

흡입마취제가 토끼의 하부호흡기도 점액분비세포에 미치는 영향

박우대¹ · 배춘식
건국대학교 수의과대학 외과학교실

Effects of Inhalation Anesthetics on Mucus Secretion of Goblet Cells at Lower Respiratory Tract in Rabbits

Woo-dae Park¹ and Chun-sik Bae

Department of Surgery, College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul, 143-701, Korea

ABSTRACT : Excess secretion of goblet cell stimulated by inhalation anesthetics have side effects during operation or postoperative care. Mucosubstances, which are almost secreted by goblet cells in the epithelium of the respiratory tract, are secreted by a direct irritation of inhalation anesthetics. This study was carried out to compare the differences of mucus secretion on lower respiratory tract stimulated by ethyl ether, halothane and isoflurane. Total of 24 rabbits were used as experimental animals. The trachea and the 1st bronchi were fixed in 10% neutral buffered formalin. After embedding in paraffin, the specimens were sectioned to a thickness of 6 μ m, and PAS-H, Alcian blue pH 2.5 and Alcian blue pH 1.0 stains were performed for the observation of the composition and the quantity of the mucus. The results were as follows; Ethyl ether and isoflurane irritated the mucous membrane of the respiratory tract. Ethyl ether irritated more than isoflurane. Halothane irritated the mucous membrane, but its effect was minimal and had little influences during operation. In the specimens stained with PAS-H, Alcian blue pH 2.5 and Alcian blue pH 1.0, the mucosubstance lining the cilia and in the goblet cells of the trachea and 1st bronchi were the strongly PAS-H reactive mucosubstances, moderately Alcian blue pH 2.5 and Alcian blue pH 1.0. The PAS-H reactive mucosubstance were polysaccharides, neutral mucopolysaccharides, mucoproteins, glycoproteins and glycolipids. Trachea was easily affected than bronchi by inhalation anesthetics. Consequently, it is suggested that because halothane does not irritates respiratory mucosal secretion, its application may be efficient to the depressed respiratory system.

Key words : ethyl ether, halothan, isoflurane, PAS-H, alcian blue

서 론

호흡기계의 기능적 효율은 호흡기의 순환혈액에 산소가 부가되어 일산화탄소를 제거하는 능력에 좌우된다. 이들의 기능장애는 여러 형태로 일어나는데 근본적인 결함은 조직으로의 적절한 산소의 공급량이 감소되는데 있다. 호흡부전에 의한 산소결핍증은 호흡기질환에 있어서 임상증상의 기본이며, 호흡기의 기능부전을 일으켜 죽음으로까지 이른다. 산소결핍증과 호흡기의 기능부전을 이해하는 것은 임상적인 호흡기 질환의 연구에서 빼놓을 수 없는 문제들이다.

동물들은 산소의 흡수와 이산화탄소의 배설에 한정되는데 gas가 세포로 수송되고 또한 세포로부터 수송

되어지는 기구는 마취제의 수송에도 이용된다¹⁾.

비강은 호흡기의 문호로서, 호흡운동에 따라 흡기되는 공기가 비강을 통과할 때에 비강내의 온기와 습기로 인하여 가온되어 후비강에 도달한 공기는 이미 체온 정도까지 가온된다. 이 외기 중에 혼재하던 이물, 세균 등도 대부분 점조한 점막에 부착 섭취되고 자극있는 기체는 비강내의 취기로 식별되어 반사적으로 배출된다. 이와 같은 비강은 심부기도에 대하여 중요한 보호작용을 하며 호흡기도의 보호를 위하여 그 표면 상피를 덮고 있는 점액막이 중요한 역할을 하고 있는바, 이들 점액질은 배상세포와 점액선 등에서 생산되어 호흡기도 점액상피를 덮어 그 밑 세포들에 대한 물리적 장벽이 될 뿐만 아니라 구인두측으로 상피세포의 활발한 섬모 운동을 따라 이물질을 흡착하여 배출시키는 특징적인 기능을 발휘하고 있음은 주지의

¹Corresponding author.

사실이다.^{7,9}

또한 폐를 비롯한 호흡기도의 비특이성 질환 유발에 대한 문제가 호흡기도 점액질과 관련되어 많은 업적이 발표되어 왔다.^{1,7,12}

이들 점액질에 대해서 물리적 또는 화학적 성질에 대한 기본적인 연구가 많이 진행되어 왔으나 생체내 구성에 대해서는 아직 규명되지 못한 점이 있다.

Belanger²는 점액질의 전 단계 물질에 표지한 자기 방사법을 이용한 연구로서 점액질의 생성과정과 대사속도에 대해서 보고하였으며, 조직화학적으로는 Steedman¹⁴이 점액물질 염색에 alcian blue를 사용함으로써 급속한 진전을 가져왔다. 그 이외에 많은 연구자들에 의하여 포유동물의 점액 물질의 조직화학적 구성에 대한 대체적인 기준이 이루어져 가고 있다.

흡입마취제는 호흡기도를 통해 흡입되어 체내의 재분포와 해독작용과 상관없이 대사되지 않은 상태로 배출되어 수술에 대한 위험성이 큰 환축에 대하여 특별히 효과적이며 이러한 작용제는 빠르게 배출되기 때문에 마취의 정도를 조절하거나 깊이를 빠르게 배출되어 수술에 대한 위험성이 큰 환축에 대하여 특별히 효과적이며 이러한 작용제는 빠르게 배출되기 때문에 마취의 정도를 조절하거나 깊이를 빠르게 변화시킬 수 있는 장점이 있다. 그러나 이러한 장점에 비해 여러 가지 단점도 있는데 그중 호흡 기도를 통한 흡입마취제의 직접적 자극은 여러 가지 어려움을 나타낸다.

특히, 흡입마취시 기도내 과다한 점액분비는 수술도중 예기치 못한 사고를 일으켜 돌이킬 수 없는 죽음으로 몰고 가기도 한다.

과거의 연구를 통하여 각 흡입마취제의 특성 및 약리적 작용이 상세히 밝혀지기는 하였지만 기도내 흡입마취제에 대한 직접적 영향에 대하여는 거의 알려지지 않았다.³

본 연구는 조직화학적 접근을 통하여 흡입마취제가 기도내 점액분비에 미치는 영향을 알아보고자 1) 사용된 각 마취제에 대한 자극정도, 2) 점액 분비정도, 3) 분비된 점액의 성분비교, 4) 각 항목에 대한 마취제의 상호 비교 등을 실시하였다.

재료 및 방법

실험동물

3개월령의 일본 백색종의 토끼(2.1~2.3 kg) 24마리를 1주일간 예비사육을 하여서 실험환경에 적응시킨 후 ethyl ether 투여군, halothane 투여군, isoflurane

투여군, control 군으로 나누어 6마리씩 배정을 한 후, 각 군은 노출 1시간군과 2시간군에 각각 3마리씩 배정을 하였다. 실험동물은 실험시작 전 12시간 절식 및 6시간 절수시켰으며, 신체검사, 혈액검사, 흉부 및 경부 방사선 검사 등을 시행하여 호흡기도에 이상이 없음을 확인하였다.

