大韓獸醫學會誌(2005) 第45卷 第1號
Korean J Vet Res(2005) 45(1) : 121~125

뇌하수체 제거술이 수행된 랫트의 혈액학 및 혈액화학적 소견

김남중* · 김명철[1]
혜천대학 애완동물자원과
[1]충남대학교 수의과대학
(게재승인: 2005년 1월 9일)

Hematological and blood chemical findings in hypophysectomized rats

Nam Joong Kim*, Myung-Cheol Kim[1]
Companion Animal Science, Hyechon College, Daejeon 302-715, Korea
[1]College of Veterinary Medicine, Chungnam National University, Daejeon 302-764, Korea
(Accepted: January 9, 2005)

Abstract : The present study was carried out to produce the hematological and blood chemical findings after hypophysectomy in rats. Hypophysectomy was performed by the parapharyngeal method and the sham surgery was performed for the control group. Two weeks after the operation, the body weight of the hypophysectomized and control rats was measured daily for 5 days. We deleted the rats the weight gain of which is less than 5 g during 5 days from the hypophysectomy group. The successful operation rate was approximately 40%. In the hypophysectomized and control rats, their blood samples were collected from posterior vena cava after celiotomy under generally anesthesia with ether. Hematological parameters such as erythrocyte count, leukocyte count, hemoglobin concentration, hematocrit level, and platelet count were determined by Animal Blood Counter. The erythrocyte count, hemoglobin concentration, and hematocrit level were lower significantly ($p<0.01$), and the leukocyte count was lower significantly ($p<0.05$) in hypophysectomy group compared with control group. But the plate count did not show significant difference ($p>0.05$) between hypophysectomy group and control group. Also, blood chemical parameters such as glucose, blood urea nitrogen (BUN), aspartate animotransferase, albumin, total protein, cholesterol, calcium, and magnesium in serum were determined. Except BUN concentration, all parameters were not affected by hypophysectomy. But the BUN concentration was higher significantly ($p<0.01$) in hypophysectomy group compared with control group.

Key words : hypophysectomy, hematological findings, rat

서 론

뇌하수체는 뇌의 저부와 접형골의 상부에 위치한 조그만 원형 모양의 분홍 빛깔을 띤 기관으로서 시상하부와 연결되어 있다. 뇌하수체는 growth hormone, adrenocorticotropic hormone, luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, vasopressin, oxytocin 등을 분비하는 호르몬의 보고이다 [11, 16]. 최근에 생명과학기술의 발전으로 이런 여러 가지 호르몬들은 DNA 재조합 기술로 대량 생산할 수 있게 되므로, 이런 호르몬들의 생체 활성을 측정하기 위한 모델 동물 개발의 필요성이 제기되었다. 그러므로 수술적 방법을 도입해 뇌하수체를 적출해내므로, 뇌하수체 호르몬들이 분비되지 않는 모델 동물을 개발하게 되었다 [18]. 뇌하수체 호르몬들 중에서도 이미 성장 호르몬과 같은 경우에는 의학 분야에서 왜소증 치료에 널리 사용되고 있으며 [15], 또한 수의 축산 분야에서도 산유 촉진과 성장 촉진을 위해 사용되고 있다 [2]. 성장 호르몬을 연구한 많은 문헌에서 뇌하수체 제거술(hypophysectomy)을 사용하여 생산된 모델 동물로 성장 호르몬의 생리 활성을 측정하기 위한

*Corresponding author: Nam Joong Kim
Companion Animal Science, Hyechon College, Daejeon 302-715, Korea
[Tel: +82-42-580-6216, Fax: +82-42-580-6320, E-mail: njkim@hcc.ac.kr]

