

에스트로겐이 난소가 제거된 흰쥐에 미치는 영향

박영재 · 전승기^{1*}

박영재동물병원, ¹휴동물병원

(접수 2010. 8. 18, 게재승인 2010. 9. 16)

Effects of estrogen on the ovariectomized rat

Young-Jae Park, Seung-Ki Chon^{1*}

Park Young Jae Animal Clinic, Chonju 560-711, Korea

¹Hyu Animal Clinic, Iksan 570-973, Korea

(Received 18 August 2010, accepted in revised from 16 September 2010)

Abstract

The aim of this study was to determine the effects of body weight, organ weight, hematological values and biochemical parameters by estrogen on the ovariectomized (OVX) rats. The animals were divided into 4 groups. Intact group (n=10) received no treatment and operation. Sham group (n=10) received only sham operation and no treatment. OVX group (n=10) received operation and no treatment. OVX+E2 (n=10) received operation and estrogen. The body weight of each group increased, but that of OVX+E2 group decreased. There were very significant differences ($P<0.001$) of body weights between OVX+E2 group and the other groups. Also, the weight of important organs such as heart, liver, spleen and kidney was measured. The heart weight was significantly lower ($P<0.05$) in the OVX+E2 group than the Intact group. The liver weight of the OVX+E2 group was significantly different in comparison with those of the other groups. On the other hand, there were no significant differences in the organ weight of spleen and kidney between the OVX+E2 group and the other remaining groups. The hematological values of WBC, RBC, MCV, MCH and MCHC were not significantly different among the groups. The serum total protein and albumin decreased significantly in the OVX+E2 group as compared to those in the intact group. But, there were no significant differences in Ca, IP and Mg among the groups. We conclude that estrogen was significantly decreased the body weight in the ovariectomized rats. Our findings suggest that estrogen may influence the process of lipid packaging and absorption in the ovariectomized rats.

Key words : Rat, Estrogen, Ovariectomized

서 론

에스트로겐은 스테로이드 복합체로 주로 난소에서 분비되고 고환, 부신피질, 태반 등에서도 소량이 분비되는 것으로 알려져 있으며, 그 외 장기로는 간장, 근육, 지방, 모낭 등이 있다(Sontas et al, 2009). 대부분의 동물에서 에스트로겐은 에스트론(estrone, E1), 에스트

라디올(estradiol, E2) 그리고 에스트리올(estriol, E3)로 존재하며, 에스트라디올이 가장 대표적인 형태로 알려져 있다(Ryan, 1982). 에스트로겐은 암컷 생식선의 성장과 발달, 2차 성징으로 유선 발달과 체형 변화, 발정 유발, 골반 구조의 이완, 골격계 성장과 유지 조절, 등의 생리활성에 필수적이다.

소동물 임상에서 에스트로겐은 임신종료(Eilts, 2002), 요실금(Arnold 등, 2009), 상상임신(Sokolowski,

*Corresponding author: Seung-Ki Chon, Tel. +82-63-831-5115, Fax. +82-63-831-5115, E-mail. seungkichon@hanmail.net

1982), 발정유발(Arnold 등, 1989), 항문선종(Dow 등, 1988), 전립선과비대(Kawakam 등, 2001), 고환종양(Sanpera 등, 2002), 유즙억제(Steinetz 등, 1987) 등의 치료 목적으로 사용되고 있으며, 특히 자궁난관부의 폐쇄에 의한 착상 방지 목적으로 원하지 않는 교배에 가장 흔하게 투여되고 있다. 그러나 에스트로겐 투여에 따른 부작용으로 자궁축농증 유발, 난소위축, 발정정지, 골수독성 등의 부작용이 보고되어 오늘날은 권장되지 않고 있다(Nelson과 Feldman, 1986; Bowen 등, 1985; Sanpera 등, 2002).