실험기구 및 마취제

흡입마취를 위하여 자체 제작한 anesthetic chamber를 사용하였으며 마취제는 ethyl ether(Duksan pure chemical Co), halothane(II-sung), isoflurane(II-sung)를 사용하였다.

마취

Anesthetic chamber를 이용하는 open method를 사용하였으며, 동일 용량의 마취제를 chamber내에 분주하여 농도가 일정하게 유지되도록 하였으며 마취 시작 시간을 pinching에 의한 pedal reflex가 소실된 시간을 기점으로 하여 1시간과 2시간 동안 마취를 시켰으며 control은 어떠한 처치도 하지 않은 상태로 anesthetic chamber내 1시간과 2시간 동안 안치시켰다.

샘플 채취 및 염색

마취제에 노출시킨 토끼는 마취상태에서 tracheotomy와 thoracotomy를 실시하여 후두 바로 밑 기관 1cm와 제1기관지를 채취하였고 control은 안치한 후 흉분을 최소화시켜 기도에 대한 영향을 적게 하기 위하여 경추 탈구시킨 후 상기와 같은 방법으로 샘플을 채취하였다. 채취한 조직은 periodic acid-schiff reaction-hematoxylin 염색(이하 PAS-H), alcian blue method pH 2.5 염색(이하 AB-2.5)와 alcian blue method pH 1.0 염색(이하 AB-1.0)을 실시하였다.^{2,4,10,17}

점액질의 양 비교

+++ : 각 부위에 따라 같은 부위에서 점액분비 세포군을 대상으로 점액질의 염색반응이 세포 내에 충만되어 있는 상태의 점액세포가 대부분인 강한 양성반응, ++ : 중등도의 양성반응, + : 약한 양성반응, ± : 미약한 양성반응, - : 음성반응

염색반응에 따른 점액질의 성분 구분

PAS-H : 모든 다당류와 vic-glycol groups을 가진 hexos 및 deoxyhexoses를 함유한 점액질을 염색하여 red(R)는 magenta(M)로 발색한다. 가장 중요한 PAS-H positive carbohydrates는 glycolipid, polysaccharides,

mucoproteins 등이다. Acid mucosubstance는 약하게 염색되거나 염색되지 않는다⁴.

AB-2.5 : PAS-H에 염색되지 않는 acid mucosubstance를 염색하기 위한 방법으로 sialomucin과 약산의 sulfomucin은 blue(B)로 염색되고⁴ 강산의 sulfomucin은 약하게 염색되거나 염색되지 않는다¹⁸.

AB-1.0 : AB-2.5에 의하여 염색이 약하거나 되지 않는 강산의 sulfomucin을 염색하기 위한 것으로 sulfated mucopolysaccharides 및 mucoproteins은 blue (B)로 염색된다^{4,18}.

결 과

Ethyl ether 투여군

투여 1시간 경과 후 기관

PAS-H : 점막상피내 배상세포의 수는 강한 양성반응으로 점액질이 충만되어 있으며 분비가 진행되어 점막상피층에 중등도로 퍼져 있고 배상세포의 형태도 분비양상에 따라 둥근 것과 흘쭉한 것이 혼재되어 있으나 거의 대부분이 배상세포내 점액질이 충만한 형태로 관찰되었고 점액질은 강한 붉은색을 띄었다(Fig 1-a).

AB-2.5 : 배상세포내 점액질의 염색정도는 강한 청색을 나타내었고 유출이 진행되어 중등도로 점막상피층으로 퍼져 나와 있었으며 전체적인 점액질의 양은 많은 형태로 관찰되었다(Fig 1-b).

AB-1.0 : 배상세포내 점액은 가득 차 강한 양성반응을 나타내고 점액의 염색정도는 강한 청색으로 배출이 진행되어 점막표면에 강한 양성반응으로 나타났다. 형태적 비교에 있어서 중등도로 점액질이 가득 찬 배상세포가 분비가 끝난 세포에 비해 많았다(Fig 1-c).

전반적으로 각각의 염색에 의한 점액질의 염색정도와 충만 정도는 강한 양성반응을 나타내었으며 분비가 진행되어 중등도로 기관 상피점막 표피층에서 양성반응을 나타내었다. 점막은 상당히 비후되어 있었으며 탈락된 상피세포는 보이지 않고 핵의 농축도 관찰되지 않았다.

투여 1시간 경과 후 기관지

PAS-H : 공포화된 배상세포가 주로 관찰되었으며 점액질의 염색정도는 옅은 적색을 나타내며 세포의 형태는 원형이 대부분이고 점액의 유출은 별로 관찰되지 않았다(Fig 2-a).

AB-2.5 : 배상세포내 점액질의 염색정도는 옅은 청색을 나타내었고 유출은 거의 없으며 전체적인 점액

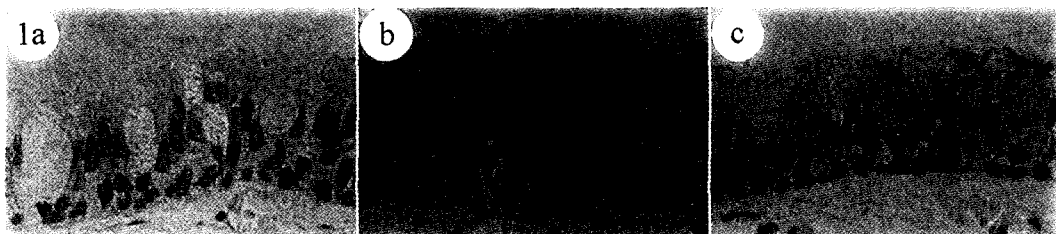


Fig 1. Trachea after inhaled ethyl ether for 1 hr: pooling of the strongly reactive mucosubstance in many goblet cells and the very swollen epithelium are observed. (a) PAS-H: The strongly reactive mucosubstance of fully formed goblet cells in the surface epithelium of the trachea are observed. (b) AB-2.5: Showing that goblet cells distended with the strongly reactive mucosubstance and the mucosal layer of the epithelium is very swollen. (c) AB-1.0: Pooling of the strongly reactive mucosubstance in goblet cells, with swollen epithelium.



Fig 2. Bronchi after inhaled ethyl ether for 1hr: Showing that few goblet cells containing the traceably reactive mucosubstance and almost normal epithelium. (a) PAS-H: A few goblet cells with the weakly reactive mucosubstance are observed. (b) AB-2.5: Few goblet cells are seen. (c) AB-1.0: Few goblet cells are seen.

질의 양은 미약한 양성으로 관찰되었다. 형태는 긴 조롱박 모양으로 비어 있는 세포가 미약한 양성 내지 중등도 정도로 나타났다(Fig 2-b).

AB-1.0 : 배상세포내 점액은 미약한 양성으로 세포를 찾아보기 힘들었으며 유출 정도도 거의 음성반응에 가까웠다(Fig 2-c).

전반적으로 각각의 염색에 의한 점액질의 염색도와 증만 정도는 약한 양성반응을 나타내었으며 기관상피 점막표피층에서 거의 음성에 가까운 양성반응을 나타내었고 점막은 비후되어 있지 않았다.