weight gain assay를 수행하였다 [6, 15]. 이런 성장 호르몬의 생리 활성을 측정하기 위한 모델 동물로서는 주로 랫트를 사용하였으며, 랫트에서 뇌하수체를 제거하는 수술 방법으로는 Waynforth [18]가 두 가지 방법으로 보고하고 있다. 두개골 저부를 첨공하여 뇌하수체를 제거하는 parapharyngeal method와 hypophysectomy instrument를 사용하여 귀를 통해 뇌하수체를 제거하는 intra-aural method이다. 이 두 가지 수술 방법들은 장단점이 있는데, parapharyngeal method는 수술을 받는 동물에게는 고통과 손상이 크지만, 수술 성공 확률이 높고, 비교적 적은 수술 방법의 숙달로도 가능한 수술 방법이다. 이에 비해 intra-aural method는 귀를 통해 뇌하수체가 있는 부위까지 needle을 삽입하여 주사기로 흡인하여 뇌하수체를 제거하므로 수술을 받는 동물에게는 고통과 손상이 덜하지만, needle을 뇌하수체까지 정확히 삽입하기 위해서는 고도로 정확하게 고안된 instrument와 많은 시간과 skill이 필요하다 [5, 12]. 또한 이러한 뇌하수체 제거술은 매우 드물게 수의 임상에서 질병을 치료하기 위한 목적으로 수행되기도 하였다 [7, 10]. 그러므로 본 연구에서는 뇌하수체 제거술이 수행된 동물에서 혈액학적 소견을 조사하므로, 활발하게 연구되고 있는 뇌하수체 호르몬 연구의 모델 동물과 수의 임상 분야의 기초 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

실험 동물

외관상 건강하다고 판단되는 체중이 80-100 g 내외의 4주령 암컷 Sprague-Dawley 랫트 30마리를 사용하여 실험하였다.

수술 방법

수술은 Waynforth [18]의 parapharyngeal method를 참조하여 실시하였다. 20마리의 랫트를 Entobar®(한림제약, 한국)로 체중 kg당 1 m*l*의 투여 용량으로 복강 내 주사하여 마취를 유도하였다. 마취된 랫트들을 코르크 판이 부착된 수술판 위에 고정 끈을 사용하여 앙와위 자세로 네 발과 앞니를 고정시켰다. 절개할 목 부위의 털을 가위로 제모하였으며, 제모된 부위의 피부를 alcohol swab을 사용하여 소독하였다. 소독 후 목 부위의 피부와 근육을 1.5-2 cm 정도 절개하였고, 절개된 근육과 피부를 "Π"자 모양의 고정 핀을 사용하여 수술 부위를 확대시키기 위해 옆으로 벌려 고정시켰다. 이 부위를 통해 식도와 기관을 피해 핀셋을 이용하여 랫트의 두개골 저부의 blue suture line을 찾아내었다. 찾아낸 blue suture line을 중심으로 dental drill(Strong SS79-80, Saeshin, 한국)을 이용하여 직경 약 1 mm 정도의 구멍을 뚫었다. 뚫은 구멍을 통해 유리 pipette을 부착시켜 만든 20 m*l* 주사기를 이용해 뇌하수체를 흡인하여 제거하였다. 뇌하수체는 분홍색 조직으로 흰색을 띠는 뇌 조직과는 확연히 구별된다. 뇌하수체를 제거한 후에는 m*l* 당 40만 단위 페니실린 주사액(호스타실린®, 한독 약품)을 1 m*l* 주사기를 사용하여 0.1-0.2 m*l* 정도 수술 부위 및 천공된 구멍 내부에 뿌려주었다. 고정핀을 제거한 후 비흡수성 봉합사(4/0, 1.5 metric Mersilk; Ethicon, UK)를 이용하여 피부 만을 결절 봉합 방법으로 다섯 군데씩 봉합하였다. 나머지 10 마리의 랫트들은 실험 대조군으로 사용하기 위해, 위의 수술 과정 중에 뇌하수체를 흡인하지 않고 dental drill을 사용하여 두개골 기저부를 첨공하는 과정까지 진행한 후 위와 같은 방법으로 봉합하여 주었다. 수술이 끝난 랫트들은 물과 사료를 자유로이 섭취할 수 있도록 하였다.

체중 측정

뇌하수체 제거술이 수행된 2주일 후에 연속 5일간 매일 오전 10-11시 사이에 전자 저울(Ohaus, GT-4800, 한국)을 사용하여 체중을 측정하였으며, 혈액 분석에 사용될 랫트들을 선별하였다.

혈액 샘플 준비

뇌하수체 제거 후 며칠에 뇌하수체 제거 랫트들과 대조군 랫트들은 ether통에 넣어 마취하였으며, 개복을 실시하여 후대정맥에서 3 m*l* 주사기를 사용하여 혈액을 채취하였다. 채취된 혈액은 혈액학 소견을 분석하기 위해 일부는 EDTA로 처리하였고, 나머지 혈액은 원심 분리하여 serum을 채취하여 분석 시까지 냉동 보관하였다.

