韓家衛誌 第25卷 第1號
Korean J Vet Serv(2002) 25(1) : 53~73

Xylazine이 histamine 유리에 미치는 영향

김영환[1], 박준형*

경상북도가축위생시험소[1], 경북대학교 수의과대학*
(접수 2002. 1. 27, 게재승인 2002. 3. 14)

Effect of xylazine hydrochloride on histamine release

Young-Hoan Kim[1], Joon-Hyoung Park*

[1]Gyeongbuk veterinary Service Laboratory, Daegu, 702-210, Korea
**College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, 702-701, Korea*
(Received 27 January 2002, accepted in revised from 14 March 2001)

Abstract

It has been reported that degranulation of mast cells in rats, rabbits and dog was observed after dosing xylazine hydrochloride(Xh) which has been widely used as sedative, analgesic and muscular relaxant. Therefore, this experiment was conducted to examine the relations between Xh and histamine release and to identify the action of α-adrenoceptors which exists on the surface of mast cells.

1. The content of histamine within serum was measured with HPLC by performing the O-phthalaldehyde(OPA) fluorescent derivation. The pretreatment method had a little modification from the conventional method. The pretrement was carried out in the following method. 0.2㎖ of serum and 1㎖ of butanol were added to mixed together and then the liquid was centrifugally separated at 4℃ and 2,000 rpm for 3 minutes. 0.4㎖ of 0.1N HCl and 1.6㎖ of heptane were added to 0.8㎖ of supernatant taken from the liquid, and they were mixed together. This mixture was also centrifugally separated at 4℃ and 2,000 rpm for 5 minutes. The supernatant was thrown away and the OPA fluo- rescent derivation was carried out with 0.2㎖ of the lower liquid then, 5 minutes after mixing 400㎕ of 0.1N HCl, 120㎕ of 1N NaOH and 40㎕ of 0.1% OPA in the 0.2㎖ of the lower liquid, 120㎕ of 3.57N H_3PO_4 was added to the mixed liquid, and the liquid, was mixed again and syringe-filtered. Then, the measurement was done with HPLC in the 30 : 70 (v/v) ratio of 0.004M KH_2PO_4 : CH_3CN, flow rate of 1.0㎖ /min., and a wavelength of λ ex = 350nm and λ em = 444nm at the column temperature of 27℃, using the fluorescence detector.

[1]Corresponding author
Phone : 053-326-0013, Fax : 053-326-0014
E-mail : younghoan@hanmail.net

2. The content of histamine in each laboratory animal appeared to be higher in such an order as rabbit, rat, guinea pig, dog, Korean indigenous goat, swine, Korean indigenous cattle, Holstein, and mouse, of which the individual mean values ± standard deviation were 2.0668± 0.6049. 0.4999±0.2278, 0.4241±0.1974, 0.1054±0.0556, 0.1028 ±0.0276, 0.0972 ±0.0513, 0.0872± 0.0373, 0.0717 ±0.0379, and 0.0706±0.0366, respectively.

3. The content of histamine was measured at the moments of 15-, 30-, 60-, 120-minutes after intramuscular injection of 20㎎/100㎏ Xh into two to 4 years old Holstein weighing 600~ 700㎏. The result showed that there was a significant increase at the times of 30- and 90-minutes after injection($p<0.05$).

4. Intramuscular injection of 3㎎/10㎏ Xh was given to crossbred pug dogs weighing 2.5~ 4.3㎏. The content of histamine was measured at the times of 30-, 60-, 90- and 120-minutes after injection. The result revealed that there was a significant increase at the times of 60- and 90-minutes after injection($p<0.05$).

5. Intramuscular injection of 10㎎/㎖~25㎎/㎖ Xh in concentration of 0.1㎖ was applied to Korean indigenous goat over 5 months old. Then, the content of histamine was measured at the times of 15-, 30-, 60- and 90-minutes after injection. A significant increase was shown at the times of 30- and 60-minutes after injection($p<0.05$).

6. The content of histamine was measured at the moments of 30- and 60-minutes after intramuscular injection of 0.1-0.2㎖ Xh (20㎎/㎖) into male rabbits weighting 2.5-4㎏. A significant increase was found at the moment of 60 minutes after injection($p<0.001$).

7. After administering Xh to the mast cell taken from the abdominal cavity of mouse, the content of histamine was measured. The result showed that the higher the concentration, the more significantly the content of histamine was increased($p<0.05$).

8. Compound 48/80 was administered in concentration of 5㎍/㎖ and 10㎍/㎖ to the mast cell picked from the abdominal cavity of mouse. The result showed that there was a significant increase in the content of histamine in case of the concentration of 10㎍/㎖($p<0.05$). It was found to be about 10,000 to 500,000 times stronger than the Xh.

9. After premedication of 1㎎/㎏ of yohimbine hydrochloride as α_2-adrenergic antagonist to rabbits, the Xh was administered to them. The result was that the value of histamine within serum was decreased significantly($p<0.001$).

10. After premedication of 1㎎/㎏ of prazosin hydrochloride as α_1-adrenergic antagonist to rabbits, the Xh was administered to them. It was found that the value of histamine within serum was decreased significantly($p<0.005$).

11. Prazosin hydrochloride and yohimbine hydrochloride as α_1-adrenergic antagonist, respectively, and α_2-adrenergic antagonist were administerd. In this case, the value of histamine within serum was decreased significantly($p<0.0001$).

As the results, when the Xh is administered to various kinds of animals, the amount of histamine release within serum is increased. In view of the results so far achieved, it is concluded that Xh acted on both α_1-adrenoreceptor and α_2-adrenoreceptor induces the degranulation of mast cell.

Key words : Histamine, Xylazine hydrochloride(Xh), Mast cell, HPLC

서 론

Xylazine hydrochloride(Xh)는 1962년 독일에서 최초로 합성된 약제로서 Bay Va 1470으로 명명되었으며, 주로 수의사들에 의해 진정 및 진통제로 사용되는 강력한 α_2-adrenergic agonist이다[1].

1970년대에 Xh의 효력이 점차 보고되었으며[2~9], 1981년에는 Hsu[10] 및 Clough와 Hatton[11]에 의해 α_2-adrenergic receptor의 자극에 관련된다는 것이 알려졌고, Xh는 α_2- adrenergic 활성뿐 만 아니라 α_1-adrenergic효과도 가진다고 하였다[12]. 약리학적으로 Xh는 진통제일 뿐만 아니라 진정과 골격근 이완제로도 분류되고 있으며, FDA에서는 개, 고양이, 말, 사슴 및 elk에 사용을 허가하였다[1].

Xylazine은 adrenergic receptor subtype에 의해 말초 및 중추 모두에 작용하며[12], morphine과는 많은 유사한 특성을 가지지만 morphine의 작용을 대신할 수는 없고, naloxone에 의해 길항되지도 않으며, 마우스, 랫트 및 고양이에서는 마약성 진통제에 의해 유발되는 것과 같은 진통과 진정을 일으킨다[1].

Xh는 구토중추에 직접적인 자극효과 때문에 고양이와 개에서 때때로 구토가 유발되지만, 소, 면양, 산양 및 말 등에서는 구토가 유발되지 않는다[1,13~15]. Xh는 norepinephrine 분비를 조절한다고 알려져 있으며 마취 전 투여로 halothane과 barbiturate의 사용량을 감소시킨다고 알려져 있다[16~21]. 초식동물은 Xh에 대해 매우 민감하고 말, 개 및 고양이 투여량의 1/10 용량으로도 소에서는 고도의 진정을 유발하며[22], Xh주사 10분전에 atropine 근육주사는 서맥과 타액분비를 막을 수 있다[23]. 또 소에서는 xylazine투여 후 약 5시간 동안 오줌의 양이 현저히 증가하며, 오줌의 pH는 1시간 동안 떨어졌다가 다시 증가한다고 한다[24]. 그리고 15~30분 동안 glucose가 검출되기 시작하여 최고 2시간 동안 지속되며, 5~6시간 후에는 검출되지 않고 또한 insulin 농도가 25~33% 감소한다고 한다[25]. 산양에서는 Xh투여에 의해 호흡수가 현저히 감소하고 동맥압과 직장온도의 변화가 없다고 한다[27]. 돼지에서 Xh는 소의 투여량보다 20~30배의 양을 주사해도 다른 동물에 비해 효과가 없었다고 한다[26].

히스타민은 1900년대 초 ergot추출물에 일반 세균이 오염된 것으로부터 처음 발견된 biogenic amine이다[28]. 그리고 히스타민은 포유류의 여러조직에서 발견되고 endogenous mediator로서 작용한다[29,30].

초식동물에서는 간장과 신장에서 diamine oxidase로 산화적 탈아민 반응에 의해 불활성화되고 개와 고양이에서는 주로 imidazole-N-methyl transferase에 의해 methyl화가 일어난다[31]. 그리고 장내 세균에의한 acetylation의 결과로 초식동물에서는 많은 양의 acetylhistamine이 요로 배출되며 약리학적 활성은 없고, 또한 히스타민은 염증, anaphylaxis, 알러지 및 위액분비를 조절한다고 한다[32,33]. 히스타민은 기관, 장 및 큰혈관의 평활근을 수축시키고 반대로 세동맥은 확장되며 혈압이 떨어지고 모세혈관 투과성을 증가시켜 혈장유실로 혈액농축이 일어나 "histamine-shock"를 유발하여 폐사를 초래하기도 한다[34].

히스타민은 포유동물의 조직에 널리 분포되어 있으며, 동물과 조직에 따라 그 농도는 다르고 순환하는 히스타민 양이 비교적 높은 동물은 산양과 토끼이며, 낮은 동물은 말, 개, 고양이와 사람이다[1]. 위점막에서는 히스타민이 non-mast cell pool로서 존재하지만, 대부분의 조직내 히스타민은 mast cell의 과립내에 높은 농도로 농축되어 있으며 이 과립내에는 히스타민 외에도 heparin-protein complex, proteolytic enzyme 및 기타 serotonin 등이 함유되어 있다. 히스타민이 세포로부터 유출은 curare-alkaloids, strychnine, morphine, codeine, papaverine, meperidine, polypeptide antibiotics(polymyxin), atropine 및 유기비소제 등에 의해 검출되었고, 한편 교감신경양 amine들도 어떤 조건하에서 히스타민이 유리되며, compound 48/80은 그중 잘 알려져 있는 것 중의 하나이다. 그리고 dextran, ovomucoid(egg white), histone, lysosomal enzyme 등도 동물의 종류에 따라 히스타민을 유리시키며 뱀독, 거미독 및 기타독소도 또한 히스타

민을 유리시킨다[35~38].