투여 2시간 경과 후 기관

PAS-H : 강한 적색으로 염색되는 점액질이 세포 밖으로 많은 양이 분비되어 강한 양성을 나타내었으며 대부분의 배상세포가 점액질로 가득 차고 조롱박 모양 및 커다란 원형으로 다양한 형태를 나타내었다(Fig 3-a).

AB-2.5 : 중간정도의 청색으로 염색된 점액질을 가진 배상세포가 많았으나 분비가 상당히 진행되어 점막표면에 짙은 청색으로 염색되는 점액질이 많이 눈에 띄었다. 대체적으로 공포화된 세포가 점액이 차있는 세포보다 미약한 정도로 많이 관찰되었다(Fig 3-b).

AB-1.0 : 대형의 배상세포가 군데군데 관찰되었고 얇은 청색으로 염색되는 점액질이 차있는 세포가 우세하였으며 점막표면 분비는 강한 양성을 나타내었다(Fig 3-c).

전체적으로 많은 세포들이 출현하였으며 점액에 대한 염색정도는 강한 양성을 나타내었다. 분비가 상당히 진행되어 점막표면의 점액은 많이 관찰되었으며 이와 함께 공포화된 세포들이 많이 관찰되었다. 점막은 상당히 비후되었으며 군데군데 탈락된 점막이 보이며 핵의 농축이 일어났다.

투여 2시간 경과 후 기관지

PAS-H : 배상세포내 점액질의 염색정도는 강한 양성을 나타내었으며 형태는 조롱박형태가 많았으며 분비정도는 중등도로 나타났다. 계속적으로 분비가 진행되는 형태로 공포화된 세포보다 점액을 함유한 세포가 우세하였다(Fig 4-a).

AB-2.5 : 배상세포의 숫자는 우세하였으나 세포내 염색정도는 약한 양성을 나타내었으며 공포화된 세포의 숫자가 우세하였다. 형태는 원형이며 분비 정도는 중등도로 관찰되었다(Fig 4-b).

AB-1.0 : 배상세포의 형태는 대형이며 원형으로 점



Fig 3. Trachea after inhaled ethyl ether for 2 hr: Showing that markedly increase in mucus secretion with swollen epithelium and compression of nuclei. (a) PAS-H: The strongly reactive mucosubstance covers the surface epithelium of the trachea. (b) AB-2.5: The moderately reactive mucosubstance are seen in the goblet cells and the surface epithelium of the trachea. (c) AB-1.0: The weakly reactive mucosubstance is observed in the goblet cells.



Fig 4. Bronchi after inhaled ethyl ether for 2 hr: Relatively many cells are observed, but followed by stain methods, the various degree of goblet cells are seen. (a) PAS-H: Showing that many goblet cells distended with the strongly reactive mucosubstance and the markedly increase in mucus epithelium. (b) AB-2.5: The mucus secretion and the swelling of the mucosal layer were moderately seen. But the mucosubstance in goblet cells stained the weakly reactive. (c) AB-1.0: The moderately and strongly reactive mucosubstance covers the epithelium and distended with goblet cells.

액질의 염색정도는 중등도로 분비가 시작되어 중등도로 점액질이 점막표면에서 관찰되었다(Fig 4-c).

전체적으로 배상세포의 숫자는 많았으며 점액의 분비가 진행되어 중등도로 상피 표면에서 관찰되었다. 점막은 중등도 내지 상당히 비후되어 있으며 점막의 탈락과 핵의 농축은 관찰되지 않았다.

Halothane 투여군

투여 1시간 경과 후 기관

PAS-H : 배상세포의 수는 중등도로 세포내 염색정도는 거의 음성에 가까우며 형태는 원형에 가까우며 외부 유출 정도는 중등도로 나타나며 공포화된 세포가 점액이 차 있는 세포에 비해 많이 나타났다(Fig 5-a).

AB-2.5 : 공포화된 배상세포가 중등도로 출현하였으며 점액질의 염색정도는 약한 양성을 나타내었고 분비된 점액질은 상피표면에 질게 염색되어 중등도의 양을 나타내었다(Fig 5-b).

AB-1.0 : 분비가 거의 끝난 형태로 배상세포는 원형이며 대형으로 공포화 된 것이 많이 관찰되었고 분비된 점액의 염색정도는 중등도이고 세포내 점액질의 염색은 미약한 양성을 나타내었다(Fig 5-c).

전반적으로 각각의 염색에 의한 점액질의 염색정도와 증만 정도는 미약한 양성을 나타내었고 배상세포

는 중등도로 관찰되었고 분비가 거의 끝나 공포화된 세포가 많이 관찰되었다. 점막의 비후는 약한 양성 내지 중등도로 비후되어 있으며 탈락 세포와 핵의 농축은 관찰되지 않았다.

투여 1시간 경과 후 기관지

PAS-H : 배상세포는 별로 관찰되지 않았으며 간혹 커다란 세포들이 관찰되었다. 세포내 염색정도는 미약한 양성으로 공포화된 세포들이 주종을 이루었고 분비된 점액의 양은 중등도로 관찰되었다(Fig 6-a).

AB-2.5 : 배상세포는 미약하게 관찰되었고 염색정도도 음성에 가까운 양성을 나타내었다. 분비된 점액은 관찰되지 않았다(Fig 6-b).

AB-1.0 : 원형이며 중등도 크기의 공포화된 배상세포가 우세하게 관찰되었고 세포내 염색정도는 미약한 양성으로 분비된 점액은 관찰되지 않았다(Fig 6-c).

전체적으로 배상세포는 관찰하기가 어려울 정도로 별로 나타나지 않았고 관찰되더라도 공포화 되어 있었으며 미약한 염색반응을 보였다. 분비된 점액은 별로 없었다. 점막의 비후는 뚜렷하지 않았고 그 이외의 특별한 소견은 보이지 않았다.

투여 2시간 경과 후 기관

PAS-H : 배상세포내 점액질의 염색정도는 중등도로 세포의 형태는 대형에서 질게 염색되는 작은점 형



Fig 5. Trachea after inhaled halothane for 1hr: This section serial shows predominantly PAS-H reactive cells and AB-2.5 reactive cells. The epithelium is weakly swollen. (a) PAS-H: The traceably reactive mucosubstance is seen in goblet cells. (b) AB-2.5: The weakly reactive mucosubstance filled in goblet cells. (c) AB-1.0: A few goblet cells and normal epithelium are observed.



Fig 6. Bronchi after inhaled halothane for 1hr: A few goblet cells with the traceably reactive mucosubstance and the normal epithelium are seen. (a) PAS-H: The weakly reactive mucosubstance are seen in a few goblet cell. (b) AB-2.5: Relatively few cells are seen. (c) AB-1.0: No goblet cells are seen.

태로 다양하다. 외부 유출정도는 미약한 양성이며 공포화된 세포보다 점액이 차있는 세포가 우세하며 전체적인 세포는 중등도로 출현하였다(Fig 7-a).