현재 소동물 임상에서 개와 고양이의 노령화에 따른 유선종양, 자궁축농증, 자궁종양, 난소종양, 상상임신, 피부질환 등을 예방하고자 난소자궁적출술이 많이 시행되고 있다. 난소자궁적출술로 인한 부작용으로는 과체중(Haupt와 Smith, 1981), 요실금(Stöcklin-Gautschi 등, 2001), 행동학적 변화(Misner와 Haupt, 1998), 배뇨장애(Bradley 등, 2000) 등이 보고된바, 이 연구에서는 암컷흰쥐에서 난소적출술을 실시한 후 체중, 혈액학적 그리고 생화학적 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

실험동물

암컷흰쥐(Sprague-Dawley, 9주령, 224~280g) 40마리를 구입하여 일주일간 적응, 사육시켰으며, 온도 23 ± 1°C, 습도 55%, 12/12hrs light/dark cycle (light-on, 07:00), 사료와 음수를 자유급식 시켰다. 일주일간 적

응, 사육시킨 후 난소적출술(ovariectomy, OVX)을 하였으며 수술 후 1주일 후부터 estron (estradiol benzoate, 2mg/ml, Samyang Anipharm)을 투여하였다. 실험동물을 무작위로 다음과 같이 Intact군, Sham군, OVX군, OVX+estrogen (OVX+E2)군으로 각각 10두씩 4군으로 나누었다. Estradiol benzoate (4mg/kg)을 피하로 일주일에 3회씩 5주간 투여하였다.

난소적출술

Ketamine/xylazine 마취(80/10mg/kg)한 후 요추 1번과 3번의 배부위(dorsal region)를 삭모한 후 정중앙을 피부절개하였다. 난소적출을 위하여 피부절개 후 요추에서 좌우 1cm 떨어진 부위를 절개하여 난소를 노출시켜 적출하였다. Sham 실험군은 난소를 노출시킨 후 다시 복원시켜 근육 및 피부를 봉합하였다.

시료채취

마지막 약물투여 3일 후에 ketamine/xylazine 마취 후 개복하여 후대정맥에서 혈액분석(Scil Vet abc™, ABX Diagnostics, France)과 생화학적 분석(Spotchem EZ™ SP-4430, Arkray, Japan)을 위하여 채혈하였으며, 혈청과 혈장을 분리하여 -70°C에 보관 후 사용하였다. 장기체중을 측정하기 위하여 심장, 간, 비장, 신장을 적출하여 측정하였다.

통계처리

실험결과는 mean ± SD로 나타냈으며 실험결과의 유

Table 1. Effects of estrogen on body weight (BW) of the ovariectomized rats

	Intact	Sham	OVX	OVX+E2
Initial BW (g)	250.5 ± 19.1	242 ± 13.3	238.6 ± 15.5	249.6 ± 9.4
After 5 weeks BW (g)	286.2 ± 17.5	291.3 ± 23.7	329.1 ± 19.1	239.6 ± 9.0 ^{c,fi}
BW gain/loss (g)	35.7 ± 20.3	49.3 ± 30.7	90.5 ± 16.9	-10.0 ± 6.3

*Changes in body weight treated with estrogen on the ovariectomized rats. These data in Intact (non-operated), Sham (Sham-operated), OVX (ovariectomized), OVX+E2 (treated with estrogen on ovariectomized) are shown. ^{c,fi} indicate significant differences in values after 5 weeks of OVX+E2 vs. Intact, Sham and OVX, respectively. Data are mean ± standard deviation. ^cP < 0.001 vs. Intact, ^fP < 0.001 vs. Sham, ⁱP < 0.001 vs. OVX

Table 2. Effects of estrogen on organ weight of the ovariectomized rats

	Intact	Sham	OVX	OVX+E2
Heart (g)	1.0 ± 0.18	1.0 ± 0.17	1.9 ± 0.04	0.9 ± 0.05 ^h
Liver (g)	12.5 ± 0.48	12.6 ± 0.44	13.8 ± 0.76	11.8 ± 0.62 ^{a,e,b}
Spleen (g)	0.5 ± 0.02	0.5 ± 0.02	0.4 ± 0.03	0.4 ± 0.01
Kidney (g)	2.6 ± 0.35	2.5 ± 0.35	2.3 ± 0.27	2.6 ± 0.25