Black 등[39] 과 Ash와 Schild[40]는 histamine-receptor에 대해 일반적으로 histamine-type 1(H_1)과 histamine-type 2(H_2)로 분류하였다. 히스타민에 의해 일어나는 기관지와 장의 평활근 수축은 H_1 receptor를 통해서 조절되고 pyrilamine과 다른 antihistamine(H_1 blockers)에 의해서 억제된다[41,42]. 반면에 히스타민 자극에 의해 유도된 위액분비는 H_2 receptor에 의해 조절되고, H_2 blocker인 burimamide, metamide, cimetidine에 의해 억제된다[43]. Arang 등[44]은 histamine-receptor를 세가지로 분류하였고, H_3 receptor는 억제성 Gi protein을 통한 adenyl cyclase의 억제와 관련이 있다고 하였다. H_3 receptor는 말초조직 뿐 만 아니라 뇌조직의 presynapse에서도 확인되었다[44,45]. 이들 receptor는 negative feedback system을 가지고 있어서 그들 자신에 의해 히스타민이 억제되고 또한 이들 receptor의 흥분에 의해 합성된다고 한다[44,46].

Mast cell은 1877년 Paul Ehrlich[47]가 결합조직 고유의 세포로 보고한 이래, 이 세포는 크고 둥근 세포(직경15~20㎛)로, 세포질내에 대형의 이염색성 과립을 함유하며, 설치류와 사람에서는 그 기원과 기능을 근거로해서 두가지로 분류하고 있다[48,49]. 한 종류는 결합조직에 있고, 다른 종류는 점막 표면에서 발견되는데 결합조직 mast cell은 일정한 크기의 과립을 많이 포함되어 있으며 히스타민과 heparin이 풍부하고, 반면 점막 mast cell은 작은크기의 다양한 과립을 가지고 있고 heparin은 없으며 chondroitin sulfate를 가지고 있다. 그리고 적은량의 히스타민을 함유하고 있으며 platelet-activating factor(PAF) 뿐만 아니라 leukotriene와 다른 prostaglandin을 생산한다고 한다[48,50,51].

Mast cell의 표면에는 α와 β의 두가지 형태의 adrenergic agents(adrenoreceptors)가 있으며, 이들은 서로 반대되는 효과를 가지고 있고 norepinephrine과 phenylephrine 등과 같은 약물이 α receptor를 자극하거나 propranol 등과 같은 약물이 β receptor를 차단함으로써 mast cell 탈과립을 높인다[48,52].

Isoproterenol, epinephrine, salbutamol 등과 같은β receptor를 자극하는 약물을 투여하면 mast cell 탈과립이 억제되며, *Bordetella pertussis* 또는 *Haemophilus influenza*와 같은 호흡기 병원체는 β receptor 차단제로써의 원인이 될 수 있고, 따라서 감염된 동물의 기도는 mast cell의 탈과립의 항진에 의해 더 심한 염증이 유발될 수 있다[48].

한편 Uggla와 Lindovist[53]는 면양에서 Xh 투여에 대한 부작용으로 급성폐수종을 관찰하고 이와 같은 소견을 anaphylaxis에 의한 폐사로 추정한 바 있으며, 오 및 이[54]는 Xh를 투여한 개에서 비장의 심한 충혈, 간소엽중 심정맥의 확장과 소엽중심성 괴사 및 폐의 충혈을 관찰한 바 있고 또한 랫트에서 mast cell의 탈과립 소견을 관찰한 바 있다. 김과 이[55]는 Xh를 투여한 개에서 mast cell의 탈과립 소견을 광학현미경적으로 관찰하여 Xh에 의한 shock사의 발생을 추측한 바 있다. 그리고 김 과 이[56~58]는 종양발육에 따른 mast cell의 숫적 및 형태학적인 변화에 미치는 Xh의 영향에서 mast cell의 탈과립 인자로 사료된다고 하였으며, 또한 Xh에 의한 shock사의 발생은 mast cell의 탈과립에 의해 일어나는 것으로 판단한 바 있다.

본 실험에서는 각종동물의 혈청내 히스타민의 정상함량을 측정한 후 Xh와 혈청내 히스타민 유리와의 상관 관계를 추구하고, 동시에 α_1-및 α_2-adrenergic receptor와 히스타민 유리와의 관계를 규명하고자 본 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

동물 및 혈청

한우(24개월 전후의 수소), 젖소(2-4산의 암소), 돼지(180~210일령의 도축돈), 잡종 개(체중 2.5~4.3kg), 토끼(2.5~4kg), 재래산양(생후 5개월령 이상), 기니픽(400~500g), Sprague Dawley계 수컷 랫트(250g 내외) 및 마우스(ICR계 수컷, 30g)를 각각 실험동물로 사용하였다. 실험계획의 순서에 따라 해당 동물에 약물을 투여한 후 경시적으로 채취한 혈액은 응

고시킨 후 원심분리하여 혈청을 분리하였고, 이들은 냉동고에 보관하면서 후속실험에 사용하였다.

약제 및 시약

히스타민 유리의 역동학적 관계, mast cell의 염색성 확인, high performance liquid chromatography(HPLC) 등을 위하여 xylazine hydrochloride(Xh, Sigma), histamine dihydrochloride(Sigma), yohimbine hydrochloride (Sigma), prazosin hydrochloride(Sigma), compound 48/80(Sigma), toluidine blue O(Sigma), O-phthalaldehyde(OPA, Hewlett Packard), acetonitrile(HPLC grade, Baker), methanol(HPLC grade, Baker) 등의 약제 및 시약들을 필요에 따라 각각 사용하였다.

사용기기

HPLC는 Hewlett Packard 1100 Series (Waldbronn)를, 형광검출기는 HP1046A(Hewlett Packard)를 각각 사용하였다.

시료의 전처리

혈청 0.2㎖에 butanol 1㎖을 가하여 vortex mixer로 혼합한 다음, 4℃, 2,000rpm으로 3분간 원심하였다. 상층액 0.8㎖를 다른 tube에 분취하고, 여기에 0.1N HCl 0.4㎖를 넣고 혼합한 후 heptane 1.6㎖를 첨가하였다. 이어서 vortex mix로 혼합한 후 4℃, 2,000rpm으로 5분간 원심하고 상층액 0.2㎖를 채취하여 HPLC 주입시료로 사용하였다.

HPLC 주입시료

전처리한 시료 200㎕에 0.1N HCl 400㎕를 넣고 혼합한 후 여기에 1N NaOH 120㎕를 넣고 vortex mixer로 혼합하였다. 그리고 0.1% OPA 40㎕를 넣고 충분히 혼합한 후 5분간 실온에 방치하고 여기에 3.57N H_3PO_4를 120㎕ 넣고 혼합한 후 50㎕를 HPLC에 주입하여 분석하였다.

HPLC의 분석조건

분석 column은 Hewlett-Packard, Mos-Hypersil(C_8), 200 × 4.6m을 사용하였고 mobile phase는 0.004M KH_2PO_4(pH 3.5 : H_3PO_4를 사용하여 조정)와 CH_3CN을 30 : 70(υ/υ), 흐름속도를 1.0㎖/min, column의 주입량은 50㎕로 하고 detector는 fluorescence detector, 측정파장은 λ_{ex}=350nm, λ_{em}=444nm, column의 온도는 25℃ - 30℃(평균 27℃)로 하였다.

HPLC에 시료를 주입하기 전에 1시간정도 증류수(HPLC grade)로 흘려 column을 세척하였고, 그 다음 acetonitrile로 1시간정도 흘려보냈다. 그리고 0.004M KH_2PO_4와 CH_3CN의 비율 30 : 70((υ/υ))으로 1시간 정도 흘려 안정화시킨 다음 시료를 주입하였다.

표준 용액의 조제

Histamine dihydrochloride : Histamine dihydrochloride를 0.1N HCl에 용해시켜 10㎍/㎖의 농도로 stock solution을 조제하여 냉동보관하고 working solution은 stock solution을 0.1N HCl로 0.1, 0.5 및 1㎍/㎖의 농도로 희석하여 4℃에서 보관하면서 사용하였다.

Xh : Xh를 증류수에 1, 10, 25, 50, 100, 250 및 500㎎/㎖의 농도로 실험직전에 조제하여 사용하였다.

Compound 48/80 : Compound 48/80을 Locke solution에 5 및 10㎍/㎖의 농도로 실험직전에 조제하여 사용하였다.

Locke solution : 150mM NaCl, 5mM KCl, 2mM $CaCl_2$가 되도록 조제한 다음에 pH 7.4로 조정하여 사용하였다.

Yohimbine hydrochloride 및 Prazosin hydrochloride : 주사용 증류수로 1㎎/㎖의 농도로 실험전에 조제하여 사용하였다.

복강에서 mast cell의 분리

Mouse를 후두부 타격으로 희생시킨 후, Cochrane과 Douglas의 방법[79]을 약간 수정한 방법으로 복강 mast cell을 추출하였다. 실온에서 15㎖의 Locke solution을 복강내 주입한 후

90초 정도 복벽을 맛사지하고 복벽을 절개한 다음 복강 세척액을 스포이드로 채취하여 2,000rpm으로 5분간 원심분리하였다. 상층액을 버리고 침전된 mast cell을 Locke solution으로 최종 부유시킨 후 실험에 사용하였다.

분리한 mast cell로부터 히스타민 유리량 측정

Locke solution으로 최종 부유시킨 mast cell을 여러 개의 시험관에 각 200㎕씩 취하였다. 정상 mast cell에서 히스타민을 측정하기 위해서는 mast cell의 부유액에 Locke solution 200㎕를 넣어 대조군으로 하였으며, xylazine의 히스타민 유리작용을 보기 위해서는 Xh 10, 25, 50, 100, 250 및 500㎎/㎖의 농도로 희석해서 각각 200㎕씩 첨가하였고, compound 48/80이 히스타민을 유리시키는지를 알아보기 위해서는 compound 48/80을 5㎍/㎖,10㎍/㎖의 농도로 희석해서 각각 200㎕씩 첨가하였다. 각각의 시료를 실온에서 15분간 방치한 다음 2,000rpm으로 5분간 원심한 다음 상층액 200㎕를 취하여 혈청에서와 같은 방법으로 HPLC를 이용하여 히스타민 함량을 측정하였다.