AB-2.5 : 출현된 세포의 수는 중등도이며 염색정도는 미약한 청색으로 분비정도는 거의 음성에 가까우며 전체적인 점액질의 양은 미약한 양성 정도로 관찰되었으며 소형이며 원형인 점액질이 차있는 세포가 우세하였다(Fig. 7-b).

AB-1.0 : 배상세포는 미약한 양성 내지 중등도로 출현하고 점액질의 염색정도는 미약한 양성이며 분비된 점액질도 미약한 양성이고 전체적인 양도 미약하게 양성을 나타냈다. 세포의 형태는 점액질이 차있는 원형이고 대형인 세포가 주로 관찰되었다(Fig 7-c).

전체적으로 배상세포는 중등도 정도로 출현하였으며 분비는 미약한 양성이며 세포의 형태는 다양하였으며 전체적인 점액질의 양은 중등도 내지 미약한 양성이었다. 점막은 중등도로 비후되어 있으며 군데군데 점막 및 세포탈락이 보였다.

투여 2시간 경과 후 기관지

PAS-H : 배상세포내 점액질의 염색정도는 중등도

이며 분비는 미약하며 세포는 전체적으로 미약하게 관찰되었다. 형태는 조롱박 형태를 띠었다(Fig 8-a).

AB-2.5 : 배상세포와 점액은 관찰되지 않았다(Fig 8-b).

AB-1.0 : 배상세포와 점액은 관찰되지 않았다(Fig 8-c).

전체적으로 배상세포는 거의 출현하지 않았으며 분비된 점액도 미약하게 관찰되었다. 점막의 비후는 중등도로 관찰되었다.

Isoflurane 투여군

투여 1시간 경과 후 기관

PAS-H : 배상세포는 중등도로 나타났으며 주로 공포화된 원형으로 상피세포내 점액질의 염색정도는 미약한 적색으로 내강으로 유출된 점액은 중등도로 관찰되었다(Fig 9-a).

AB-2.5 : 연한 청색으로 염색된 점액질을 함유한 배상세포가 상당히 증가 정도로 나타났으며 형태는 원형 내지 조롱박 형태로 다양하게 나타났다. 기관 내강 분비정도는 중등도내지 강한 양성을 보여 분비가



Fig 7. Trachea after inhaled halothane for 2 hrs: Showing that a weakly increased goblet cells filled with the mucosubstance are observed in the epithelium. Mucosal layer have the normal thickness. (a) PAS-H: Showing that the moderately reactive mucosubstance filled in goblet cells and vacuolized cells. (b) AB-2.5: The weakly reactive mucosubstance are seen in goblet cells and the swelling of the mucosal layer are not seen. (c) AB-1.0: The traceably reactive mucosubstance in goblet cells are seen.



Fig 8. Bronchi after inhaled halothane for 2 hr: The section serial have relatively few cells and are observed relatively prominent the PAS-H reactive mucosubstance. The epithelium is moderately swollen. (a) PAS-H: A few goblet cells filled with the moderately reactive mucosubstance are observed in the epithelium. (b) AB-2.5: The weakly reactive mucosubstance are seen. (c) AB-1.0: No goblet cells are seen.

어느 정도 진행되어 보였다(Fig 9-b).

AB-1.0 : 배상세포는 미약한 양성 정도로 세포내 점액질의 염색정도는 연한 청색이고 전체적으로 관찰되는 양도 미약한 양성이며 분비된 점액질은 기관 점막표면을 따라 고르게 분포하였다(Fig 9-c).

전체적으로 분비가 진행되어 공포화된 배상세포가 주로 관찰되었으며 점액질의 염색정도는 미약한 양성을 띄고 점막표면의 분비는 중등도 정도로 나타났다. 미약한 정도의 점막 비후가 나타났으나 그 이외의 특징적인 것은 없다.

투여 1시간 경과 후 기관지

PAS-H : 배상세포는 중등도 내지 강한 양성으로 출현되었으며 주로 공포화된 원형으로 세포내 점액질의 염색정도는 미약한 적색으로 기관 내강내 분비된 점액질의 양은 강한 양성정도로 나타났고 전체적인 점액질의 양은 강한 양성을 띄었다(Fig 10-a).

AB-2.5 : 배상세포는 원형이며 공포화되었으며 미약한 양성 내지 중등도로 관찰되며 세포내 점액질의 염색정도는 중등도이며 분비된 점액질은 군데군데 눈에 띄어 전체적인 양은 미약한 양성이었다(Fig 10-b).

AB-1.0 : 원형이며 중대형 정도 크기의 배상세포는 중등도로 출현하였으며 점액질의 염색정도는 중등도

의 청색이며 분비된 점액질의 양은 미약한 양성을 띄었다(Fig 10-c).

전체적으로 출현된 배상세포는 중등도이며 분비된 점액질의 양은 다양하였으며 약간씩 분비가 진행되던지 분비가 끝난 것 등 각각의 염색에 따라 다양하게 나타났다. 점막은 미약하게 비후되어 있고 별다른 특징은 관찰되지 않았다.

투여 2시간 경과 후 기관

PAS-H : 배상세포는 분비가 되고있는 단계이며 출현된 세포는 중등도이고 염색정도는 강한 적색으로 외부유출 정도는 중등도이며 공포화된 세포가 우세하였으며 형태는 원형과 긴조롱박 형태 등 다양하게 관찰되었다(Fig. 11-a).

AB-2.5 : 출현된 배상세포는 중등도 내지 강한 양성으로 분비된 점액질이 강한 양성 정도로 많았으며 염색정도는 미약한 청색을 띄었다(Fig 11-b).

AB-1.0 : 배상세포는 중등도 청색으로 염색된 점액질이 차있으며 전체적인 점액질의 양은 중등도로 미약한 양의 점액질이 점막상피층에서 관찰되었다(Fig 11-c).

전체적으로 출현된 배상세포는 중등도이며 점액질의 양은 중등도로 분비된 점액질은 염색에 따라 다양

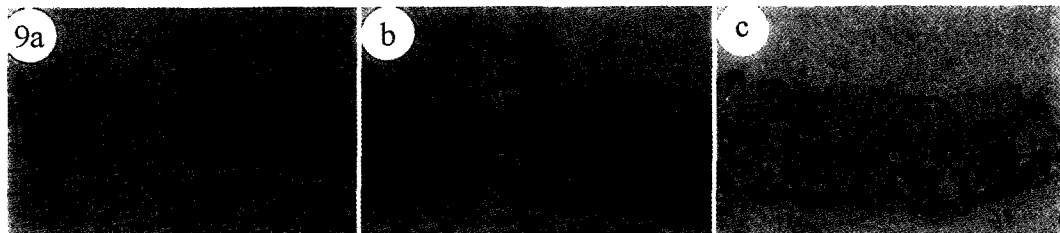


Fig 9. Trachea after inhaled isoflurane for 1hr: A large, rounded goblet cells filled with the mucosubstance are seen in the epithelium. The weakly thick static mucous epithelium are observed. (a) PAS-H: There are moderate goblet cells containing the weakly reactive mucosubstance in the bronchial epithelium. Showing that the mucus covers moderately the epithelium. (b) AB-2.5: There are moderate goblet cells containing the weakly reactive mucosubstance. (c) AB-1.0: A few goblet cells containing the moderately reactive mucosubstance are observed and covers moderately the epithelium.