*Changes in organ weight treated with estrogen on the ovariectomized rats. These data in Intact (non-operated), Sham (Sham-operated), OVX (ovariectomized), OVX+E2 (treated with estrogen on ovariectomized) are shown. ^{a,e,b} indicate significant differences in values after 5 weeks of OVX+E2 vs. Intact, Sham and OVX, respectively. Data are mean ± standard deviation. ^aP < 0.05 vs. Intact, ^eP < 0.01 vs. Sham, ^bP < 0.01 vs. OVX

의성은 Student's *t*-test에 의해 검정하였다.

결 과

Estrogen이 체중의 변화에 미치는 영향

난소가 제거된 흰쥐에 estrogen을 투여 후 체중의 변화를 조사한 결과는 Table 1과 같다. Intact군은 250.5 ± 19.1g에서 286.2 ± 17.5g, Sham군은 242 ± 13.3g에서 291.3 ± 23.7g 그리고 OVX군은 238.6 ± 15.5g에서 329.1 ± 19.1g로 각각 증가하였으나, OVX+E2군은 249.6 ± 9.4g에서 239.6 ± 9.0g으로 10.0 ± 6.3g이 감소되었다. 이러한 체중 변화는 Intact군, Sham군 그리고 OVX군과 비교 시 매우 유의한($P < 0.001$) 감소가 나타났다.

Estrogen이 장기무게 변화에 미치는 영향

각각의 장(심장, 간, 비장, 신장) 무게의 변화는 Table 2와 같다. 심장의 무게는 OVX+E2군에서 0.9 ± 0.05g으로 Intact군(1.0 ± 0.18g)과 Sham군(1.0 ± 0.17g)에 비하여 약간 감소하였으나 유의성은 인정되지 않았으며, OVX군(1.9 ± 0.04g)과 비교 시 유의한($P < 0.01$) 감소가 나타났다. 간장의 무게는 OVX+E2에서 11.8 ± 0.62g으로 Intact군(12.5 ± 0.48g)과 Sham군(12.6 ± 0.44g)에 비하여 각각 유의한($P < 0.05$, $P < 0.01$) 감소가 나타났으며, OVX군(13.8 ± 0.76g)과 비교 시 유의한($P < 0.01$) 감소가 나타났다. 그러나 비장과 신장의 무게의

변화는 Intact군, Sham군 그리고 OVX군은 OVX+E2군과 비교 시 약간의 증가 또는 감소를 보였으나 유의성은 인정되지 않았다.

Estrogen이 혈액학적 변화에 미치는 영향

Estrogen에 의한 혈액학적 변화는 Table 3과 같다. 백혈구와 적혈구 수는 각각 Sham군에서 7.6 ± 0.60 10³/mm³, 7.2 ± 0.38 10⁶/mm³로 약간 높게 나타났으나 Intact군, OVX군 그리고 OVX+E2군과 비교 시 유의한 증가 또는 감소를 나타내지 않았다. 평균적혈구용적은 OVX군에서 가장 높은 56.1 ± 2.68μm³을 보였으나 OVX+E2군과 비교 시 유의한 증가를 나타내지 않았으며, 평균적혈구혈색소량은 OVX+E2군에서 가장 낮은 18.7 ± 0.80pg을 보였으나 Intact군, Sham군 그리고 OVX군과 비교 시 유의한 감소를 나타내지 않았다. 또한 평균적혈구혈색소농도에서도 OVX+E2군에서 가장 낮은 34.4 ± 0.86g/dl을 보였으나 유의한 감소를 나타내지 않았다.