Mast cell의 탈과립 관찰

Mouse 복강내에서 mast cell을 추출하고 0.1% toluidine blue 용액으로 염색하여 광학현미경으로 mast cell의 탈과립을 관찰하였다.

α_2-receptor를 먼저 차단한 후 Xh를 투약하였을 때 혈청내 히스타민 함량 측정

α_2-receptor antagonist인 yohimbine hydrochloride 1㎎/kg을 토끼의 이정맥을 통해 주사하고 15분 후에 Xh 1㎎/kg을 다시 근육주사한 후 30, 60, 90, 120분에 각각 채혈하여 혈청내 히스타민치를 측정하여 정상치와 비교하였다.

α_1-receptor를 먼저 차단한 후 Xh를 투약하였을 때 혈청내 히스타민 함량 측정

α_1-receptor antagonist인 prazosin hydrochloride 1㎎/kg을 토끼의 이정맥을 통해 주사하고 15분 후 Xh 1㎎/kg을 근육주사한 후 30, 60, 90, 120분에 각각 채혈하여 혈청내 히스타민치를 측정하여 정상치와 비교하였다.

α_1-receptor와 α_2-receptor를 먼저 차단한 후 Xh를 투약하였을 때 혈청내 히스타민 함량 측정

α_1-receptor antagonist인 prazosin hydrochloride 1㎎/kg 용량과 α_2-receptor antagonist인 yohimbine hydrochloride 1㎎/kg 용량을 토끼의 이정맥으로 동시에 주사하고, 15분 후 Xh 1㎎/kg의 용량을 근육주사하고 30, 60, 90, 120분 후에 각각 채혈하여 혈청내 히스타민 치를 측정하여 정상치와 비교하였다.

통계처리

실험성적의 통계처리는 Student' t-test에 의하여 유의성 검정을 실시하여 p value가 0.05 이하시 유의성있는 것으로 간주하였다.

결 과

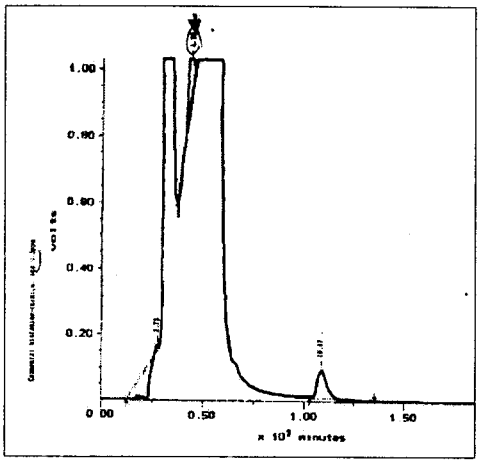
HPLC에 의한 히스타민 측정 방법 검토

기존의 HPLC 분석조건인 column은 μ-Bondapak C_{18}, mobile phase는 65% acetonitrile을, flow rate는 1.5㎖/min, column온도는 ambient, injection volume은 20㎕, fluorescence detector를 사용하였으며 파장은 λ_{ex}=260nm, λ_{em}=316nm로 하였다. 시료는 히스타민 표준시료를 사용하였으며, FMOC 농도는 3mM, 반응시간은 5분 이내로 하여 히스타민 표준시료를 측정하였다. Fig 1에서 보는 바와 같이 retention time은 4.33분이었으며, 히스타민의 chromatogram peak와 용매의 chromatogram peak가 중첩이 되고 히스타민의 양이 많아질수록 peak area가 명확하지 않고 상관계수가 0.907로 너무 낮아 본 실험에 사용할 수 없었다(Table 1).

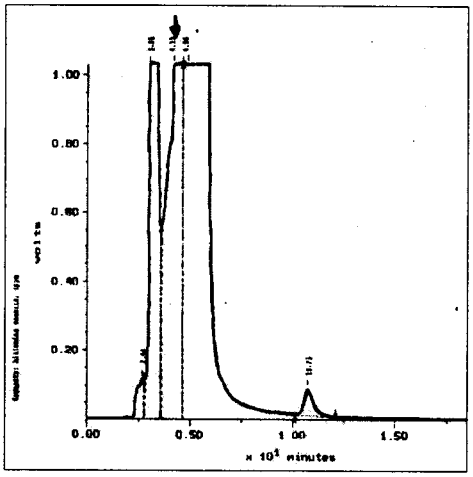
HPLC 분석조건을 기존의 방법을 수정보완하여 column은 Mos-Hypersil(C_8), mobile phase는 0.004M KH_2PO_4(pH3.5)와 CH_3CN 비

Table 1. The concentration of histamine determined by HPLC peak area

Method with	Injected histamine concentration(μg/mℓ)	HPLC peak area	Calibration of histamine concentration(μg/μℓ)	Correlation
Conventional	0.1	384231	0.233737	0.9073574
	0.5	1910171	0.259278	
	1.0	52567516	1.106990	
Modified	0.1	0.96748	0.100313	0.99994
	0.5	4.89400	0.491654	
	1.0	10.03600	1.004140	



A) 0.5μg/mℓ



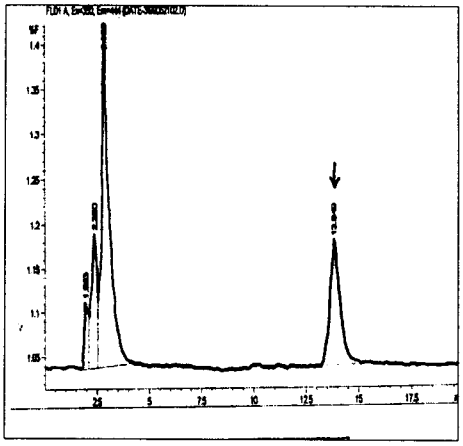
B) 1μg/mℓ

Fig 1. HPLC chromatograms of histamine standard solution by the conventional method.

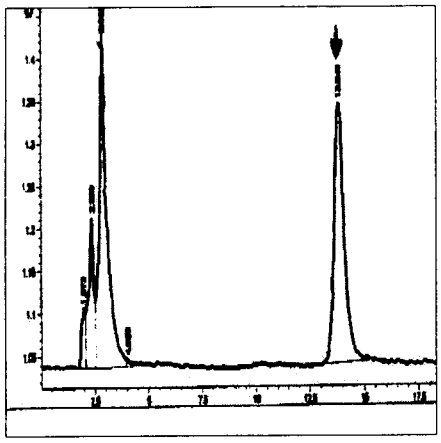
율을 30 : 70(v/v)으로 만들고 flow rate 1.0mℓ /min, column 온도는 27℃, 주입량은 50μℓ, fluorescence detector, 파장은 λ_{ex}=350nm, λ_{em}=444nm로 하였으며, 시료 전처리는 butanol, 0.1N HCl, haptane을 이용하였고 1N NaOH, 0.1% OPA를 사용하여 발색시키고 3.57N H_3PO_4를 이용하여 발색을 중지 시켰다. 표준 히스타민을 이용하여 함량을 측정해 본 결과 Fig 2와 같이 retention time은 13.84분으로 아주 양호한 단일 peak를 나타내었고 상관계수는 0.9999로 양호(Table 1)하였으므로 본 실험에서는 이 방법을 채택하여 실험하였다.

각종 동물에서의 혈청내 히스타민 함량

24개월령 전 후의 한우 수소 30두의 경정맥에서, 2-4산 젖소 19두의 경정맥에서, 180~



A) 0.5μg/mℓ



B) 1μg/mℓ

Fig 2. HPLC chromatograms of 히스타민 standard solution by the modified method.

210일령의 수돼지 14두의 경정맥에서, 2.5~4kg 토끼 22두의 심장에서, 2.5~4.3kg의 잡종개 30두의 요측피정맥에서, 5개월령 이상된 재래산양 30두의 경정맥에서, 250g 전 후 랫트 24수의 심장에서, 30g전 후 mouse 22수의 심장에서, 400~500g 기니픽 30수의 심장에서 각각 채혈 분리한 혈청에서의 정상 히스타민 함량은 Table 2에서와 같이 토끼, 랫트, 기니픽, 개, 산양, 돼지, 한우, 마우스, 젖소 순으로 높게 나타났으며, 히스타민 함량 평균치±표준편차는 각각 2.0668±0.6049. 0.4999±0.2278, 0.4241±0.1974, 0.1054±0.0556, 0.1028±0.0276, 0.0972±0.0513, 0.0872±0.0373, 0.0717±0.0379, 0.0706±0.0366μg/mℓ이었다.

위의 실험결과에서 보는 바와 같이 혈청내 히스타민 함량은 본 실험에 사용한 동물중 토끼에서 가장 높았고, 또 토끼는 채혈이 비교적 용이하므로 이하 Xh 또는 compound 48/80투여시의 히스타민 함량 실험은 토끼를 사용하였다.

젖소에서 Xh를 투여했을 때 혈청내 히스타민 함량

2-4산의 젖소에서 Xh를 20mg/mℓ의 농도로 조제하여 1mℓ/100kg의 용량으로 투여 전과 투여 후 15, 30, 60, 90, 120분에 각각 혈청내 히스타민 함량을 측정한 결과 Table 3과 같다.

젖소에 Xh의 접종전 혈청내 히스타민 함량을 100%로 환산했을 때 그 증감상황을 보면 A 젖소는 시간이 지날수록 점차 증가하여 90분대에서 220.6%로 최고치를 나타내다가 120분대에서는 142.6%로 감소하였다. B 젖소는 A 젖소와 마찬가지로 시간이 진행될수록 점차 증가하다가 60분대에서 일시적으로 감소하였으며, 90분대에는 267.8%로 최고치를 나타낸 후 120분대에서는 213.3%로 감소하였다. C는 A, B와 마찬가지로 점차 증가하다가 60분대에 167%로 최고치를 나타내었고 90분대에 84.5%로 감소하였다. D는 60분대에 일시적으로 감소하다가 90분대에 238.4%로 최고치를 나타내었다.