Fig 10. Bronchi after inhaled isoflurane for 1 hr: There are many vacuolized goblet cells and the surface covered the mucosubstances. (a) PAS-H: Moderate increase in the mucous cell secretion and the weakly reactive mucosubstance are observed. The much secreted mucosubstance cover the epithelium. (b) AB-2.5: Goblet cells contain the weakly reactive mucosubstance and markedly increased in mucus secretion. (c) AB-1.0: Weakly reactive mucosubstance covers the epithelium.

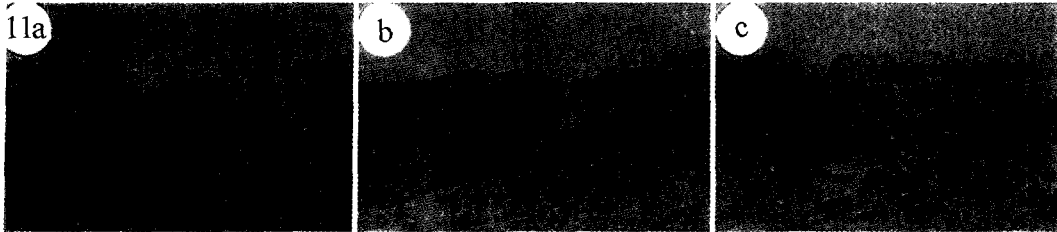


Fig 11. Trachea after inhaled isoflurane for 2hrs: Showing that the thick of the mucosal layer is moderately increased and the cells increased moderately. (a) PAS-H: The moderately reactive mucosubstance are seen in the goblet cells and the compression of nuclei seen. (b) AB-2.5: The moderate increase in the mucous cell secretion and goblet cells containing the weakly reactive mucosubstance are observed. (c) AB-1.0: The moderate sized, vacuolized goblet cells and the weakly reactive mucosubstance are observed.

하게 나타났으며 분비가 진행되고 있어 세포내 점액질의 염색은 중등도 내지 미약한 양상을 나타내었다. 핵의 농축 및 점막의 중등도 정도의 비후가 나타났다.
투여 2시간 경과 후 기관지

PAS-H : 배상세포는 미약한 양성으로 세포내 점액질의 염색은 중등도 적색을 띄나 세포의 크기는 소형이며 원형이었다. 전체적인 점액질의 양은 미약한 양성이고 외부 유출 정도도 미약한 양상을 띄었다(Fig

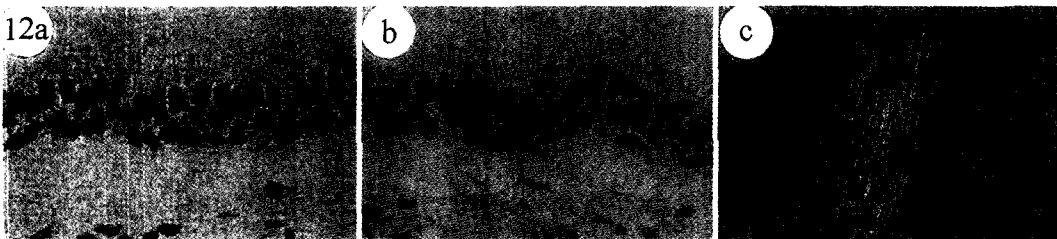


Fig 12. Bronchi after inhaled isoflurane for 2 hrs: Few goblet cells are seen. (a) PAS-H: Moderately reactive mucosubstance in a goblet cell are observed and mucus covers the epithelium. (b) AB-2.5: No goblet cell is observed. (c) AB-1.0: No goblet cell is observed.

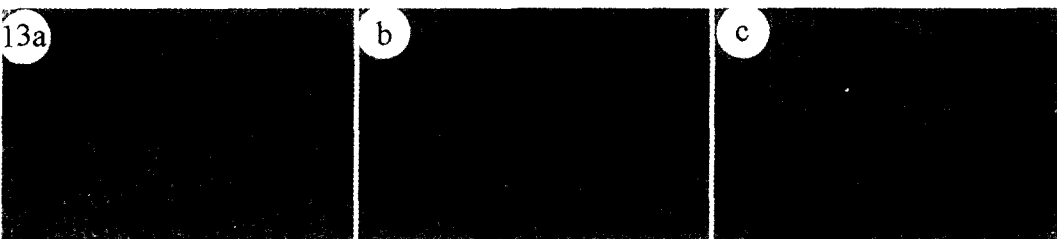


Fig 13. Control group trachea. (a) PAS-H, (b) AB-2.5, (c) AB-1.0.



Fig 14. Control group bronchi. (a) PAS-H, (b) AB-2.5, (c) AB-1.0.

12-a).

AB-2.5 : 배상세포와 점액질은 관찰되지 않았다(Fig 12-b).

AB-1.0 : 배상세포와 점액질은 관찰되지 않았다(Fig 12-c).

전체적으로 배상세포는 거의 출현하지 않았으며 기관지 내강으로 분비된 점액질도 거의 음성에 가깝게 관찰되었으며 점막의 비후는 관찰되지 않았다.

흡입마취제에 의한 호흡기도 점막의 자극은 점액분비를 증가시킬 수 있는데, 상피하 자극수용체에 자극을 가해 상피세포의 투과성을 변화시킨다³. 이는 호흡을 방해하여 수술시 예기치 못한 위험을 초래하며 감염에 대한 폐조직의 저항성을 감소시키고 수술 후 폐렴에 대한 감수성을 증가시킨다¹¹. 특히 단독종의 개에서는 분비를 억제시키는 약의 투여 없이 전신마취제의 사용은 위험하다¹¹.

호흡기도는 기능적으로 전달부 기도와 가스를 교환하는 기도로 나뉘어 있는데 전달부 기도에서 기관은

고 찰

Table 1. The reactivity of PAS-H stain of lower respiratory tract of rabbits

| | Histologic site | Exposure time | GC No. | Stain colour | Degree of mucus secretion | Swelling of mucosal layer | Condensation of nuclei |
|-------------|-----------------|---------------|--------|--------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|
| Ethyl ether | Trachea | 1h | +++ | ++R | ++ | +++ | - |
| | | 2h | +++ | +++R | +++ | +++ | + |
| | Bronchi | 1h | ++ | +R | ± | ± | - |
| | | 2h | +++ | +++R | ++ | +++ | - |
| Halothane | Trachea | 1h | ++ | ±R | +++ | +++ | - |
| | | 2h | ++ | ++R | + | ++ | - |
| | Bronchi | 1h | + | +R | ++ | - | - |
| | | 2h | + | ++R | + | ++ | - |
| Isoflurane | Trachea | 1h | ++ | +R | ++ | + | - |
| | | 2h | ++ | ++R | ++ | ++ | + |
| | Bronchi | 1h | ++ | +R | +++ | + | - |
| | | 2h | + | ++R | + | - | - |

GC : goblet cell, R : red.