혈액 분석 방법

채취된 전혈은 Animal Blood Counter(Model ABC Vet; ABX's, France)로 백혈구 수, 적혈구 수, 혈소판 수, hemoglobin 농도, hematocrit 값을 측정하였다. 또한, glucose, blood urea nitrogen(BUN), aspartate animotransferase (AST), albumin, total protein, cholesterol, calcium, magnesium을 Vitalab Selectra 2 Analyzer(Merck, USA)을 사용하여 분석하였다.

통계 처리

뇌하수체 제거 군과 대조군의 증체량 결과는 평균치와 표준오차(mean±SE)로 나타냈으며, 혈액학적 소견은 평균치와 표준편차(mean±SD)로 표기하였다. 통계 처리는 ANOVA를 시행하였으며, 유의성이 인정된 경우에 유

의 수준을 1%와 5%로 채택하여 student t-test를 실시하였다.

결 과

뇌하수체 제거술이 수행된 2주일 후에 5일 동안 뇌하수체가 제거된 군과 대조군의 체중 측정 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 뇌하수체 제거술이 시행된 20마리의 랫트 중 3마리의 랫트는 수술 치유 기간인 2주 내에 사망하였다. 생존한 17마리 랫트의 체중을 측정하여 연속 5일 동안에 5 g 이내의 증체량을 나타낸 8마리의 랫트 만을 수술에 성공한 것으로 간주하였고, 나머지 9마리 랫트는 뇌하수체가 완전히 제거되지 않아 수술에 실패한 것으로 판단되었다. 수술이 수행되었던 날과 수술 후 18일째에 각 군의 체중 증가는 뇌하수체 제거된 8마리의 랫트들은 평균 2.7 g 이었으며, 수술에 실패한 것으로 판단된 9마리의 랫트들의 체중 증가는 평균 82.5 g 이었다. 또한 대조군으로 사용될 10마리의 랫트들의 증체는 평균 130.5 g을 나타내었다. 수술이 실패 된 9마리의 랫트들은 개체에 따라 뇌하수체 잔존 정도의 차이가 있을 수 있으므로 혈액학적 소견을 측정하는 실험에서는 배제되었다.

혈액학적 소견과 혈액화학적 소견을 Table 1과 2에 각각 나타내었다. 즉, 뇌하수체가 제거된 군과 대조군의 적혈구 수는 6.2×10^6/mm^{3}와 7.1×10^6/mm^3, hemoglobin 농도는 12.4 g/d*l*와 14.9 g/d*l*, hematocrit 값은 32.1%와 46.1%으로 뇌하수체 제거 랫트 군이 대조군에 비해 유의성 있게 낮았다(P<0.01). 또한 백혈구수도 5.8×10^3/mm^{3}와 7.3×10^3/mm^{3}으로 뇌하수체가 제거된 군이 대조군에 비해 유의성 있게 낮게 나타났다(P<0.05). 그러나 혈소판 수는 649.8×10^3/mm^{3}와 703.4×10^3/mm^{3}으로서 뇌하수체가 제거된 군이 대조군에 비해 다소 낮게 나타났으나, 유의성은 인정되지 않았다(P>0.05).

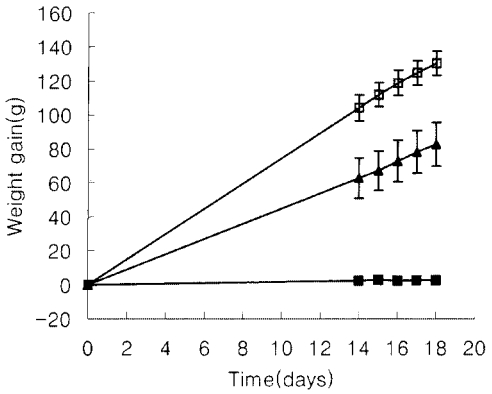

Fig. 1. Weight gain (mean±SE) of the successful hypophysectomy group (■, n = 8), the hypophysectomy failure group (▲, n = 9) and the control group (□, n = 10) after surgery.

Table 1. Hematological findings in hypophysectomized rats (mean±SD)

	Hypophysectomy group	Control group
WBC ($\times10^3$/mm^3)	5.8±2.4*	7.3±1.1
RBC ($\times10^6$/mm^3)	6.2±0.7**	7.1±0.3
Hemoglobin (g/d*l*)	12.4±1.5**	14.9±0.6
Hematocrit (%)	32.1±3.8**	46.1±1.5
Platelet ($\times10^3$/mm^3)	649.8±76.0	703.4±70.0

*: significant difference at <0.05
**: significant difference at <0.01.

