었다. 그러나 이러한 살모사의 활동기와 동면기의 위장관 점액세포의 조직 화학적 변화는 앞으로 동물 계통발생학적 측면에서 더욱 조사되어, 각 동면동물간에 있어서 동면과정중 위장관 점액세포의 변화 및 동면과정의 연관성등을 규명하여야 할 과제라 사료된다.

인용문헌

- Bennet, H.S., 1963. Morphological aspects of extracellular polysaccharides, *J. Histochem. Cytochem.* **11**: 14-23.
- Davis, D.E., 1970. Failure of schedule of torpor to alter annual rhythm of appetite of woodchucks, *Mammalia*. **34**: 542-544.
- Draskoczy, P.R. and C.P. Lyman, 1966. Turnover of catecholamines in active and hibernating ground squirrel, *J. Phar. Exp. Therapeutics.* **155**: 101-111.
- Florey, H.W., 1962. The secretion and function of intestinal mucus, *Gastroenterol.* **43**: 326-329.
- Geuze, J.J., 1971. Light and electron microscope observations on the gastric mucosa of the frog, *Z. Zellforsch.* **177**: 103-117.
- Greenwald, O.E., 1971. The effect of temperature on the oxygenation of gopher snake blood, *Comp. Biochem. Physiol.* **40**: 865-850.
- Gove, P. B., 1967. Webster's Third New International Dictionary, pp. 448, Massachusetts, G & C. Merriam Co.
- Hoffman, R.A., 1968. The hibernator as a tool in biological research, *Fed. Proc.* **27**: 999-1007.
- Kulpa, C.M., S.N. Majiwalla, L.M. Christman and J.A. Beebe, 1986. Persistence of weight gain and hibernation onset in juvenile thirteenlined ground squirrels in spite of long term administration of naloxone, *Pegamon J.Ltd.* **1**: 363-367.
- Lyman, C.P., 1948. The oxygen consumption and temperature regulation of hibernating hamsters, *J. Exp.Zool.* **109**: 55-78.
- Lyman, C.P., 1951. Effect of increased CO₂ on respiration and heart rate of hibernating hamster and ground squirrels, *Ameri. J.Physiol.* **167**: 638-643.
- Lyman, C.P. and P.D. Chatfield, 1955. Physiology of hibernation in mammals, *Physiol. Rev.* **335**: 403-425.
- Lyman, C.P., 1957. The effect of hibernation as the replacement of blood in the golden hamster, *J.Exp. Zool.* **136**: 471-485.
- Mayer, W.V. and S. Bernick, 1958. Comparative histological studies of the stomach, small intestine and colon of warm and active and hibernating arctic ground squirrels, *Anat. Rec.* **130**: 747-754.
- Mrosovsky, N., 1968. The adjustable brain of hibernatory, *Sci. Am.* **218**: 110-118.
- Pearse, A.G.E., 1975. Histochemistry, Theoretical and Applied, 3rd ed. Vol. 1. pp. 334-348, Edinburgh, Churchill Livingstone.
- Person, R.S., 1950. Effect of temperature on the CO₂