Table 2. The reactivity of Alcian blue pH2.5 stain of lower respiratory tract of rabbits

| | Histologic site | Exposure time | GC No. | Stain colour | Degree of mucus secretion | Swelling of mucosal layer | Condensation of nuclei |
|-------------|-----------------|---------------|--------|--------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|
| Ethyl ether | Trachea | 1h | +++ | +++B | +++ | +++ | - |
| | | 2h | +++ | ++B | +++ | +++ | + |
| | Bronchi | 1h | +++ | +B | ± | ± | - |
| | | 2h | +++ | +B | ++ | +++ | - |
| Halothane | Trachea | 1h | ++ | +B | +++ | +++ | - |
| | | 2h | ++ | +B | ± | ++ | - |
| | Bronchi | 1h | ± | +B | - | - | - |
| | | 2h | + | +B | + | ++ | - |
| Isoflurane | Trachea | 1h | +++ | +B | ++ | + | - |
| | | 2h | +++ | +B | ++ | ++ | + |
| | Bronchi | 1h | +++ | +B | +++ | + | - |
| | | 2h | - | - | + | - | - |

GC : goblet cell, B : blue.

Table 3. The reactivity of Alcian blue pH1.0 stain of lower respiratory tract of rabbits

| | Histologic site | Exposure time | GC No. | Stain colour | Degree of mucus secretion | Swelling of mucosal layer | Condensation of nuclei |
|-------------|-----------------|---------------|--------|--------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|
| Ethyl ether | Trachea | 1h | +++ | +++B | +~++ | +++ | - |
| | | 2h | ++ | +B | +++ | +++ | + |
| | Bronchi | 1h | - | - | ± | ± | - |
| | | 2h | ++ | ++B | ++ | +++~++++ | - |
| Halothane | Trachea | 1h | + | +++B | +++ | +~++ | - |
| | | 2h | + | +B | ± | ++ | - |
| | Bronchi | 1h | - | - | - | - | - |
| | | 2h | - | - | - | ++ | - |
| Isoflurane | Trachea | 1h | + | ++B | ++ | + | - |
| | | 2h | ++ | +B | ++ | ++ | + |
| | Bronchi | 1h | ++ | +B | +++ | + | - |
| | | 2h | - | - | + | - | - |

GC : goblet cell, B : blue.

배상세포를 가진 위중층섬모상피로 덮여 있으며, 하부조직에는 장액선과 점액선이 있다. 섬모의 운동에 의한 호흡기 분비물의 추진 방향은 주로 인두쪽이며 배출된 물질들은 그곳에서 연하된다^{6,20}.

기관지는 그 구조와 기능이 기관과 유사하며 크기는 기관-기관지로 분지될 때마다 작아져서 직경 1~2 mm에 달하고 배상세포의 수도 감소한다²⁰.

기도점막의 자극에 대한 즉각적인 반응은 점액분비를 증가시키는 것으로 이것은 기계적 손상, 화학적 자극, 어떤 세균독소에 의하고 점액은 기도 상피표면의 배상세포와 장액세포 그리고 점막하조직의 점액 및 장액선에서 분비되며 정상 성인의 경우 하루에 10~100 ml에 이른다^{6,15,20}.

점액은 water, glycoproteins, immunoglobulins, salts, transepithelial ion과 water transport로부터 생성된 fluid로 구성된 복합 혼합물로 이것이 호흡기 점막의 표면에 분비될 때 얇고 이층의 점막 film이 세포위에 형성된다. 이 film의 외층은 점조하며 gel 상태이고 내층은 fluid 또는 sol 상태이며 불연속적으로 호흡기 표면의 대부분을 덮고 있다 따라서 섬모는 얇은 섬모주위 sol 층 내에서 고동치고 있고 점성의 방수성 표면 gel 층에는 섬모의 첨단부나 고리 부분만이 도달해 있게 된다^{16,20}.

이 기도 점액은 섬모기능을 원활하게 할 증발이나 독소에 대한 장벽역할과 어떤 입자가 부착할 수 있는 매개체로서 필요한데, Gesner와 Ginsburg(1964)는 세포표면에 있는 sialoglycopeptide가 세포인지에 중요한

역할을 하고 세포수용기를 제공한다고 하였으며, Lippman(1965)은 sulfa 점액질이 세포증식에 중요한 역할을 한다고 하였고, Shrager(1971)는 점액이 점막 상피세포에 유동적인 방어막을 설치하여 점액세포의 미세환경을 유지시키는 방어장치라고 하였다^{20,21}. 또한 mucociliary blanket는 toxic gas를 물리적으로 제거하고 상처가 나는 것을 방지하는 역할을 하는데 만약 용해된 gas가 mucociliary blanket으로 들어오면 점액과 혼합되어 폐포로 도달하는 gas의 농도를 감소시킨다⁷.

위중층섬모원주상피는 상처에 대단히 민감한데, 상처는 생화학적으로 비가역적이어서 세포는 부종이 일어나고 기저막으로부터 떨어진다. 이러한 세포 부착의 실패는 결과적으로 빠른 세포의 탈피와 점막의 궤양을 일으키며 상처 후 2시간부터 치유가 시작되어 완전히 복구되는 데는 7일이 소요된다¹⁶.

배상세포는 보통의 섬모원주점막세포로부터 기원하며 형성은 점막상피 자극의 결과이고 상대적으로 장기간 생존하며 교감신경이나 부교감신경 같은 자율신경의 지배를 받지 않는다^{13,15}. 배상세포는 자극이나 신경지배가 없는 상태하에서 단일 점액과립을 함유한 점액을 느리고 지속적으로 간헐적으로 방출한다. 비록 개개의 배상세포에서 수송과 분비율이 매우 다양할지라도 평균 분비율은 일정하다¹⁵.

자극시 생리적 변화는 분비의 증가로 특징지어질 수 있는데 배상세포의 수와 활동성의 증가는 일차적인 조직학적인 변화이며, 진행이 계속됨에 따라 점액

생산세포는 과증식과 과활동에 의해 정상적 상피를 완전히 대체한다. 뒤이어 상피내 점액의 저류가 일어나고 끝내 기저세포를 포함하지 않는 상피의 탈락과 더불어 기관, 기관지 내강속으로 저류된 점액의 분비가 일어난다. 분비가 끝난 배상세포는 자극이 제거된 후 단일 세포선으로서 기능을 계속하거나, 탈락, 보통의 원주섬모상피로의 전환을 한다¹³.

분비된 점액은 여러가지가 혼합된 복합물로서 polysaccharides와 protein의 복합물로서 carbohydrate가 우세한 mucopolysaccharides, polysaccharide와 fat의 복합물인 mucolipids, polysaccharide와 protein의 복합물로서 protein이 우세한 mucoproteins로 나눌 수 있는 mucoid carbohydrates이다.

Spicer 등(1965)은 이러한 점액물질의 조직에서의 위치(결합 조직성과 상피성 점액)와 조직화학적 특징(sialic acid, sulphate, glycol groups)에 따라 분류했다. 결합조직의 mucin은 특징이 잘 알려진 반면 상피성 점액은 덜 알려져 있다⁴.

