

## 나일틸라피아 (*Oreochromis niloticus*)의 실험적 출혈성과 용혈성 빈혈의 병리학적 연구

송나영 · 최혜정 · 이무근 · 허민도<sup>†</sup>  
부경대학교 수산생명의학과

### Pathological study on experimental hemorrhagic and hemolytic anemia in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*

Na Young Song, Hye Jeong Choi, Mu Kun Lee and Min Do Huh<sup>†</sup>

Department of Aquatic Life Medicine, College of Fisheries Science,  
Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

This study was conducted to know the differences in pathology between artificially induced hemorrhagic anemia (EHA) and hemolytic anemia (ELA) during the anemic and recovery course, using Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). EHA were induced by repeated bleedings with a volume of about 1% of body weight through caudal vein. ELA were induced by intraperitoneal injections of 1% phenylhydrazine for 2 times. A period of 16 to 49th day was arbitrarily taken as a recovery phase. There were no prominent clinical signs and gross findings except for pale gills during the anemic state of both. Characteristic erythrocytes with a weekly stained cytoplasm started appearing on the 12th day in both and were still noted on the 49 and 20th day respectively in EHA and ELA. EHA and ELA were normocytic hypochromic and macrocytic normochromic in type respectively, although both were normocytic hypochromic during the recovery phase. In liver, fatty degeneration around central vein on the 12~38th day in EHA and hyaline degeneration around central vein on the 12~26th day in ELA were found. In head kidney, increased hemopoiesis was observed on the 12~26th day in EHA and on the 2~12th day in ELA, and macrophages engulfing erythrocytes were observed on the 16~38th day in EHA and on the 2~12th days in ELA. In spleen, activated ellipsoids on the 12~26th day in EHA, and on the 2~20th day in ELA. In ELA, severe accumulation of hemosiderin in both spleen and head kidney were constantly noted from the 2~49th day. On the 49th, Ht was recovered but Hb was still lower than that of control in both anemia.

*Key words* : Anemia, Recovery, Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, Phenylhydrazine

빈혈 (anemia)이란 말초 혈액 내에 순환하고 있는 적혈구 부피의 감소 또는 헤모글로빈 (Hb) 량의 감소, 또는 그 양자가 해당하는 경우를 말하며, 빈혈의 결과, 조직이나 장기에 공급되는 산소의 부족을 초래할 수 있음을 의미한다. 순환하는 적혈구의 부피를 직접적으로 계산할 수 없기 때문에 hematocrit (Ht) 수치와 Hb 농도로 빈

혈을 판단한다. 어류에서는 일반적으로 아가미가 창백하고 혈액이 묽으며, Ht 수치가 낮으면 빈혈이라고 판단한다.

어류에서도 포유류에서와 같이 빈혈을 원인, 병태생리학적 기원 또는 적혈구 형태 변화에 따라 분류한다. 그 중에서 병태생리학적 기원에 따라 출혈성 (hemorrhagic), 용혈성 (hemolytic) 및

<sup>†</sup>Corresponding Author : Min Do Huh, Tel : 051-620-6144,  
Fax : 051-628-7430, E-mail : mindo@pknu.ac.kr

재생불량성 (hypoplastic)으로 주로 분류하는 것이 빈혈의 숙주에 대한 병리학적 영향을 평가하는 데 유용하다 (Roberts and Rodger, 2001).

어류에서 빈혈은 세균성, 기생충성, 바이러스성 및 영양성 질병 등에 빈번히 동반되는 비특이적 소견이다 (Roberts and Rodger, 2001).