- ention by the blood of some mammals, *Doki. Acad. Nauk. USSR*. **70**: 339-342.
- Reifel, C.W. and A.A. Travill, 1978. Structure and carbohydrate histochemistry of the stomach in eight species of teleosts, *J. Morph.* **158**: 155-168.
- Sheahan, D.G. and H.R. Jervis, 1976. Comparative histochemistry of gastrointestinal mucosubstances, *Am.J.Anat.* **146**: 103-132.
- Spicer, S.S., 1963. Histochemical differentiation of mammalian mucopolysaccharides, *Ann. N.Y.Acad. Sci.* **106**: 379-388.
- Spicer, S.S. and D.B. Meyer, 1960. Histochemical differentiation of acid mucopolysaccharides by means of combined aldehyde fuchsin-alcian blue staining, *Am.J.Clin. Path.* **33**: 435-460.
- Spicer, S.S. and D.C.H. Sun, 1967. Carbohydrate histochemistry of gastric epithelial secretions in dog, *Ann. N.Y.Acad.Sci.* **140**: 762-783.
- Stinner, J.N., 1982. Ventilation, Gas exchange and blood gas in the snake, *Res. Physiol.* **47**: 279-298.
- Stinner, J.N., 1987. Cardiovascular and metabolic respons to temperature in *Coluber constrictor*, *Amer. J.Physiol.* **47**: 279-298.
- Stucky, J. and R.M. Cocc, 1972. Comparision of the blood picture of active and hibernating ground squirrels, *Amer.J.Physiol.* **187**: 435-443.
- Suomalainen, P., 1953. Hematological changes in the Hibernating, Proc. XIV. Intern. Congr. Zool. Copenhagen. p.276.
- Sugunuma, T., J. Katsuyama, M. Takematsu, Y. Sakakura and Y. Murata, 1981. Comparrative histochemical study of alimentary tracts with special reference to mucous neck cells of the stomach, *Am.J. Anat.* **161**: 219-238.
- Svihla, A. and H.R. Bownman, 1952. Oxygen-Carrying capacity of the blood of dorman ground squirrels, *Amer.J.Physiol.* **171**: 479-481.
- Vagovgyi, A. and M. Halpern, 1983. Courtship behavior in garter snake: Effects of artifical hibernation, *Can.J. Zool.* **61**: 1171-1174.
- 강호석, 조병필, 이영돈, 1984. 동면중인 한국산 관박쥐의 비만세포에 관한 연구, 대한해부학회지, **17**: 99-104.
- 권홍식, 정진웅, 김진, 1982. 무당개구리 위장관 점액 분비세포의 점액질에 대한 조직화학적 연구, 대한해부학회지, **15**: 1-17.
- 김강석, 1972. 각급 척추동물 장 점막 배상세포에 대한 조직화학적 연구, 카톨릭대학 의학부 논문집, **23**: 117-118.
- 노영복, 1988. 동면동물의 혈액상에 관한 연구, 한국동물학회지, **31**: 251-264.
- 박중석, 조현욱, 정계준, 1984. 사류 소화관 점액질의 상상에 관한 조직화학적 연구, 경상대논문집(생물계권), **23**: 175-1180.
- 서덕규, 1976. 혈액학 실기, 고문사, 서울, p.96-109.
- 신재식, 권홍식, 1985. 집토끼 대장 각 부위의 점액세포내 점액질에 대한 조직 화학적 연구, 카톨릭대학 의학부 논문집, **38**: 883-899.
- 안의태, 권홍식, 1974. 동면주기에 따른 집박쥐 위장관 점액세포의 형태적 변화, 카톨릭대학 의학부 논문집, **26**: 21-35.
- 오수자, 차정호, 정진웅, 1986. 집박쥐 Paneth 세포의 미세구조 : 활동기와 동면기에서의 비교, 대한해부학회지, **19**: 363-372.
- 오영근, 강호석, 1979. A study of the mechanism on hibernation, 연세의학잡지, **20**: 17-32.
- 정경석, 권홍식, 1982. 활동기와 동면기 개구리의 소화관 점액세포내 점액질에 대한 조직학적 관찰, 카톨릭대학 의학부 논문집, **33**: 335-346.
- 정영기, 권홍식, 1981. CaCl₂ or Hydrochlorothiazide 투여로 일어난 고칼슘증태의십이지장 배상세포 점액질에 대한 조직화학적 연구, 카톨릭대학 의학부논문집, **34**: 609-623.
- 조유복, 1974. 하등척추동물 소화관 점액내 산성점액질에 대한 조직화학적 상상에 관한 연구, 대한해부학회지, **7**: 19-30.

(Accepted January 25, 1993)

**Blood Pictures and Histochemical Properties of the Gastrointestinal Mucous Cells
in the Viper**

Young-bok Roh (Department of Biology, Chosun University, Kwangju, 501-759,
Korea)

This investigation was performed to compare blood gas volume and pressure (TCO_2 , PCO_2 , PO_2), blood pH and blood pictures (RBC, WBC, Hemoglobin, Hematocrit), in active and hibernating phases of the vipers. The histochemical properties and compositions of the mucosubstances in the mucous cells of the gastrointestinal tract of vipers in active and hibernating phases were also investigated. TCO_2 , PCO_2 , PO_2 and pH increased considerably in hibernation phase, compared with active phase. RBC, hemoglobin and hematocrit increased slightly in hibernating phase while WBC decreased considerably in hibernation phase. The folds of the gastrointestinal tract in hibernating phase decrease in number and height. Also, the shrinkage of epithelial cells was observed in hibernating phase. Gastric mucous neck cells contained only neutral mucosubstances under active phase but a little acidic mucosubstances containing sialomucin occurred under hibernating phase. Small intestinal mucus-secreting cells in active phase were composed of acid mucosubstances and neutral mucosubstances and acid mucosubstances were filled with sulfomucin and sialomucin, but sulfomucin and sialomucin decreased slightly. Changes of fine structures of gastrointestinal surface epithelium were recognizable in each hibernating phase under scanning electron microscope.