개에서 Xh을 투여했을 때 혈청내 히스타민 함량

2.5kg~4.3kg의 잡종, 수컷에 Xh 20mg/mℓ의

Table 2. Histamine levels of normal serum in various animals(μg/mℓ)

Animals	Mean	S. E.	Range
Rabbit	2.0668	0.6049	0.5718 ~ 2.6074
Rat	0.4999	0.2278	0.1111 ~ 0.9211
Guinea pig	0.4241	0.1974	0.0511 ~ 0.2230
Dog	0.1054	0.0556	0.0025 ~ 0.3306
Korean indigenous goat	0.1028	0.0276	0.0462 ~ 0.1613
Swine	0.0972	0.0513	0.0504 ~ 0.1978
Korean indigenous cattle	0.0872	0.0373	0.0096 ~ 0.1688
Mouse	0.0717	0.0379	0.0149 ~ 0.9325
Holstein	0.0706	0.0366	0.0136 ~ 0.1533

Table 3. Serum histamine levels of Holstein injected with Xh(㎍/㎖)

Time(min) after injection	Holstein			
	A	B	C	D
Before	0.087444 (100%)	0.086711 (100%)	0.086887 (100%)	0.060360 (100%)
15	0.089323 (102.1%)	0.089385 (103.1%)	0.078759 (90.7%)	0.063009 (104.4%)
30*	0.093403 (106.8%)	0.134748 (155.4%)	0.128868 (148.3%)	0.126918 (210.3%)
60*	0.105546 (120.7%)	0.109406 (126.2%)	0.145140 (167%)	0.070934 (115.6%)
90*	0.192859 (220.6%)	0.232182 (267.8%)	0.073437 (84.5%)	0.143898 (238.4%)
120	0.124668 (142.6%)	0.184904 (213.3%)	NT#	NT

A : (우), 2 calving, 700kg ; xylazine hydrochloride(20㎎/㎖) 7㎖ I.M.
B : (우), 2 calving, 700kg ; xylazine hydrochloride(20㎎/㎖) 7㎖ I.M.
C : (우), 2 calving, 650kg ; xylazine hydrochloride(20㎎/㎖) 6.5㎖ I.M.
D : (우), 4 calving, 600kg ; xylazine hydrochloride(20㎎/㎖) 6㎖ I.M.
#NT : Not test, *$p < 0.05$

Table 4. Serum histamine levels of dog injected with Xh(㎍/㎖)

Time(min) after injection	Dog			
	A	B	C	D
Before	0.025 (100%)	0.0153 (100%)	0.0443 (100%)	0.0311 (100%)
30	0.0433 (173.2%)	0.0155 (101.3%)	0.0484 (109.3%)	0.0304 (97.8%)
60*	0.0567 (226.8%)	0.0380 (248.4%)	0.0453 (102.3%)	0.0715 (230%)
90*	0.0382 (152.8%)	0.0375 (250%)	0.0647 (146.1%)	0.0778 (250.2%)
120	0.0196 (78.4%)	0.0504 (329.4%)	0.0630 (142.2%)	0.1118 (360%)

*$p < 0.05$

농도로 조제하여 체중 0.15㎖/kg의 용량으로 근육주사하여 투여전, 투여후 30, 60, 90, 120분에 각각 혈액을 채취하여 히스타민 함량을 측정한 결과 Table 4와 같다.

Xh를 투약한 개에서 히스타민의 증감을 보면 A에서는 투약 후 30분에서 173.2%로 증가하였으며 60분에서 226.8%로 최고로 증가하였고 90분에서부터 감소 하였다. B에서는 30분에서 증가하기 시작하여 60분에서 248.4%, 90분에서 250%, 120분에서 329.4%로 최고로 증가하였다. C에서는 30분에서 약간 증가를 보였지만 60분에서 일시적 감소를 보였고 90분에서 146.1%로 최고로 증가하였으며 120분에서 142.2%로 감소하였다. D에서는 60분에서 증가하기 시작하여 120분에 360%로 최고로 증가하였다.

재래산양의 생체내 Xh를 투여했을 때 혈청내 히스타민 함량

5개월령 이상된 재래산양에서 Xh 25㎎/㎖와 10㎎/㎖의 농도로 조제하여 0.1㎖ 근육주사 했을 때 시간대별로 경정맥에서 채혈한 혈청내 히스타민 함량은 Table 5와 같았다.

Xh를 투약한 재래산양에서 히스타민의 증감을 보면 A에서는 투약 후 30분에서 136.2%로 최고치를 나타내었고 60분에서는 다소 감소하였다. B에서는 투약 후 15분에서 148.3%로 최고치를 보였으며 그 이후 점차 감소하였다. C에서는 투약 후 15분에서부터 증가를 시작하여 30분에서 132.4%로 최고치를 보였으며 그 후

Table 5. Serum histamine levels of Korean indigenous goat injected with Xh(㎍/㎖)

Time(min) after injection	Korean indigenous goat		
	A	B	C
Before	0.0770 (100%)	0.0462 (100%)	0.1128 (100%)
15	0.0770 (100%)	0.0685 (148.3%)	0.1326 (117.6%)
30*	0.1049 (136.2%)	0.0567 (122.7%)	0.1493 (132.4%)
60	0.0756 (98.2%)	0.0553 (119.7%)**	0.1409 (124.9%)**
90	0.0762 (98.9%)	0.0416 (90%)	0.1012 (89.7%)

*$p < 0.005$; **$p < 0.05$; A : 20kg, male, 25㎎/㎖, 0.1㎖ I.M ; B : 20kg, male, 10㎎/㎖, 0.1 ㎖.M ; C : 20kg, male, 25㎎/㎖, 0.1㎖ I.M

Table 6. Serum histamine levels of rabbit injected with Xh(㎍/㎖)

Rabbits	Before and after (minutes) injection		
	Before	After 30 min	After 60 min*
A	1.76046 (100%)	1.89150 (107.4%)	2.48723 (141.3%)
B	1.75929 (100%)	1.59990 (90.9%)	3.82902 (217.6%)
C	2.60738 (100%)	2.52641 (96.9%)	3.52641 (135.3%)
D	3.43176 (100%)	3.16895 (92.3%)	7.76107 (226.2%)
E	1.61029 (100%)	NT#	3.42509 (212.7%)
F	1.93948 (100%)	NT	2.22882 (114.9%)
G	2.29135 (100%)	NT	4.82805 (210.7%)
H	0.76897 (100%)	1.30740 (170%)	NT

A-H : Xh(20㎎/㎖), 0.1~0.2㎖ I.M., #NT : Not test, * $p < 0.001$

점차 감소하였다.

토끼에서 Xh를 투여했을 때 혈청내 히스타민 함량

2.5~4㎏의 토끼에서 Xh를 20㎎/㎖의 농도로 조제하여 0.1~0.2㎖을 근육주사 했을 때 투여 전과 투여 후 각각 30분, 60분에 심장채혈하여 혈청내의 히스타민 함량을 측정한 결과 Table 6과 같다.

토끼에서 Xh를 접종했을 때 심장내 채혈 분리한 혈청에서 접종 전과 접종 후 30분, 60분에서의 히스타민 함량을 측정하였을 때 혈청내 히스타민 함량은 A에서는 30분에서 107.4%로 증가하기 시작하여 60분에서 141.3%로 증가하였고 E에서는 30분에 170%까지 증가하였다. B, C, D에서는 30분에 약간의 감소를 보였지만, 60분에 최고 226.2%까지 증가를 보였다. 전체적으로 보았을 때 접종 60분을 기준하여 114.9%에서 최고 226%까지 모두 증가하였다.

마우스 복강내에서 추출한 mast cell에서 Xh 및 compound48/80 투여후 히스타민 함량

마우스를 후두부 타격으로 희생시킨 후 Locke solution을 복강내 주입하여 추출한 mast cell을 각각의 tube에 동량으로 분주한 후 Xh를 농도별로 접종한 후 히스타민 함량을 측정한 결과 Table 7과 같이 Xh농도가 증가함에 따라 히스타민의 유리량은 증가하였으며 control을 100%로 환산하였을 때 397.1%에서 최고 3,176%까지 유리되었다.

Table 7. Histamine levels released from mast cells(10^{3-4}/mℓ) according to concentration of Xh

Mast cell group*	Xh concentration(mg/mℓ)						
	Control	5***	12.5**	25**	50***	125***	250***
A	0.124322 (100%) #	0.163807 (131.8%)	0.213678 (171.9%)	0.261628 (210.4%)	0.246993 (198.7%)	0.418461 (336.6%)	0.768884 (618.5%)
B	0.213412 (100%)	0.261021 (122.3%)	0.284418 (133.3%)	0.399402 (187.2%)	0.257970 (120.9%)	0.279975 (131.2%)	NT
C	0.122398 (100%)	NT#	0.159881 (130.6%)	0.153447 (125.4%)	0.191129 (156.2%)	0.275081 (224.8%)	0.486031 (397.1%)
D	0.132337 (100%)	NT	0.189520 (143.2%)	0.196413 (148.4%)	0.251701 (190.2%)	NT	NT
E	0.114325 (100%)	NT	NT	0.306165 (267.8%)	0.184981 (161.8%)	0.536883 (469.6%)	1.09386 (956.8%)
F	3.57412 (100%)	NT	NT	4.79721 (134.2%)	4.63550 (129.7%)	29.63 (829%)	45.7 (1278.6%)
G	0.382543 (100%)	0.612458 (160.1%)	NT	0.45387 (118.7%)	2.74538 (717.7%)	9.38219 (2452.6%)	12.15 (3176.1%)
H	1.481630 (100%)	NT	NT	2.02139 (136.4%)	7.54935 (509.5%)	29.77476 (2009.6%)	27.07 (1827%)

Control : Locke solution, #NT : Not test
*The mast cells used in the experiment were harvested from mouse abdominal cavity
**p<0.005, ***p<0.05, #( ) : percentage

Table 8. Histamine levels released from mast cells(10^{3-4}/mℓ) according to concentration of compound 48/80

Mast cell group*	Compound 48/80 concentration(μg/mℓ)		
	Control	5	10
A	0.122398 (100.0)#	0.142966 (116.8)	0.181055 (147.9)**
B	0.114325 (100.0)	NT#	0.200819 (175.7)**
C	3.57412 (100.0)	NT	54.63095 (1528.5)***
D	1.394320 (100.0)	NT	20.98733 (1505.2)***
E	1.97653 (100.0)	NT	66.62028 (3370.7)***

Control : Locke solution, #NT : Not test
*The mast cells used in the experiment were harvested from mouse abdominal cavity
**p < 0.05, ***p<0.04, #( ) : percentage

또한 마우스를 후두부 타격 시킨 후 비만세포를 추출하여 compound 48/80을 투여한 후의 히스타민 유리량을 측정한 결과는 Table 8과 같이 compound 48/80의 농도에 따라 유리량은 많았으며, 10μg/mℓ의 농도에서의 유리량은 147.9%에서 최고 3370.7%까지 유리되었다.