Estrogen이 생화학적인 변화에 미치는 영향

Estrogen에 의한 생화학적인 변화는 Table 4와 같다. 혈청총단백과 알부민은 OVX+E2군에서 각각 7.5 ± 0.59g/dl, 5.4 ± 0.41g/dl로 가장 낮게 나타났으며, OVX군의 혈청총단백(8.1 ± 0.31g/dl)과 알부민(5.9 ± 0.21g/dl)과 비교 시 유의한($P < 0.05$) 감소를 나타냈다. Ca, IP 그리고 Mg에서는 OVX+E2군과 비교 시 약간

Table 3. Effects of estrogen on hematological values of the ovariectomized rats

	Intact	Sham	OVX	OVX+E2
WBC (10 ³ /mm ³)	7.5 ± 0.58	7.6 ± 0.60	7.6 ± 0.43	7.6 ± 0.58
RBC (10 ⁶ /mm ³)	7.1 ± 0.41	7.2 ± 0.38	7.1 ± 0.39	7.1 ± 0.34
MCV (μm ³)	54.9 ± 2.92	55.8 ± 2.93	56.1 ± 2.68	54.8 ± 2.25
MCH (pg)	19.0 ± 1.32	19.1 ± 1.26	19.1 ± 1.22	18.7 ± 0.80
MCHC (g/dl)	34.7 ± 0.76	34.7 ± 0.74	35.0 ± 0.68	34.4 ± 0.86

*Changes in hematological values treated with estrogen on the ovariectomized rats. These data in Intact (non-operated), Sham (Sham-operated), OVX (ovariectomized), OVX+E2 (treated with estrogen on ovariectomized) are shown. Data are mean ± standard deviation

Table 4. Effects of estrogen on biochemical parameters of the ovariectomized rats

	Intact	Sham	OVX	OVX+E2
T-pro (g/dl)	7.6 ± 0.35	7.6 ± 0.23	8.1 ± 0.31	7.5 ± 0.59 ^g
Alb (g/dl)	5.7 ± 0.46	5.8 ± 0.27	5.9 ± 0.21	5.4 ± 0.41 ^g
Ca (mg/dl)	10.8 ± 1.07	10.7 ± 1.16	11.1 ± 0.75	10.8 ± 1.45
IP (mg/dl)	9.5 ± 1.52	9.5 ± 2.40	9.9 ± 2.55	8.9 ± 0.92
Mg (mg/dl)	3.6 ± 0.77	3.6 ± 0.40	3.5 ± 0.67	3.3 ± 0.36

*Changes in biochemical parameters treated with estrogen on the ovariectomized rats. These data in Intact (non-operated), Sham (Sham-operated), OVX (ovariectomized), OVX+E2 (treated with estrogen on ovariectomized) are shown. ^gindicates significant differences in values after 5 weeks of OVX+E2 vs. OVX. Data are mean ± standard deviation. ^g $P < 0.05$ vs. OVX

의 증가 또는 감소를 보였으나 유의성은 인정되지 않았다.

고 찰

많은 연구진에 의해 난소가 적출된 흰쥐에서 체중이 증가되는 것이 보고되었다(Kalu 등, 1991; Wu 등, 2008; Zou 등, 2005). 이 연구에서도 난소가 제거된 OVX군의 현저한 체중 증가를 보였으며, 이러한 체중 증가의 원인을 Wu 등(2008)은 에스트로겐의 결핍이 혈중에스트로겐의 농도를 저하시키며, 이로 인한 지방의 대사 및 흡수에 영향을 초래하여 체중 증가가 이루어질 것이라 보고하였다. 흰쥐에서 난소적출술에 의한 체중 증가가 에스트로겐 투여에 의해 억제됨이 보고되었으며(Wu 등, 2008; Zou 등, 2005; Arjmandi 등, 1996; Guo 등, 2009), OVX군에 에스트로겐을 투여 한 OVX+E2군에서 체중 증가가 현저히 억제됨을 확인하였다. 이는 에스트로겐의 결핍은 혈중에스트로겐 감소 농도 및 자궁무게 감소를 유발시키며, 난소적출에 의한 체중 증가가 에스트로겐의 대체요법에 의해 억제되고 혈중에스트로겐 농도 및 자궁무게가 원상 복귀됨 보고하였다(Wu 등, 2008).