Explanation of Figures

- Fig. 1.** A part of the stomach in the active phase shows well-developed mucosa. But a part of the stomach in the hibernating phase shows poorly developed mucosa. Hematoxylin-eosin. $\times 40$. 1A; Active phase, 1B; Hibernating phase.
- Fig. 2.** Surface mucous cells and mucous neck cells of the stomach in the active phase show strong positivities to PAS reaction. $\times 100$.
- Fig. 3~5.** Surface musous cells and mucous neck cells of the stomach in the active phase show strong red tints. Alcian blue pH 2.5-PAS reaction (Fig. 3, $\times 200$) and Alcian blue pH 1.0-PAS reaction (Fig. 4, $\times 200$). However, in Aldehyde fuchsin pH 1.7-Alcian blue pH 2.5 stain only surface mucous cells show weak alcianophilia, (Fig. 5, $\times 250$).
- Fig. 6~8.** In the hibernating phase, surface mucous cells of the stomach show from moderate to strong positivities. PAS reaction (Fig. 6, $\times 250$), Alcian blue pH 2.5-PAS reaction (Fig. 7, $\times 250$) and Alcian blue pH 1.0-PAS reaction, (Fig. 8, $\times 250$).
- Fig. 9.** A part of small intestine in the active phase of the viper showing mucosal folds covered with epithelial cells and many dispersed mucous cells. Hematoxylin-eosin, $\times 250$. 9A; Active phase, 9B; Hibernating phase.
- Fig. 10.** A part of small intestine in the active phase shows slightly stronger positivity in the crypt than in the villus. PAS reaction. $\times 250$.
- Fig. 11.** A part of small intestine in the active phase shows slightly stronger alcianophilia in the crypt than in the villus. Alcian blue pH 2.5 stain. $\times 250$.
- Fig. 12.** A part of small intestine in the active phase shows strong blue purple and blue tints. Alcian blue pH 2.5-PAS reaction. $\times 250$.
- Fig. 13.** A part of small intestine in the active phase shows strong blue purple and blue tints. Alcian blue pH 1.0-PAS reaction. $\times 250$.
- Fig. 14.** A part of small intestine in the active phase shows from moderate to strong blue tints. Aldehyde fuchsin pH 1.7-Alcian blue pH 2.5 stains. $\times 250$.
- Fig. 15.** A part of small intestine in the hibernating phase showing shrinkage of the mucosal folds and decrease of the mucin contents in the mucous cells. Mucosubstances in the mucous cells show strong positivity to PAS reaction. $\times 100$.
- Fig. 16.** A part of small intestine in the hibernating phase shows strong blue-purple tint. Alcian blue pH 2.5-PAS reaction $\times 100$.
- Fig. 17.** A part of small intestine in the hibernating phase shows moderate blue-purple tint. Alcian blue pH 1.0-PAS reaction. $\times 100$.
- Fig. 18.** A part of small intestine in the hibernating phase shows moderate blue tint. Aldehyde fuchsin pH 1.7-Alcian blue pH 2.5 stains. $\times 100$.
- Fig. 19.** Scanning electron micrograph of the stomach in post-hibernating phase (Spring). $\times 100$.
- Fig. 20.** Scanning electron micrograph of the stomach in active phase (Summer). $\times 1000$.
- Fig. 21.** Scanning electron micrograph of the stomach in prehibernating period (Autumn). $\times 1000$.
- Fig. 22.** Scanning electron micrograph of the stomach in hibernating period (Winter). $\times 1000$.
- Fig. 23.** Scanning electron micrograph of the small intestine in posthibernating phase (Spring). $\times 250$.
- Fig. 24.** Scanning electron micrograph of the small intestine in active phase (Summer). $\times 50$.
- Fig. 25.** Scanning electron micrograph of the small intestine in prehibernating phase (Autumn). $\times 120$.
- Fig. 26.** Scanning electron micrograph of the small intestine in hibernating phase (Winter). $\times 120$.
- Fig. 27.** Scanning electron micrograph of the large intestine in posthibernating phase (Spring). $\times 55$.
- Fig. 28.** Scanning electron micrograph of the large intestine in active phase (Summer). $\times 120$.
- Fig. 29.** Scanning electron micrograph of the large intestine in prehibernating phase (Autumn). $\times 1000$.
- Fig. 30.** Scanning electron micrograph of the large intestine in hibernating phase (Winter). $\times 120$.