마우스 복강 mast cell의 탈과립

마우스복강에서 추출한 mast cell에서 Xh를 투약했을 때 mast cell이 탈과립하는 것을 관

찰할 수 있었다(Fig 3, 4).

α_1- , α_2- adrenergic anatagonist로 전처치한 후 Xh를 투약했을 때 히스타민 함량

α_2-receptor antagonist인 yohimbine hydrochloride를 토끼의 이정맥을 통해 주사하고 15분 후 Xh를 다시 근육주사한 후 각각의 시간대별로 채혈하여 혈청내 히스타민치를 측정하여 정상치와 비교한 결과 Table 9와 같이 시간의 경과에 따라 점차 감소하였으며 66.1%에서 최고 40.2%까지 감소하였다.

또한 α_1-receptor antagonist인 prazosin hydrochloride를 토끼 이정맥에 주사하고 15분 후 Xh 근육주사한 후 각각의 시간대별로 채혈하여 혈청내 히스타민 함량을 측정하여 정상치와 비교한 결과 Table 10과 같이 시간의 정도에 따라 60.3%에서 최고 40.8%까지 감소하였다.

α_1-receptor antagonist인 prazosin hydrochloride와 α_2-receptor antagonist인 yohimbine hydrochloride를 토끼의 이정맥으로 동시에 주사하고 15분 후 Xh 1㎎/㎏의 용량으로 근육주사한 후 30, 60, 90, 및 120분 후에 각각 채혈하여 혈청내 히스타민 함량을 측정하여 정상치와 비교한 결과 Table 11과 같이 정상에서보다 시간이 경과함에 따라 52.4%에서 최고 40.1%까지 감소하였다. 단, D의 토끼에 있어서는 다른 네 마리(A, B, C, E)에 비하여 낮은 것에 대해서는 개체차이로 사료되나, 감소되는 경향은 동일하였다.

Legends for figures

Fig 3. Normal mast cell(×1,350). Toluidine-blue stain.

Fig 4. Mast cell degranulation by xylazine hydrochloride (×1,350). Toluidine-blue stain.

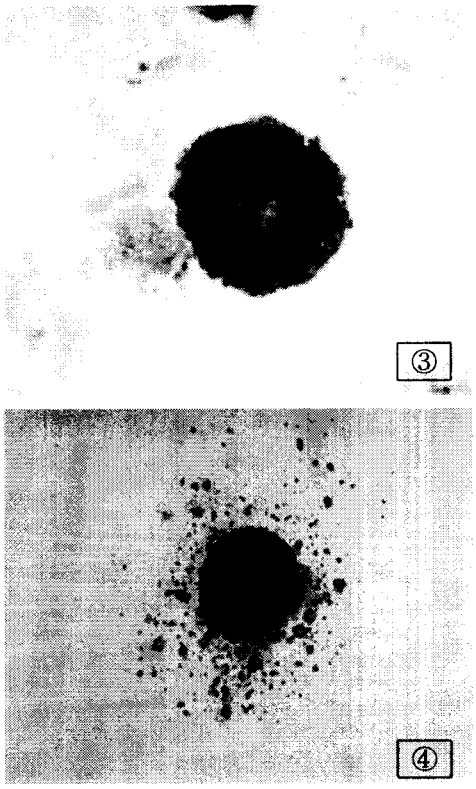


Table 9. Serum histamine levels of rabbit injected with Xh after premedication of yohimbine hydrochloride(㎍/㎖)

Time(min) after injection	Rabbit				
	A	B	C	D	E
Before	3.2602 (100.0)#	2.9479 (100.0)	2.0143 (100.0)	4.0470 (100.0)	1.6012 (100.0)
30*	2.8201 (86.5)	2.8170 (95.6)	1.9015 (94.4)	3.7183 (91.9)	1.4299 (89.3)
60**	2.7321 (83.8)	1.7240 (58.5)	1.6759 (83.2)	3.2741 (80.9)	1.2201 (76.2)
90*	2.1550 (66.1)	1.6832 (57.1)	1.4785 (73.4)	2.8769 (71.1)	1.1144 (69.6)
120*	2.7484 (84.3)	1.1858 (40.2)	1.1341 (56.3)	2.4529 (60.6)	0.8150 (50.9)

*p<0.001, **p<0.005, #( ) : percentage

Table 10. Serum histamine levels of rabbit injected with Xh after premedication of prazosin hydrochloride (㎍/㎖)

Time (min) after injection	Rabbit				
	A	B	C	D	E
Before	3.4813 (100.0)#	4.0878 (100.0)	3.6046 (100.0)	2.3438 (100.0)	2.0116 (100.0)
30**	2.4973 (71.7)	3.6295 (88.8)	2.2940 (63.6)	2.1471 (91.6)	1.6305 (81.1)
60*	2.4966 (71.7)	2.6216 (64.1)	2.0231 (56.1)	1.5318 (65.4)	1.6796 (83.5)
90*	2.0013 (57.5)	2.4721 (60.5)	1.9634 (54.5)	1.4327 (61.1)	0.9389 (46.7)
120**	1.4215 (40.8)	2.1345 (52.2)	3.2632 (90.5)	1.4124 (60.3)	1.5035 (74.7)

*$p < 0.0001$, **$p < 0.005$, #( ) : percentage

Table 11. Serum histamine levels of rabbit injected with Xh after premedication of prazosin hydrochloride and yohimbine hydrochloride(㎍/㎖)

Time (min) after injection	Rabbit				
	A	B	C	D	E
Before	3.9712 (100.0)#	2.6740 (100.0)	4.1383 (100.0)	1.5798 (100.0)	2.8029 (100.0)
30*	3.1566 (79.5)	2.1657 (81.0)	3.4000 (82.2)	1.3270 (84.0)	2.0312 (72.5)
60*	2.4582 (61.9)	1.7382 (65.0)	3.0442 (73.6)	1.2529 (79.3)	1.4687 (52.4)
90*	2.1433 (54.0)	1.5144 (56.6)	2.5324 (61.2)	1.1627 (73.6)	1.3403 (47.8)
120*	1.8913 (47.6)	1.4009 (52.4)	1.6595 (40.1)	0.8017 (50.8)	1.5980 (57.0)

*$p < 0.0001$, #( ) : percentage

고 찰

Rompun(xylazine hydrochloride, Xh)은 대동물과 소동물의 진정, 진통 및 근육이완제로 수의 임상에서 널리 사용되어 왔고 특히 말, 개 및 고양이에서 비교적 안전하다고 하며 반추수에서도 개체차이는 있으나 효과가 우수하다고 한다[1,54].

Xh는 α_2-adrenergic agonist 로서 신경말단에서 calcium의 유입을 억제함으로써 presynaptic α_2-adrenergic receptor를 자극하고 norepinephrine의 분비를 막아 진정작용을 나타내는 것으로 알려져 있다[10,73~75]. Xylazine 투여에 의한 부작용은 서맥, 중추와 말초교감신경 말단에 있는 presynaptic α_2- adrenoceptor에 작용한 결과 심한 저혈압, 고창증, 유산 등이 알려져 있다[76,77].

Uggla 및 Lindgvist[46]는 Rompun을 투여한 면양에서 anaphylaxis에 의한 shock사를 추정한 바 있고, 오 및 이[54]는 Rompun을 투여한 실험동물에서 폐의 충출혈과 수종 및 기타 장기의 고도의 충혈에 의한 순환혈량의 감소를 일으킨다고 보고한 바 있다. 그리고 김 및 이[55]는 Rompun을 투여한 개에서 mast cell의 탈과립 소견을 광학현미경적으로 관찰하여 Rompun에 의한 shock사를 추측한 바 있으며 또한 김과 이[56~58]는 Xh에 의한 shock사의 발생은 mast cell의 탈과립에 의한 것으로 추측한 바 있다. Mast cell표면에는 α와β의 두 type의 adrenergic adrenoceptors가 있기[48] 때문에 α_2-adrenergic agonist인 Xh를 투여시 mast cell에서 탈과립이 일어나고, 과립속의 히스타민이 유리되는 것이라 사료된다.

본 실험에서는 각종동물의 혈청내 히스타민

함량의 정상농도를 측정하고, 또한 Xh의 혈청내 히스타민유리와 상관 관계를 알아보고, 동시에 α_1- 및 α_2-adrenergic receptor와 히스타민 유리와의 관계를 규명하고자 본 실험을 실시하였다.

생체 시료중의 히스타민의 분석은 Shore 등[62]이 1959년 O-phthalaldehyde (OPA)를 형광 시약으로 하여 형광 광도법으로 분석한 이래로 OPA[63~65]와 fluorescamine 등을 형광 유도체화한 HPLC법[66], 효소동위원소법[67,68], GC-MS법 등[69,70]을 이용한 연구가 보고되어 있다.

최근 유 등[71]이 9-Fluorenylmethyl chloroformate(9-Fluorenyl ethoxy-carbonyl chloride, FMOC)를 형광유도체화제로 사용하여 전처리 조작이 비교적 간단하고 재현성이 큰 히스타민 정량법을 확립 보고한 바 있다. 또한 이 등[72]은 일반적인 HPLC-fluorimety측정법과 직접형광측정법을 비교 분석함으로써 빠른 시간내에 경제적으로 많은 시료를 재현성 있게 분석할 수 있는 방법을 제시하였고 현재까지 발표된 연구를 토대로 최적의 상태를 얻기 위한 pH, OPA 농도, 온도, 반응시간 등을 제시하였다. 우선 본 실험에서는 히스타민 측정 방법으로서 유 등[71]의 방법과 비교하였다. HPLC의 분석조건을 column은 μ-Bondapak C_{18}, mobile phase는 65% acetonitrile, flow rate는 1.5 ㎖/min, column온도는 ambient, injection volume은 20$\mu\ell$, fluorescence detector를 사용하였으며 파장은 λ_{ex}=260nm, λ_{em}=316nm로 하였다. 시료는 히스타민 표준시료를 사용하였으며, FMOC 농도는 3mM, 반응시간은 5분 이내로 하여 히스타민 표준시료를 측정하였다. Fig 1에서 보는 바와 같이 retention time은 4.33분이었고, 히스타민의 chromatogram peak와 용매의 chromatogram peak가 중첩이 되고 히스타민의 양이 많아질수록 peak area가 명확하지 않고 상관계수가 0.907로 너무 낮아 본 실험에 사용할 수 없었다(Table 1).