그리고 에스트로겐은 난소적출에 의해 증가된 골대사의 생화학지표인 alkaline phosphatase와 tartrate-resistant acid phosphatase의 활성을 억제하는 것으로 나타났으며(Raisz 등, 1988), 에스트로겐은 소장에서 칼슘이송 유전자의 조절인자에 의한 칼슘흡수를 증가시키는 생리작용(Van Cromphaut, 2003)과 결핍 시 체내 여러 장기의 단백질농도 변화를 초래한다(Saini와 Dhalla, 2005). Arjmandi 등(1996)은 난소적출된 흰쥐에 soybean과 에스트로겐을 각각 투여한 결과, phosphorus 이온농도가 soybean에 의해 증가되고 에스트로겐에 의해 감소됨을 보고하였다. 이 연구에서도 에스트로겐 투여 시 phosphorus 이온농도의 감소가 유의성을 나타내지 않았으나 억제됨을 확인하였다. 또한 OVX군과 OVX+E2군에서 칼슘이온의 변화는 에스트로겐을 투여한 OVX+E2에서 감소를 보이는 결과를 나타냈으며, Guo 등(2009)도 난소적출된 흰쥐에 lactoferrin과 에스트로겐을 각각 투여한 결과, 칼슘이온이 lactoferrin과 에스트로겐에 의해 억제됨을 보고하였다.

이와 같이 흰쥐에서 난소적출에 의한 에스트로겐의

생리활성이 저해는 오늘날 소동물 임상에서 난소자궁적출술이 시행되고 있는 시점에서 이로 인한 부작용이 발생할 수 있으므로 좀 더 실험동물대상을 확대하여 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

결 론

이 연구에서는 난소가 제거된 흰쥐에 에스트로겐을 5주간 투여 후 체중, 장기 무게, 혈액학적 그리고 생화학적 변화를 관찰하였다. 체중의 변화에서는 Intact군, Sham군 그리고 OVX군에서는 각각 35.7 ± 20.3 , 49.3 ± 30.7 , 90.5 ± 16.9 의 증가를 나타냈으며, OVX+E2군에서는 10.0 ± 6.3 감소를 나타내는 유의성이 인정되었다. 장기 무게의 변화에서는 OVX+E2군의 심장과 간장 무게는 OVX군에 비교 시 감소를 나타내는 유의성이 인정되었으며, 또한간장 무게는 Intact군 그리고 Sharm군과 비교 시 감소를 나타내는 유의성이 인정되었다. 혈액학적 변화에서는 OVX+E2군과 비교시 약간의 증가 또는 감소를 나타냈으나 유의성은 인정되지 않았다. 생화학적 변화에서는 OVX+E2군의 총혈청단백과 알부민은 OVX군과 비교 시 감소를 나타내는 유의성이 인정되었으며, Ca, IP 그리고 Mg은 유의성이 인정되지 않았다.

참 고 문 헌

- Arjmandi BH, Alekel L, Hollis BW, Amin D, Stacewicz-Sapuntzakis M, Guo P, Kukreja SC. 1996. Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *J Nutr* 126(1): 161-167.
- Arnold S, Arnold P, Concannon PW, Withrow SJ. 1989. Effect of duration of PMSG treatment on induction of oestrus, pregnancy rates and the complications of hyper-oestrogenism in dogs. *J Reprod Fertil Suppl* 39: 115-122.
- Arnold S, Hubler M, Reichler I. 2009. Urinary incontinence in spayed bitches: new insights into the pathophysiology and options for medical treatment. *Reprod Domest Anim* 44(2S): 190-192.
- Bowen RA, Olson PN, Behrendt MD, Wheeler SL, Husted PW, Nett TM. 1985. Efficacy and toxicity of estrogens commonly used to terminate canine pregnancy. *J Am Vet Med Assoc* 186(8): 783-788.
- Bradley KJ, Billet JP, Barr FJ. 2000. Dysuria resulting from