Table 2. Blood chemical findings in hypophysectomized rats (mean±SD)

	Hypophysectomy group	Control group
Glucose (mg/d*l*)	147.1±18.2	154.0±16.9
BUN (mg/d*l*)	30.9±4.3**	18.1±5.6
AST (IU/*l*)	74.4±10.3	80.2±16.8
Albumin (g/d*l*)	2.9±0.2	2.8±0.2
Total protein (g/d*l*)	5.8±0.4	5.8±0.2
Cholesterol (mg/d*l*)	90.3±14.6	94.9±17.3
Calcium (mEq/*l*)	5.7±0.6	5.6±0.4
Magnesium (mEq/*l*)	0.8±0.4	1.0±0.2

**: significant difference at < 0.01.

또한 뇌하수체가 제거된 군과 대조군 간에 glucose 농도는 147.1 mg/d*l*와 154.0 mg/d*l*, AST는 74.4 IU/*l*와 80.2 IU/*l*, cholesterol은 90.3 mg/d*l*와 94.9 mg/d*l*, magnesium은 0.8 mEq/*l*와 1.0 mEq/*l*로서 대조군이 뇌하수체가 제거된 군보다 다소 높게 나타났지만, 유의성은 인정되지 않았다(P>0.05). 그리고 albumin은 2.9 g/d*l*와 2.8 g/d*l*, calcium은 5.7 mEq/*l*와 5.6 mEq/*l*로서 뇌하수체가 제거된 군에서 대조군에 비해 약간 높게 나타났지만, 역시 유의성이 인정되지 않았다(P>0.05). Total protein은 두 군이 5.8 g/d*l*로 동일하게 나타났다. 그러나 BUN에서는 뇌하수체가 제거된 군은 30.9 mg/d*l* 이었고, 대조군은 18.1 mg/d*l*으로서 뇌하수체가 제거된 군이 대조군에 비해 유의성 있게 높게 나타났다(P<0.01).

고 찰

Engstrom 등 [4]은 랫트에서 뇌하수체 제거술을 수행하면 적혈구 수, hemoglobin 농도, 혈소판 수, hematocrit 값이 감소하여 빈혈 소견을 보인다고 보고하였다. 이런 결과들은 본 연구에서도 일치하는 결과를 나타내었다. 더불어 혈액화학적 소견에서 Engstrom 등 [3]은 대조군 랫트들의 혈당이 뇌하수체가 제거된 랫트 군의 혈당보다 높게 나타났다고 보고하였다. 본 실험 결과에서도 유의적인 차이를 나타내지 않았지만, 뇌하수체가 제거된 랫트 군에 비해 대조군의 혈당이 높게 나타났는데, 이런 이유는 혈액 내 성장 호르몬이 diabetogenic effect를 나타내는 것과 관련이 있는 것으로 사료된다. 또한, Asakawa 등 [1]과 Shaar 등 [17]은 growth hormone을 투여하면 특징적으로 BUN이 감소한다고 보고하고 있는데, 본 실험에서 BUN 농도가 높게 나타나는 결과는 랫트의 뇌하수체를 제거하므로 growth hormone의 분비를 차단하게 되기 때문인 것으로 판단된다. 이런 이유는 뇌하수체가 제거된 랫트들은 growth hormone 고갈로 체내 protein 합성에 사용되어야 할 혈액 내 질소 화합물이 대조군에 비해 상대적으로 적게 소모되기 때문인 것으로 판단되었다. 최근 들어 호르몬 연구 분야 뿐만 아니라 수의 임상 분야에서 뇌하수체 제거 수술이 드물지만 시행되고 있다. 1980년대 말에 Niebauer 등 [13, 14]에 의해 transsphenoidal hypophysectomy가 개발되어 Meij [7]와 Meij 등 [8-10]이 개와 고양이에서 일명 Cushing disease라 불리는 hyperadrenocorticism의 치료를 위해 이 수술 방법을 적용하고 있다. 그러므로 본 연구에서 수행된 뇌하수체 제거 랫트의 혈액학 및 혈액화학적 지표들은 수의 임상에서 환자들에게 적용될 뇌하수체 제거술의 기본적인 자료로 활용하기에 충분한 가치가 있는 것으로 판단된다.