또한 이 등[72]의 방법은 빠른 시간내에 경제적으로 많은 시료를 재현성있게 분석하는 방법을 제시하였지만 전처리 과정이 복잡하기 때문에 본 실험에서는 유 등[71] 과 이 등[72]의 방법을 수정 보완하여 다음과 같이 적용하였다. 즉, HPLC 분석조건을 column은 Mos-Hypersil (C_8), mobile phase는0.004M KH_2PO_4(pH 3.5)와 CH_3CN 비율을 30 : 70(v/v)으로 만들고 flow rate 1.0㎖/min, column 온도는 27℃, 주입량은 50$\mu\ell$, fluorescence detector, 파장은 λ_{ex}= 350nm, λ_{em}=444nm로 하였으며, 시료 전처리는 butanol, 0.1N HCl, haptane을 이용하였고 1N NaOH, 0.1% OPA를 사용하여 발색시키고 3.57N H_3PO_4를 이용하여 발색을 중지 시켰다. 표준 히스타민을 이용하여 히스타민을 측정해 본 결과는 Fig 2와 같이 retention time은 13.84분으로 아주 양호한 단일 peak를 나타내었고 상관계수는 0.9999로 양호(Table 1)한 결과를 얻었다. 따라서 이하 모든 실험은 보완된 방법으로 진행하였다.

각종 동물의 정상혈청내에서 히스타민 함량을 측정한 결과 토끼, 랫트, 기니픽, 개, 산양, 돼지, 한우, 마우스, 젖소 순으로 높았으며, 히스타민 함량 평균치±표준편차는 각각 2.0668±0.6049, 0.4999±0.2278, 0.4241±0.1974, 0.1054±0.0556, 0.1028±0.0276, 0.0972±0.0513, 0.0872±0.0373, 0.0717±0.0379, 0.0706±0.0366μg/㎖이었다. 본 실험에서 토끼가 혈청내 히스타민 함량이 가장 높았기 때문에 주로 토끼를 이용하여 실험하였다. Biology data[78]에서 개의 혈장 또는 혈청내 히스타민 함량은 연구자에 따라서 0.11 (0.07~0.18)μg/g, 0.168(0.084~0.258)μg/g이었고, 토끼의 혈장내에서는 1.47μg/㎖, 전혈내에서는 0.28μg/㎖이었으며, 집쥐(*Rattus novegicus*)의 혈장에서는 1.70μg/㎖, 랫트는 최저 0.51μg/㎖에서 최고 1.07μg/㎖, 기니픽속(*Cavia porcellus*)은 혈장내에서 1.81μg/㎖, 소과(*Bos taurus*) 혈청내에서는 0.165μg/㎖을 나타내었다. 이[79]와 본 실험 결과를 비교해 보면 개와 랫트에서는 히스타민 함량이 비슷한 수준이며, 랫트와 *R novegicus*의 비교에서는 랫트가 약간 낮은 편이고, 기니픽은 *C porcellus*보다 낮으며, *B taurus* 보다 한우나 Holstein이 약간 낮은 편이다. 이러한 결과는 실험자와 실험방법, 사육환경조건, 계절적 요인, 종간의 차이 등에 의한 차이라고 사료된다. 특히 정 등[79]의 자료에 의하면

말의 경우 혈장에서 한여름의 경우(10두 검사) 히스타민 함량은 1.14㎍/㎖이었지만, 봄(4두검사) 0.58㎍/㎖, 여름(4두검사) 0.82㎍/㎖, 가을(4두검사) 0.96㎍/㎖, 겨울(4두검사) 0.48㎍/㎖이었다. 이를 볼 때에도 계절별 요인에 의해서도 차이가 있음을 알 수 있었다.

2-4산의 600~700kg의 젖소에서 Xh 20㎎/㎖ 농도로 1㎖/100kg의 용량으로 근육주사 한 후 15, 30, 60, 90 및 120분에서 히스타민 함량을 측정한 결과 투약 후 30, 60 및 90분에서 유의성이 있는 증가(p<0.05)를 보였다. 투약 후부터 혈액내 히스타민치가 점차로 증가되면서 A, B, D의 경우는 투약 후 90분대에서 각각 220.6, 267.8, 및 238.4%로 최고치를 나타내었으며, C의 경우는 투약 후 60분대에서 167%로 최고치를 나타내었고 이후 감소하였다.

2.5~4.3kg의 잡종개에 Xh를 20㎎/㎖농도로 체중 10kg당 0.15㎖ 근육주사하여 시간대별 혈액을 채취하여 혈청내 히스타민 함량을 측정한 결과 투약 후 60분과 90분에서 유의성 있는 증가(p<0.05)가 있었으며, 그중 B와 D는 투약 후 120분대에서 329.4, 및 360%로 증가하였고, A는 60분대에서 226.8%, C는 90분대에서 146.1%로 최고치를 나타내었으며 그 이후는 감소하였다. 5개월령 이상된 재래산양에서 Xh를 10~25㎎/㎖의 농도로 0.1㎖ 근육주사하고 시간대별로 채혈하여 혈청내 histmaine치를 측정하였던 바 시간이 지남에 따라 30분(p< 0.005)과 60분대 (p<0.05)에서 유의성있게 증가하였고, A와 C는 접종 후 30분에서 각각 136.2%, 132.4%로 최고치를, B는 접종 후 15분대에 148.3%로 최고치를 나타내었고 그 이후는 점차 감소하였다. 2.5kg~4kg 수컷의 토끼에서 Xh를 20㎎/㎖농도로 0.1~0.2㎖ 근육주사 했을 때 시간대별로 채혈하여 혈청내 히스타민치를 측정하였던 바 접종 후 60분에서 유의성있게 증가하였으며 (p<0.001), D에서는 226.2% 까지 증가하였다.

마우스의 복강에서 추출한 비만세포에서 Xh를 농도별로 접종한 후 히스타민 유리양을 측정하였던 바 유의성 있게 증가하였다(p<0.05). 마우스의 복강에서 추출한 비만세포 200㎕씩 분주한 다음 실온에서 15분간 방치한 후 히스타민 함량치를 측정한 결과 농도가 높을수록 유의성 있게 증가함을 알 수 있었다(p<0.05). 추출한 비만세포에서 compound 48/80을 접종한 결과 10㎍/㎖에서 유의성(p<0.05)있게 증가하였으며 히스타민 유리량을 Xh compound 48/80을 비교하였을 때 compound 48/80이 Xh보다 약 10,000배~500,000배가 강함을 알 수 있었다.

이 등[55]은 Rompun을 개에 투여하여 mast cell 탈과립 소견을 관찰했던 결과 근육주사한 예와 피하주사한 예에서도 각 장기에 출현하는 mast cell의 탈과립 소견을 관찰 할 수 있었으며, Romun을 피내 주사한 예에서도 경시적으로 관찰해 본 결과 주사 후 30분부터 mast cell이 차차 감소하여 주사 후 2시간째 가장 소수로 출현하였으며, 3시간째부터 mast cell 수가 증가하는 경향이 있고, mast cell에 출현하는 과립수에 있어서도 감소하며, 2시간째에 현저한 탈과립 소견을 관찰할 수 있었다고 하였다. 본 실험에서는 각종 동물에 Xh를 근육주사 했을 때 젖소에서는 90분, 개에서는 120분, 재래산양에서는 30분에서 히스타민 유리량이 최고치 임을 알 수 있었으며 이것은 동물 종간의 차이라 사료되고 특히 개에서 120분에서 히스타민량이 최고치가 된 것은 이 등[55]이 주장한 Rompun을 투여한 후 2시간째에 mast cell수 감소 및 mast cell내의 현저한 탈과립과 관계가 깊은 것으로 사료된다.

Mast cell 표면에는 α와 β두 type의 adrenoceptor가 있고 α-receptor를 자극하거나 β-receptor를 차단하면 탈과립을 높인다고 하였다[50]. 이 등[55]의 주장과 본 실험에 이루어 볼 때 Xh가 mast cell 탈과립을 높여서 히스타민 유리량을 높게 한다고 사료된다. 그러나 α-receptor 중에 α_1 과 α_2-receptor중 특히 어느 receptor에 작용하여 mast cell 탈과립을 높이는 가를 알아보기 위해서 α_1, α_2- adrenergic antagonist를 사용하여 실험하였다. α_2-receptor의 대표적인 antagonist인 yohimbine hydrochloride로 토

끼의 이정맥에 1㎎/㎏ 용량으로 근육주사한 후 각 시간대별로 채혈하여 혈청내 히스타민치를 측정해 본 결과 시간이 지남에 따라 유의성 있게 감소하였다 ($p<0.001$). B, C, D 및 E에서는 120분에 최고로 감소하였으며 66.1%에서 최고 40.2%까지 감소하였다. 이 결과는 Xh가 α_2-adrenergic antagonist인 yohimbine hydrochloride에 의해 차단되는 것으로 사료된다.

또한 α_1-adrenergic antagonist인 prazosin hydrochloride로 토끼에 1㎎/㎏ 용량으로 전처치한 후 Xh 1㎎/㎏용량으로 근육주사하고, 각 시간대별로 채혈하여 혈청내 히스타민치를 측정해 본 결과 시간이 지남에 따라 유의성 있게 감소함을 알 수 있었다($p<0.005$). 특히 A, B, D에서 투약 후 120분에서 60.3%에서 최고 40.8%까지 히스타민치가 감소하였다. 이 결과는 Xh에 의한 탈과립이 α_1- adrenergic antagonist인 prazosin hydrochloride에 의해 차단된다는 것을 알 수 있었다.

α_1, α_2-adrenergic anatagonist[80~83]인 prazosin hydrochloride와 yohimbine hydrochloride를 동시에 토끼의 이정맥으로 각 1㎎/㎏ 용량으로 전처치한 후 Xh 1㎎/㎏으로 적용하고 시간대 별로 혈액을 채취하여 히스타민치를 측정한 결과 유의성 있게 감소하였다($p<0.0001$). A, B, C 및 D에서 투약후 120분대에서 최고의 감소를 나타내었으며 52.4%에서 최고 40.1%까지 감소하였다. 이 결과는 α_1- adrenergic antagonist와 α_2-adrenergic anatagonist 각각의 단독투여와 동시투여에서 혈액내 히스타민 감소치는 크게 차이가 없었으며 α_1-, α_2-adrenergic receptor 모두에 작용하는 것으로 사료된다.