어류의 빈혈에 대한 연구가 일부 이루어져 있다. 무지개송어 (*Salmo gairdneri*)에서 반복 채혈, 잉어 (*Cprinus carpio*)에 용혈성 물질 주사 및 민물송어 (*Salvelinus fontinalis*)에 철 결핍 사료 공급으로 실험적 빈혈을 유도하여 혈액학적 변화를 조사하였고 (Kawtsu, 1968; 1971; 1972), 금붕어 (*Carassius auratus*)에 *Trypanosoma danilewskyi*를 실험적으로 감염시켜 빈혈을 일으키는 요소 (factor)를 증명하였으며 (Islam and Woo, 1991), CCA (channel catfish anemia)에 걸린 차널메기 (*Ictalurus punctatus*)의 조혈 조직 변화를 증명하였다 (Brown, 1994). 그리고 넙치 (japanese flounder)에 *Neoheterobothrium hirame*를 실험적으로 감염시켜 빈혈의 원인에 대하여 연구하였으며 (Yoshinaga, 2001), HSS (hemorrhagic smolt syndrome)에 걸린 연어 (*Salmo salar*)를 대상으로 병리학적 변화와 원인체를 조사하였다 (Nylund *et al.*, 2003). 이와 같은 연구는 주로 혈액학적 변화 조사나 원인 규명에 대하여 이루어져 있으나 숙주에 대한 빈혈의 임상적 및 병리조직학적 영향에 대하여 잘 알려져 있지 않다. 본 연구는 어류의 각종 질병에 주로 동반되는 출혈성 및 용혈성 빈혈을 나일틸라피아 (*Oreochromis niloticus*)에 실험적으로 유도하여, 빈혈의 지속 및 회복 과정에서 일어나는 병리학적 특성 및 차이를 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험어의 선택 및 유지 방법

임상적으로 건강하고 체중이 65-120 g인 Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) 88개체를 분양받았

다. 이 중 4개체는 대조군, 28개체는 출혈성 빈혈 유도군, 30개체는 용혈성 빈혈 유도군으로 하였다. 실험기간 동안 사육수의 수온은 25-28°C, 용존 산소는 7-8 mg/l, pH는 6.5-7.0이었으며 사료는 급여하지 않았다.

### 2. 임상 소견 관찰

실험 기간 동안, 실험어의 외관과 행동학적 변화 유무를 오전 오후 각 1회씩 육안적 관찰을 수행하였다.

### 3. 빈혈의 유도 및 회복 기간 설정

출혈성 및 용혈성 빈혈의 경우 모두, 빈혈의 유도 및 지속기간을 2주 동안으로 하였으며, 유도 시작 후 2주째에 Ht치가 약 10%에 이르도록 하였다. 출혈성 빈혈은 체중의 약 1%에 해당하는 혈액을, 미부 혈관 (caudal vessel)으로부터, 3일 간격으로 총 4회에 걸쳐, 반복 채혈함으로써 유도하였다. 한편, 용혈성 빈혈은 phenylhydrazine (Acros, USA)을 0.9% NaCl에 희석한 1% phenylhydrazine을, 체중 100 g 당 0.05 ml로 하여 가슴지느러미 기부를 통해 복강에 주사하고, 다시 7일 경과 후 동량을 동일 경로로 반복 주사함으로써 유도하였다. 회복 기간을 16일째부터 49일째까지로 간주하여 지속적으로 관찰하였다.

### 4. 혈액학적 조사

채혈은 출혈성 빈혈 유도와 혈액학적 검사를 위하여 이루어졌다. 채혈은 출혈성 빈혈 유도군 및 용혈성 빈혈 유도군 모두, 총 10 회에 걸쳐 이루어졌다. 실험어를 벤조카인 (benzocain, Sigma, USA)으로 마취한 후 헤파린 처리 주사기를 사용하여, 미부 혈관으로부터 채혈하였다. 채혈에 따른 채혈 및 부검 개체수를 Table 1에 정리하였다. 혈액을 3,000 rpm에서 5분간 원심분리 하여 혈청 (serum) 내 total protein (TP), alanine transaminase (ALT) 및 aspartate transaminase (AST) 치를 측정하였다. 혈액을 pH 7.4 phosphate