결 론

뇌하수체가 제거된 군의 혈액학적 소견은 적혈구 수, 백혈구 수, hemoglobin, hematocrit가 대조군에 비해 유의성 있게 낮게 나타났으며, 혈액화학적 검사 소견으로는 BUN이 뇌하수체가 제거된 군에서 대조군에 비해 유의성 있게 높게 나타났다.

참고문헌

1. **Asakawa K, Hizuka N, Takano K, Horikawa R, Sukegawa I, Toyoda C, Shizume K.** Human growth hormone stimulates liver regeneration in rats. J Endocrinol Invest 1989, **12**, 343-347.
2. **Bauman DE.** Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. J Dairy Sci 1992, **75**, 3432-3451.
3. **Engstrom G, Lindstrom P, Savendahl L.** Lack of evidence for acute effects of growth hormone-releasing hormone on serum insulin and glucose levels normal and hypophysectomized rats. Horm Res 1994, **41**, 21-26.
4. **Engstrom KG, Ohlsson L, Oscarsson J.** Effect of hypophysectomy and growth hormone substitution on red blood cell morphology and filterability in rats. J Lab Clin Med 1990, **116**, 196-205.
5. **Gregory FG.** A Technique for hypophysectomy of neonatal rats. Life Sci 1980, **26**, 971-977.
6. **Groesbeck MD, Parlow AF.** Highly improved precision of the hypophysectomized female rat body weight gain bioassay for growth hormone by increased frequency of injections, avoidance of antibody formation, and other simple modifications. ENDO 1987, **120**, 2582-2590.
7. **Meij BP.** Hypophysectomy as a treatment for canine and feline Cushing's disease. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2001, **31**, 1015-1041.
8. **Meji BP, Voorhout G, Van Den Ingh TS, Rijnberk A.** Transsphenoidal hypophysectomy for treatment of pituitary-dependent hyperadrenocorticism in 7 cats. Vet Surg 2001, **30**, 72-86.
9. **Meji BP, Voorhout G, Van Den Ingh TS, Hazewinkel HA, Van't Verlaat JW.** Transsphenoidal hypophysectomy in beagle dogs: evaluation of a microsurgical technique. Vet Surg 1997, **26**, 295-309.
10. **Meji BP, Voorhout G, Van Den Ingh TS, Hazewinkel HA, Teske E, Rijnberk A.** Results of transsphenoidal hypophysectomy in 52 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. Vet Surg 1998, **27**, 246-261.
11. **Mol JA, Rijnberk A.** Pituitary function. In: Kaneko J. Harvey J, Bruss M(eds.). Clinical Biochemistry of Domestic Animals. pp. 576-609, 4th ed. Academic Press, Washington DC, 1989.
12. **Naik DV, Sheriff AQ.** An improved technique for transauricular hypophysectomy and auto transplant of isolated pieces of pars intermedia tissue in the evacuated pituitary capsule of the rat. Acta Endocrinol 1975, **79**, 677-687.
13. **Niebauer GW, Evans SM.** Transsphenoidal hypophysectomy in the dog. A new technique. Vet Surg

1988, **17**, 296-303.

14. **Niebauer GW, Eigenmann JE, Van Winkle TJ.** Study of long-term survival after trassphenoidal hypophysectomy in clinically normal dogs. Am J Vet Res 1990, **51**, 677-681.
15. **Park SJ, Kim NJ, Kwon SC, Lee SJ, Cho JM.** Efficacy tests of recombinant human growth hormone produced from *saccharomyces cerevisiae*. J Biochem Mol Biol 1995, **28**, 437-442.
16. **Schwartz A.** Endocrine System. In: Textbook of Small Animal Surgery. pp. 1840-1851, 1st ed. Saunders, San Diego, 1985.
17. **Shaar CJ, Tinsley FC, Smith MC, Clemens JA, Neubauer BL.** Recombinant DNA-derived human insulin-like growth factor II (hIGF-II) stimulates growth in hypophysectomized rats. Endocr Res 1989, **15**, 403-411.
18. **Waynforth HB.** Hypophysectomy. In: Waynforth HB, Flecknell PA (eds.). Experimental and Surgical Technique in the Rat. pp. 143-150, 1st ed. Academic Press, London, 1980.