오 등[54]은 mast cell 종양이 있는 동물에 Rompun 투여에 대해서는 세심한 주의가 요구된다고 하였다. 이는 mast cell의 탈과립이 Rompun에 의해 일어나는 부작용으로 사료되며, 본 실험의 결과로 미루어 보아도 Xh를 각 종동물에 투여시 mast cell의 탈과립에 의한 혈청내 히스타민 함량이 증가하며 Xh는 α_1-, α_2-adrenoceptor 모두에 작용하여 탈과립을 유도하는 것으로 사료된다.

결 론

진정, 진통 및 근육이완제로 널리 사용되고 있는 xylazine hydrochloride (Xh)를 흰쥐, 토끼, 개에게 투여한 바 mast cell의 탈과립 소견이 보고된 바 있다.

본 실험에서는 각종동물의 혈청내 히스타민 함량의 정상농도를 측정한 후 Xh와 혈청내 히스타민 유리와의 상관 관계를 추구하고 동시에 α_1- 및 α_2-adrenergic receptor와 히스타민 유리와의 관계를 규명하고자 본 실험을 실시하였으며, 그 결과는 아래와 같다.

1. OPA 형광유도체화하여 HPLC로 혈청내 히스타민 함량을 측정하였으며 전처리 방법은 기존의 방법을 약간 수정하여 혈청 0.2㎖에 butanol 1㎖를 첨가, 혼합하고 4℃, 2,000rpm으로 3분간 원심하여 상층액 0.8㎖을 채취하였다. 여기에 0.1N HCl 0.4㎖, heptane 1.6㎖을 넣고 혼합한 후 4℃, 2,000rpm, 5분간 원심하여 상층액을 버리고 하층액 0.2㎖로 OPA 형광유도체화 하였다. 채취한 하층액 0.2㎖에 0.1N HCl 400㎕, 1N NaOH 120㎕, 0.1 % OPA 40㎕를 혼합한 후, 5분 후에 3.57N H_3PO_4 120㎕ 넣어 발색을 중단시킨 후 0.45㎛ syringe filter하여 50㎕를 주입하였다. HPLC 분석조건은 Mos-Hypersil(C_8)을 사용하였고 mobile phase는 0.004M KH_2PO_4와 CH_3CN을 30 : 70(v/v), flow rate는 1.0㎖/min, detector는 fluorescence detector, 측정파장은 λex= 350nm, λem=444, column의 온도는 27℃로 하여 측정하였다.
2. 각종 실험동물별 정상혈청내에서의 히스타민 함량은 토끼가 가장 높았고 랫트, 기니픽, 개, 산양, 돼지, 한우, 마우스, 젖소 순으로 높았으며 히스타민 함량 평균치±표준편차는 각각 2.0668±0.6049. 0.4999±0.2278, 0.4241±0.1974, 0.1054±0.0556, 0.1028±0.0276, 0.0972±0.0513, 0.0872±0.0373, 0.0717±0.0379, 0.0706±0.0366㎍/㎖ 이었다.
3. 2-4산의 젖소에서 Xh 20㎎/㎖농도로 1㎖

/100kg의 용량을 근육주사한 후 주사 후 15, 30, 60, 90 및 120분에서 히스타민 함량을 측정한 결과 30, 60 및 90분에서 유의성 있는 증가를 보였다($p<0.05$).

4. 2.5-4.3kg의 잡종개(수컷)에 Xh를 20mg/mℓ 농도로 0.15mℓ/10kg용량으로 근육주사한 후 주사후 30, 60, 90 및 120분에서 히스타민 함량을 측정한 결과 60분과 90분에서 유의성 있는 증가를 보였다($p<0.05$).
5. 5개월령전 후의 재래 산양(수컷)에서 Xh를 10~25mg/mℓ의 농도로 0.1mℓ근육주사하고 주사후 15, 30, 60 및 90분에서 혈청내 히스타민 함량을 측정한 결과 30분과 60분에서 유의성 있는 증가를 나타내었다($p<0.05$).
6. 2.5~4kg토끼(수컷)에 Xh를 20mg/mℓ의 농도로 0.1~0.2mℓ 근육주사 했을 때 주사 후 30분과 60분에서 히스타민 함량을 측정한 결과 60분에서 유의성 있는 증가가 있었다($p<0.001$).
7. 마우스의 복강에서 추출한 mast cell에 Xh를 10~500mg/mℓ농도로 투약한 후 혈청내 히스타민 함량을 측정한 결과 Xh 농도가 증가할수록 유의성 있게 증가하였다($p<0.05$).
8. 마우스의 복강에서 추출한 mast cell에 compund 48/80을 5 및 10μℓ/mℓ 농도로 투약한 결과 10μℓ/mℓ에서 유의성 있는 히스타민 함량의 증가($p<0.05$)를 보였으며, 히스타민 유리량으로 비교해 보았을 때 같은 농도의 Xh에서보다 약 10,000배에서 500,000배 수준의 강한 작용을 하는 것으로 사료된다.
9. α_2-adrenergic antagonist 인 yohimbine hydrochloride를 토끼에 1mg/kg 용량으로 전처치한 후 Xh를 투여한 결과 혈청내 히스타민치가 유의성 있게 감소하였다($p<0.001$).
10. α_1-adrenergic antagonist 인 prazosin hydrochloride를 토끼에 1mg/kg 용량으로 전처치한 후 Xh를 투여한 결과 혈청내 히스타민 치가 유의성 있게 감소하였다($p<0.005$).
11. α_1-, α_2-adrenergic antagonist인 prazosin hydrochloride와 yohimbine hydrochloride로 동시에 전처치한 후 Xh를 투여한 결과 혈청내 히스타민치가 유의성 있게 감소하였다($p<0.0001$).

이상의 결과로 미루어 볼 때 Xh를 각종동물에 투여하면 혈청내 히스타민 유리량이 증가하며 이와 같은 결과는 Xh가 α_1- 및 α_2-adrenoceptor 모두에 작용하여 mast cell의 탈과립을 유도하는 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Adams HR. 1996. *Veterinary pharmacology and therapeutics*. 7 ed, Iowa State University Press, Iowa, Ames : 108~403.
2. Erew GM. 1976. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonist pre- and postsynaptically located alpha-adrenoceptors. *Eur J Pharmacol* 36 : 313~320.
3. Colby ED, Sanford TD. 1980. Effect of xylazine and ketamine on blood pressure, heart rate and respiratory rate in rabbits. *Lab Anim Sci* 30 : 519~523.
4. Greene SA, Thurmon JC. 1988. Xylazine - a review of its pharmacology and use in veterinary medicine. *J Vet Pharmacol Therap* 11 : 295-313.
5. 서강문, 윤정희, 정종태 등. 1992. 염소의 xylazine 진정에 대한 전침자극의 길항효과. 대한수의학회지 32 : 683-688.
6. 장광호, 정종태, 남치주. 1991. 소에서 xylazine에 의한 경막외마취의 임상응용. 대한수의사회지 27 : 675-677.
7. 정종태. 1991. 돼지에서 xylazine에 의한 경막외마취. 대한수의학회지 31 : 519-522.
8. 김길수, 박준형. 1988. 닭의 근위운동에 미치는 xylazine hydrochloride, yohimbine hydrochloride 및 4-aminopyridine의 영향.

대한수의학회지 28 : 37-47.
9. McCashin FB, Gabel AA. 1975. Evaluation of xylazine a sedative and preanesthetic agent in horses. *Am J Vet Res* 36 : 1421~1429.
10. Hsu WH. 1981. Xylazine induced depression and its antagonism by alpha-adrenergic blocking agents. *J Pharmacol Exp Ther* 218 : 188~192.
11. Clough DP, Hatton R. 1981. Hypotensive and sedative effects of an adrenoceptor agonist : relationship to α_1 and α_2 adrenoceptor potency. *Br J Pharmacol* 73 : 595~604.
12. Kobinger W, Pichler L. 1982. Alpha adrenoceptor subtypes in cardiovascular regulation. *J Cardiovasc Pharmacol* 4 : S81~85.
13. Colby ED, McCarthy LE, Borison HLJ. 1981. Effect of xylazine on the chemoreceptor trigger zone for vomitting in cats. *Vet Pharmacol Ther* 4 : 93~96.
14. Amend JE, Klavano PA. 1973. Xylazine : a new sedative analgesic with predictable emetic properties in the cat. *VMSAC* 68 : 741~744.
15. Moye RJ, Pailet A, Smith MW. 1973. Clinical use of xylazine in dogs and cats. *VMSAC* 68(3) : 236.
16. 양일석, 권오경, 우홍명 등. 1999. 개에서 Halothane 마취시 전마취제로서 xylazine / fentanyl / azaperone과 vedetomidine / midazolam 및 이들 길항제와의 병용이 마취효과 및 심맥관계에 미치는 영향. 대한수의학회지 39 : 616~627.
17. Tranquilli WJ, Thurmon JC, Corbin JE, et al. 1984. Haolthane-sparing effect of xylazine in dogs and subsequent reversal with tolazoline. *J Vet Pharmacol Ther* 7 : 23~28.
18. Tranquilli WJ, Thurmon JC, Benson GJ, et al. 1986. Alteration in the arrhythmogenic dose of epinephrine(ADE) following xylazine administration to halothane anesthetized dogs. J Vet Pharmacol Ther 9 : 198~203.
19. 장혜숙, 장인호. 1998. 개에서 tiletamine-zolazepam, tiletamine-zolazepam-xylazine 및 ketamine-xylazine의 마취효과. 대한수의학회지 38 : 401~412.
20. 김지완, 장인호. 1999. 개에서 xylazine 전투여가 propofol 마취에 미치는 영향. 한국임상수의학회지 16 : 86~94.
21. 김동준, 최민철, 성재기. 1990. Xylazine과 pentobarbital로 마취한 개에서 yohimbine과 4-aminopyridine 투여가 위십이지장 통과 시간에 미치는 영향. 대한수의학회지 30 : 113~121.
22. Dunkle N, Moise NS, Kranz JS, et al. 1986. Cardiac performance in cats after administration of xylazine or xylazine and glycopyrrolat : Echocardiographic evaluations. *Am J Vet Res* 47 : 2212~2216.
23. Nowrouzian I, Schels HP, Ghodsian I, et al. 1981. Evaluation of the anaesthetic properties of ketamine and a ketamine/xylazine/atropine combination in sheep. *Vet Rec* 108 : 354~356.
24. Thurmon JC, Nelson DR, Hartsfield SM, et al. 1978. Effects of xylazine hydrochloride on urine in cattle. *Aust Vet J* 54 : 178~180.
25. Symonds HW, Mallinson CB. 1978. The effect of xylazine followed by insulin on blood glucose and insulin in the dairy cow. *Vet Rec* 102 : 27~29.
26. Benson GJ, Thurmon JC. 1979. Anesthesia of swine under field conditions. *JAVMA* 174 : 594~596.
27. Kumar A, Thurmon JC. 1979. Cardiopulmonary, hemocytologic and biochemical effects of xylazine in goats. *Lab Anim Sci* 29 : 486~491.
28. Dale HH, Laidlaw PP. 1910. The physio-