- an encapsulated haematoma in a recently spayed bitch. *J Small Anim Pract* 41(10): 465-467.
- Dow SW, Olson PN, Rosychuk RA. 1988. Perianal adenomas and hypertestosteronemia in a spayed bitch with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Am Vet Med Assoc* 192(10): 1439-1441.
- Eilts BE. 2002. Pregnancy termination in the bitch and queen. *Clin Tech Small Anim Pract* 17(3): 116-123.
- Guo HY, Jiang L, Ibrahim SA, Zhang L, Zhang H, Zhang M, Ren FZ. 2009. Orally administered lactoferrin preserves bone mass and microarchitecture in ovariectomized rats. *J Nutr* 139(5): 958-964.
- Haupt KA, Smith SL. 1981. Taste preferences and their relation to obesity in dogs and cats. *Can Vet J* 22(4): 77-85.
- Kalu DN, Liu CC, Salerno E, Hollis B, Echon R, Ray M. 1991. Skeletal response of ovariectomized rats to low and high doses of 17 beta-estradiol. *Bone Miner* 14(3): 175-187.
- Kawakami E, Amemiya E, Namikawa K, Kashiwagi C, Hori T, Tsutsui T. 2001. High plasma estradiol-17beta levels in dogs with benign prostatic hyperplasia and azoospermia. *J Vet Med Sci* 63(4): 407-412.
- Misner TL, Haupt KA. 1998. Animal behavior case of the month. Aggression that began 4 days after ovariohysterectomy. *J Am Vet Med Assoc* 213(9): 1260-1262.
- Nelson RW, Feldman EC. 1986. Pyometra. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 16(3): 561-576.
- Raisz LG, Simmons HA, Thompson WJ, Shepard KL, Anderson PS, Rodan GA. 1988. Effects of a potent carbonic anhydrase inhibitor on bone resorption in organ culture. *Endocrinology* 122(3): 1083-1086.
- Ryan KJ. 1982. Biochemistry of aromatase: significance to female reproductive physiology. *Cancer Res* 42(8S): 3342-3344.
- Saini HK, Dhalla NS. 2005. Defective calcium handling in cardiomyocytes isolated from hearts subjected to ischemia-reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288(5): H2260-H2270.
- Sanpera N, Masot N, Janer M, Romeo C, de Pedro R. 2002. Oestrogen-induced bone marrow aplasia in a dog with a sertoli cell tumour. *J Small Anim Pract* 43(8): 365-369.
- Sokolowski JH. 1982. False pregnancy. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 12(1): 93-98.
- Sontas HB, Dokuzeylu B, Turna O, Ekici H. 2009. Estrogen-induced myelotoxicity in dogs: A review. *Can Vet J* 10: 1054-1058.
- Steinetz BG, Goldsmith LT, Lust G. 1987. Plasma relaxin levels in pregnant and lactating dogs. *Biol Reprod* 37(3): 719-725.
- Stöcklin-Gautschi NM, Hässig M, Reichler IM, Hubler M, Arnold S. 2001. The relationship of urinary incontinence to early spaying in bitches. *J Reprod Fertil Suppl* 57: 233-236.
- Van Cromphaut SJ, Rummens K, Stockmans I, Van Herck E, Dijcks FA, Ederveen AG, Carmeliet P, Verhaeghe J, Bouillon R, Carmeliet G. 2003. Intestinal calcium transporter genes are upregulated by estrogens and the reproductive cycle through vitamin D receptor-independent mechanisms. *J Bone Miner Res* 18(10): 1725-1736.
- Wu Q, Zhao Z, Sun H, Hao YL, Yan CD, Gu SL. 2008. Oestrogen changed cardiomyocyte contraction and beta-adrenoceptor expression in rat hearts subjected to ischemia-reperfusion. *Exp Physiol* 93(9): 1034-1043.
- Zou W, Noh SK, Owen KQ, Koo SI. 2005. Dietary L-carnitine enhances the lymphatic absorption of fat and alphatocopherol in ovariectomized rats. *J Nutr* 135(4): 753-756.