또한, Spicer 등(1963)은 설치류의 점액 다당류를 중성 점액 다당류와 산성점액 다당류로 구분하고, 산성 점액 다당류는 sulfa 점액질, bisulfa 점액질, hyaluronic acid 및 불확실한 산성 점액질로 세분하였으며 이러한 점액다당류의 구분에 alcian blue 염색이나 반응이 매우 효과적이라고 하였다^{8,21}.

PAS-H에 가장 강하게 반응하는 carbohydrate는 polysaccharides, neutral mucopolysaccharides, mucoproteins, glycoproteins, glucolipids이며 acid mucopolysaccharides는 미약하게 양성 혹은 음성을 나타낸다⁴.

Alcian blue 염색은 단순 acid와 complex sulphated mucopolysaccharides를 염색하는데 강하게 sulfate되어 있을수록 강하게 발색된다^{4,17}.

본 연구에서 사용된 ethyl ether는 현재 거의 사용을 하지 않는데 조직에 대한 독성이 강하고 호흡기도에 대한 자극성이 강해 호흡억제 및 점액의 분비를 증가시켜 폐렴이나 호흡기계의 합병증을 유발시킨다¹¹.

Halothane과 isoflurane의 기도에 대한 작용기전은 기도평활근에 대한 직접적 효과만큼 기도반사의 억압을 포함하여 유사하고 복잡하나 halothane은 호흡기도 점막을 자극하지 않고 상기도 분비량도 증가시키지 않아 마취 기간동안 타액, 점액, 기관지 분비를 일으키지 않는다^{3,11}.

Isoflurane은 타액분비가 증가되고 호흡기 점막을 자극하여 호흡정지, 기침 및 후두경련을 일으킬 수 있으며 호흡억제 작용이 있어 호흡량은 감소되나 호흡횟수는 증가되는 것이 특징이다^{5,11}.

각 흡입 마취제에 대한 평가는 전달부 기도(기관과 기관지)를 중심으로 하였는데, 동일한 조건하에서 출현된 배상세포와 점막의 비후 정도, 각 염색법에 의한 점액의 염색정도 및 분비 정도로 평가하였다.

배상세포에 대한 영향 평가에서 가장 많은 배상세포가 출현한 것은 ethyl ether 투여군으로 초기 자극에 의한 강한 양성 정도의 배상세포가 출현하였는데 이는 기관에 대한 영향이 기관지에 대한 영향보다 크며 각 노출 시간을 비교하였을 때 기관은 1시간에서 커다란 영향이 없다가 2시간에서 배상세포가 뚜렷이 증가되어 진 것으로 평가되어지며 halothane에서는 마취제에 대한 배상세포의 출현이 기관에서는 중등도로 증가되었으나 기관지에서는 영향이 거의 없게 나타났고 isoflurane은 초기 자극에 대한 배상세포의 출현이 뚜렷하였으나 기관이 어느 정도 지속적으로 유지되어진 반면 기관지는 2시간에서 거의 세포들을 관찰하기 힘들었다. 기관과 기관지에 대한 영향을 비교시에 각각의 마취제 모두 기관지가 기관에 비해 배상세포의 출현이 감소되어져 나타났는데 이는 마취제가 기관에 우선 많은 양의 자극을 주고 시간의 경과에 따라 기관지로의 마취제의 농도 증가가 일어나 자극이 강해지는 원인이 있을 수 있으며, 또한 배상세포의 숫자는 언급되었듯이 기관에서 기관지로 내려가면서 줄어들어 관찰시에 적게 보인 것 같다. 염색법에 따른 평가는 단일성분의 점액을 분비하는 배상세포를 구분하여 각각의 흡입 마취제에 따른 배상세포의 출현으로 각각의 흡입 마취제가 어떠한 성분을 분비하는 배상세포에 영향을 미치나 평가하기 위한 것으로 ethyl ether 투여 1시간 경과 후 기관은 전반적으로 모든 염색에 강한 양성을 나타내었으며 2시간 경과 후 여전히 강한 양성을 나타내었으나 AB-1.0에서 중등도로 낮아졌다. AB-1.0은 강산의 sulfomucin을 염색하기 위한 것으로 지속적 자극에 의해 기관내 분비가 어느 정도 저하됨을 나타낸다. Ethyl ether 투여 1시간 경과 후 기관지는 강산의 sulfomucin을 함유한 배상세포는 전혀 출현하지 않았으며 2시간 경과 후 중등도 정도로 AB-1.0에서 출현하였다. 주로 가장 많은 부분을 차지하는 점액성분은 PAS-H반응에 나타나는 polysaccharides, neutral mucopolysaccharides, mucoproteins, glycoproteins, glucolipids이며 AB-2.5에서는 약산의 sulfomucin과 sialomucin이며 AB-1.0은 강산의 sulfomucin 등으로 ethyl ether 투여군에서는 가장 적게 관찰되었다. Halothane 투여군에서는 전체적으로 별다른 변화는 없었으며 기관 및 기관지에서 PAS-H positive mucin을 함유한 세포가 주로 나타났다. Isoflurane 투

여균에서는 AB-2.5에서 강한 양성을 나타내었고 PAS-H positive mucin은 일정하게 중등도로 나타났다. 각 마취제의 차이는 있었지만 각각의 점액 성분을 함유한 배상세포 중에서 가장 많은 비율을 차지한 것은 PAS-H positive mucosubstance로 이것은 각 동물의 특성에 따라 차이가 있겠지만 상기에서 언급한대로 acid mucosubstance를 제외한 carbohydrate가 대부분을 차지한다고 할 수 있다.

배상세포내 점액질의 염색정도에 대한 평가에서 배상세포내 점액질의 염색정도는 세포의 출현 빈도와 거의 일치하였으며 PAS-H 반응에서는 시간의 경과에 따라 모든 마취군에서 증가하였고 AB-2.5 및 AB-1.0에서는 감소 내지 같은 수준을 유지하였는데 이는 시간의 경과에 따라 배상세포내 PAS-H 반응에 양성인 점액의 생산은 증가하는 반면 acid mucosubstances는 감소하거나 일정하게 유지되는 경향을 나타내었다.

점액분비 정도에 대한 평가에서 ethyl ether 투여군에서는 기관 및 기관지 내강의 점액분비는 모든 염색에서 일정하게 시간이 경과됨에 따라 증가하는 것으로 나타나고 나머지 투여군에서는 초기에 증가하였다가 감소하는 것으로 나타났다. 이것은 ethyl ether의 자극은 지속적으로 나타나 시간이 경과됨에 따라서 배상세포내 함유된 점액이 세포 밖으로 흘러 나와 증가하는 것이며 halothane 투여군은 대조군과 비교했을 때 별다른 자극이 없었으나 기관에 대한 초기 자극은 나타나 있고 isoflurane은 초기 자극후 점차 자극의 감소에 의해 세포 수의 감소와 더불어 생산되는 점액도 점차 줄어들어 고갈되어 진 것으로 나타났다.