logical action of β-iminazolylethylamine. *J Physiol*(Lond) 41 : 318~344.
29. Barnes PJ, Belvisi MG, Rogers DF. 1990. Modulation of neurogenic inflammation : Novel approaches to inflammatory disease. *TIPS* 11 : 185~189.
30. Falus A, Meretey K. 1992. histamine, an early messenger in inflammatory and immune reactions. *Immunol Today* 13 : 154~156.
31. 수의 약리학 및 독성학 강의담당교수 협의회. 1997. 최신 수의약리학. 경북대학교 출판부, 대구 : 55~464.
32. Mitsuhashi M, Payan DG. 1992. Functional diversity of histamine and histamine receptors. *J Invest Dermatol* 98 : 8S-11S.
33. Obrins KJ. 1991. histamine and gastric acid secretion. *Scand J Gastroenterol* 26(Suppl 180) : 4~8.
34. Pearce FL. 1991. Biological effects of histamine : an overview. Agents and actions(UK) 33 : 4~7.
35. Goth A, Johnson AR. 1975. Current concepts on the secretory function of mast cells. *Life Sci* 16 : 1201~1213.
36. Davis LE. 1984. Hypersensitivity reactions induced by antimicrobial drugs. *JAVMA* 185 : 1131~1136.
37. Newball HH, Donlon MA, Procell LR, et al. 1986. Organophosphate-induced histamine release from mast cells. *J Pharmacol Exp Ther* 238 : 839~845.
38. Read GW, Knoohuizen H, Goth A. 1976. Relationship between phospatidylserine and cromolyn in histamine release. *Eur J Pharmacol* 42 : 171~177.
39. Black JW, Duncan WA, Durant CJ, et al. 1972. Definition and antagonism of histamine H_2-receptors. *Nature* 236 : 385~390.
40. Ash AS, Schild HO. 1966. Receptors mediating some actions of histamine. *Br J Pharmacol* 27 : 427~439.
41. 윤병철, 한호재, 한방근. 1994. 소의 제1위 평활근 운동성에 대한 histamine의 효과. 대한수의학회지 34 : 471~478.
42. 노규진, 박상은, 심철수 등. 1994. 돼지 난관 협부 평활근의 운동성에 대한 acetylcholine, norepinephrine, histamine 및 prostaglandin $F_{2\alpha}$의 작용. 대한수의학회지 34 : 493~500.
43. Mavier IM, Clerici C, Franco-Mentoya ML, et al. 1988. Mechanism of histamine-induced epinephrine. *Exp Ther* 247 : 706~709.
44. Arang JM, Garbarg M, Lancelot JC, et al. 1987. Highly potent and selective ligands for histamine H_3-receptors. *Nature* 327 : 117~123.
45. Starke K. 1981. Presynaptic receptors. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 21 : 7~30.
46. Ltoh Y, Oishi R, Adachi N, et al. 1992. A highly sensitive assay for histamine using ion-pair HPLC coupled with postcolumn fluorescent derivatization : Its application to biological specimens. *J Neurochem* 58 : 884~889.
47. Ehrlich P. 1877. Beitrage zur Kenntnis der Anilinfarbunger und Ihrer Verwendung in der Mikroskopischen Technik. *Arc Mikros Ant* 13 : 263.
48. Tizard IR. 1996. *Veterinary immunology.* 5 ed. WB. Saunders Co, Philadelphia : 346~358.
49. Galli SJ. 1987. New approaches for the analysis of mast cell maturation, heterogeneity and function. *Fed Proc* 46 : 1906~1914.
50. Jarrett EE, Haig DM. 1984. Mucosal mast cells *in vivo* and *in vitro*. *Immunol Today* 5 : 115~118.
51. Stevens RL, Austin KF. 1989. Recent advances in the cellular and molecular biology of mast cells. *Immunol Today* 10 : 381~386.

52. Maggi A, U'Prichard DC, Enna SJ. 1980. Beta-adrenergic regulation of alpha-2 adrenergic receptors in the central nervous system. *Science* 207 : 645~646.
53. Uggla A, Lindgvist A. 1983. Acute pulmonary edema as an adverse reaction to the use of xylazine in sheep. *Vet Rec* 113 : 42~43.
54. 오규실, 이차수. 1984. Rompun을 투여한 흰쥐 가토 및 견의 실질장기에 대한 조직학적 관찰. 대한수의학회지 24 : 127~136.
55. 김태환, 이차수. 1985. 우, 마, 돈 및 견의 실질장기내 mast cell분포와 rompun을 투여한 견의 mast cell 탈과립 소견. 대한수의학회지 25 : 113~124.
56. 김태환, 이차수. 1990. Rat mammary carcinoma의 발육에 있어서 비만세포의 영향에 관한 병리조직학적 연구 1. DMBA투여에 의한 발암과 비만세포의 분포상황. 대한수의학회지 30 : 447~457.
57. 김태환, 이차수. 1991. Rat mammary carcinoma의 발육에 있어서 비만세포의 영향에 관한 병리조직학적 연구 2. 종양발육에 있어서 mast cell mediator의 영향. 대한수의학회지 31 : 77~87.
58. 김태환, 이차수. 1991. Rat mammary carcinoma의 발육에 있어서 비만세포의 영향에 관한 병리조직학적 연구 3. 종양발육에 미치는 xylazine의 효과. 대한수의학회지 31 : 343~353.
59. Cochrane DE, Douglas WW. 1974. Calcium-induced extrusion of secretory granule (exocytosis) in the mast cells exposed to 48/80 or the inopores A-2317 and X-537A. *Proc Nat Acad Sci* 71 : 408~412.
60. Hedler L, Stamm,G, Weitzell R, et al. 1981. Functional characterization of central alpha-adrenoceptors by yohimbine diastereomers. *Eur J Pharmacol* 70 : 43~52.
61. Hsu WH, McNeel SV. 183. Effect of yohimbine on xylazine-induced prolongation of gastrointestinal transit in dogs. *JAVMA* 183 : 297~300.
62. Shore PA, Burkhalter A, Cohn VH. 1959. A method for the fluorometric assay of histamine in tissues. *J Pharmacol Exp Ther* 127 : 182~186.
63. Tsuruta Y, Kohashi K, Ohkura Y. 1978. Determination of histamine in plasma by high-speed lipuid chromatography. *J Chromatogr* 146 : 490~493.
64. Yamatodani A, Fukuda H, Wada H. 1985. High performance liquid chromatographic determination of plasma and brain histamine without previous chromatography coupled with post-column. *J Chromatogr* 344 : 115~123.
65. Davis JP, Gehrke CW, Gehrke CW Jr. et al. 1979. High performance liquid chromatographic analysis of biogenic amines in biological materials as o-phthalaldehyde derivatives. *J Chromatogr* 162 : 293~310.
66. Bettero A, Angi MR, Moro F, et al. 1984. histamine assay in tears by fluorescamine derivatization and high performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 310 : 390~395.
67. Harvima RJ, Harmima IT, Fraki JE. 1988. Optimization of histamine radio enzyme assay with purified histamine-N-methyltransferase. *Clinica Chimica Acta* 171 : 247~256.
68. Verburg KM, Bowsher RR, Henry DP. 1984. Kinetic analysis of the histamine N-methyltransferase reaction as used in the histamine radioenzymatic assay : Optimization of assay specificity. *Life Sci* 35 : 241~251.
69. Vita H, Yasueda H, Shida T. 1980. Simultaneous determination of histamine and N tau-methyl in human plasma and urine by gas chromatography-mass spec-

trometry *J Chromatogr* 221 : 1~7.
70. Yasueda M, Shida H. 1980. Quantitative analysis of histamine in biological samples by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr* 181 : 153~159.
71. Ryn HC, Kim HR, Kim SH, et al. 1996. Determination of histamine by reverse-phase high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Anal Sci Techn* 9 : 198~202.
72. Rhee JS, Kim YS, Cha KS, et al. 1997. A study on the analysis of histamine by spectrofluorimetry. *Anal Sci Techn* 10 : 43~52.
73. Goldberg, M.R., Robertson, D. : Yohimbine : A Pharmacological probe for study of the alpha-2 adrenoceptor. Pharmacol. Rev., 35 : 143~180, 1983.
74. 김충희, 하대식, 김양미 등. 1993. Xylazine의 진정효과와 α-adrenergic수용체 봉쇄약물의 길항효과. 대한수의학회지 33 : 71~80.
75. 신동호. 1990. 가토에서 xylazine의 혈압하강 효과에 대한 yohimbine의 길항작용. 대한수의학회지 30 : 277~281.
76. Hatch RC, Booth NH, Clark JD, et al. 1982. Antagonism of xylazine sedation in dogs by 4-amino-pyridine and yohimbine. *Am J Vet Res* 43 : 1009~1014.
77. Kobinger W. 1978. Central α adrenergic systems as targets for hypotensive drugs. Reviews in physiology. *Biochem Pharmacol* 81 : 39~100.
78. Altman PL, Dorothy SD. 1972. *Biology data book*. 2 ed, Federation of American Societies for Experimental Biology, Vol 1 : 1494~1547.
79. 정순동. 1996. 가축과 실험동물의 생리자료. 광일문화사, 서울 : 25~549.