점막 비후 정도에 대한 평가에서 점막의 비후도는 ethyl ether 투여군에서 가장 강했으며 특히 투여시간의 경과에 따라 점막의 비후 정도가 달라졌는데 기관은 초기 자극에 의한 강한 비후를 나타내어 기관 및 기관지 점막에 계속적인 자극이 가해졌음을 나타낸다. Halothane 투여군은 별다른 변화가 없었으나 기관지가 시간의 경과에 따라 중등도로 비후되었음을 나타낸다. Isoflurane은 초기 자극 후 기관은 중등도로 비후되었고 기관지는 대조군과 같은 비후도를 나타내었는데 이는 전체적으로 기관에 대한 각각의 흡입마취제의 영향이 기관지에 비해 큰데 상기에서 언급한대로 생산된 점액은 기관에서 기관지 내로의 마취제의 이동을 방해하여 점막에 대한 자극의 강도를 감소시키는 것으로 보여진다.

핵의 농축 정도에 대한 평가에서 점액의 분비가 끝난 후 핵의 농축이 일어나는데 halothane 투여군에서는 전혀 핵의 농축이 관찰되지 않았으며 ethyl ether

투여군의 기관과 isoflurane 투여군의 기관에서 2시간 노출 후 핵의 농축이 관찰되었다. 이것은 ethyl ether의 강한 자극과 isoflurane의 자극이 빠른 점액의 분비를 일으키고 핵의 농축이 일어났음을 시사한다.

이와 같은 모든 평가기준을 거쳐 상기에서 언급한 바와 같이 ethyl ether와 isoflurane은 점막에 대한 자극이 있음을 알 수 있고 halothane은 점막에 대한 자극이 미약하게 나타났다.

이는 현재까지의 연구들에서 halothane이 기도내 점막자극을 하지 않는다고 하였으나 점막자극에 대한 평가가 조직화학적 접근이 이루어지지 않은 상태에서 나온 결론이며 또한 많은 요소가 호흡기도 점액분비에 영향을 미치므로 더욱더 깊은 연구가 이루어져야 한다고 생각되며 임상에서 halothane을 사용할 때 기도내 점액분비는 미약하므로 수술 환측에 어떠한 영향을 주리라고는 판단되지 않는다.

결 론

24마리의 토끼를 대상으로 ethyl ether, halothane, isoflurane을 흡입시켜 기도 점막에 대한 자극 정도를 비교하기 위하여 조직화학적 방법(PAS-H stain, AB pH 2.5, AB pH1.0)을 사용하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

호흡기도에 대한 자극 정도는 ethyl ether가 가장 강하였는데 ethyl ether는 투여 1시간 후 자극과 투여 2시간 후 자극이 강한 양성 정도로 장시간 지속되었고 isoflurane은 초기에는 자극이 강하였으나 투여 2시간 후에는 자극정도가 미약하게 나타났다. Halothane은 투여 1시간 후와 2시간 후에 자극 정도는 상당히 미약하였으며 투여 1시간 후와 투여 2시간 후를 비교하였을 때 약간의 자극이 나타났다. 기도내 점액 분비는 ethyl ether가 강한 양성으로 1시간과 2시간 투여 후 > isoflurane > halothane 순으로 나타났다. 각각의 흡입마취제에 대한 토끼의 점액성분의 비교는 PAS-H positive mucosubstances > Alcian blue pH 2.5 positive mucosubstances > Alcian blue pH 1.0 positive mucosubstance 순으로 나타났다. 가장 먼저 영향을 받은 부위는 기관이며 기관지는 시간의 경과에 따라 영향을 받았으나 isoflurane은 초기의 자극 정도가 심해 기관지는 영향을 크게 받지 않았다.

참 고 문 헌

1. Bang BG, Bang FB. Responses of upper respiratory

- mucosae to dehydration and infection. *Ann N Y Acad Sci* 1963; 106(Art 2): 626-630.
2. Belanger LF. Comparisons between different histochemical and histophysical techniques as applied to mucous-secreting cells. *Ann N Y Acad Sci* 1963; 106(Art 2): 364-378.
 3. Carol AH. Mechanism of action of Inhalational anesthesia on Airways. *Anesthesiology* 1982; 56: 107-111.
 4. Drury RAB, Wallington EA. *Carleton's Histological technique*. 5th ed. Oxford university press. 1980: 232-259.
 5. Edmond I, Eger II. Isoflurane : A review. *Anesthesiology* 1981; 55: 559-576.
 6. Ettinger SJ, Feldman EC. *Textbook of Veterinary Internal medicine* 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co. 1995: 754-755.
 7. Falk HL, Kotin P, Rowlette W. The response of mucus-secreting epithelium and mucus to irritants. *Ann N Y Acad Sci* 1963; 106(Art 2): 586-608.
 8. Kenneth BA, David HH, John EC. Effect of Cholera Toxin on Secretion of Explants of Guinea Pig Trachea. *Lab Invest* 1981; 45: 372-377.
 9. Kwart H, Mosley WW, Katz M. The chemical characterization of human tracheobronchial secretion : A possible due to the origin of fibrocytic mucus. *Ann N Y Acad Sci* 1963; 106(Art 2): 709-721.
 10. Lev R, Spicer SS. Specific staining of sulphate groups with Alcian blue at low pH. *J Histochem Cytochem* 1964; 12: 309.
 11. Lumb WV, Jones EW. *Veterinary Anesthesia*. 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger. 1984: 213-239.
 12. Pierce CH, Hirsch JG. Cilliocytophthoria ; Relationship to viral respiratory infections of humans. *Proc Soc Exp Bio Med* 1958; 98: 489-492.
 13. Rolando VG, Milton BK, Otto CB. Comparison of mucus glands in the tracheobrochial tree of man and animals. *Ann N Y Acad Sci* 1963; 106(Art 2): 555-571.
 14. Steedman HF. Alcian blue 8GS ; A new stain for mucin. *Quart J Microbiol Sci* 1950; 91: 477-479.
 15. Specian RD, Neutra MR. Mechanism of rapid mucus secretion in goblet cells by acetylcholine. *J Cell Biol* 1980; 85: 626-640.
 16. Spicer SS. Histochemical differentiation of mammalian mucopolysaccharides. *Ann N Y Acad Sci* 1963; 106 (Art 2): 379-388.
 17. Spicer SS, Meyer DB. Histochemical differentiation of acid mucopolysaccharides by means of combined aldehyde fuchsin-alcian blue staining. *Am J Clin Path* 1960; 33: 453-460.
 18. Spicer SS, Sun DCH. The role of the mucus barrier in the defense of the stomach vs peptic ulceration, carbohydrate histochemistry of gastric epithelial secretions in dog. *Ann N Y Sci* 1967; 140(Art 2): 762-783.
 19. William VL, Wynn JE. *Vetrinary anesthesia*. Philadelphia: Lea & Febiger. 1984: 101-114.
 20. 박남용. *수의 병리학 각론*. 서울: 기전연구소. 1992: 90-91.
 21. 백두진, 안동춘, 김동욱. 출생후 작은창자에서 나타나는 점액질 변화에 대한 연구. *체질인류학회지* 1997; 10(1): 75-92.