**Table 1.** Numbers of blood-sampled and necropsied fish in respective haemorrhagic and hemolytic anemia-inducing groups

Day	Haemorrhagic anemia-inducing group		Hemolytic anemia-inducing group	
	Blood-sampled	Necropsied	Blood-sampled	Necropsied
Control	15	4	15	4
2	4	4	3	3
4	22	3	3	3
8	16	3	3	3
12	18	3	3	3
16	3	3	3	3
20	3	3	4	4
26	3	3	4	4
38	3	3	4	4
49	3	3	3	3

buffer solution (PBS)로 1:800배 희석한 후, 광학현미경하에서 적혈구를 계수하였다. 헤파린 처리된 capillary tube로 혈액을 흡입한 후, 12,000 rpm에서 5분간 원심 침전시켜 Ht를 측정하였다. Hb는 임상용 Kit (Asan, Korea)를 사용하여 cyanmethemoglobin 법으로 측정하였다. 적혈구 수, Ht 및 Hb를 근거하여 적혈구 지수인 평균적혈구혈색소농도 (mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC), 평균적혈구용적 (mean corpuscular volume, MCV) 및 평균적혈구헤모글로빈 (mean corpuscular hemoglobin, MCH)을 구하였다. 피부 혈관으로부터 채혈한 혈액을 혈액슬라이드에 도말하여 Diff-Quik 염색을 한 후, 혈구 세포의 이상 유무 및 내용을 광학현미경으로 관찰하였다.

## 5. 병리조직학적 조사

실험어를 벤조카인에 마취한 후 부검하였다. 부검 날짜와 부검 개체 수는 Table 1에 나타내었다. 복강을 열고, 내부 장기를 육안적으로 세밀히 관찰한 후 모든 장기를 Bouin액에 고정하였다. 통상적인 방법으로 조직을 처리하여 파라핀포매 후 4  $\mu$ m 두께의 절편을 얻었다. 그리고

hematoxylin and eosin 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다. 각 조직을 hemosiderin 축적 유무를 알기 위하여 Prussian blue reaction을 실시하였다.

## 6. 유의성 검정

통계 처리는 SPSS 통계 프로그램 (SPSS Inc., USA)을 이용하여 ANOVA test를 실시하였다. 그리고 사후 다중비교는 t-test로 실험군과 대조군 평균 간의 유의성을 검정하였다 ( $P < 0.05$ ).

## 결 과

### 1. 임상 및 육안적 소견

빈혈 및 회복 기간 동안 아가미의 빈혈성 퇴색 이외에 특기할 임상 소견은 관찰되지 않았다.

### 2. 혈액 생화학적 파라메타의 변화

인위적 빈혈 유도 직전의 어군인 대조군 15마리의 틸라피아로부터 측정된 TP, ALT, AST의 평균은 각각 3.4 g/dl, 3.8 U/l, 30.0 U/l로 나타났다. 출혈성 빈혈의 경우에는 채혈에 의한 빈혈 유도 기간 중 12일째에 혈장 TP가 2.5 g/dl로 감소하여 회복 기간인 20일째에 2.0 g/dl까지 감

**Table 2.** Changes of blood total protein (TP), alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST) blood chemistry in experimental anemia groups

Day	Induced hemorrhagic anemia			Induced hemolytic anemia		
	TP (g/dl)	ALT ( $\mu/\ell$ )	AST ( $\mu/\ell$ )	TP (g/dl)	ALT ( $\mu/\ell$ )	AST ( $\mu/\ell$ )
Control	3.4±0.8	3.8±6.1	30.0±19.6			
2	3.2±0.4	1.7±0.9	33.3±29.5	2.5±0.4	7.6±5.7	51.4±11.4
4	3.8±5.9	8.6±3.0	75.8±3.0	3.1±0.7	18.1±7.0*	65.0±28.6
8	2.7±0.4	8.1±3.7	135.0±59.0*	2.9±0.3	0.8±0.6	28.5±18.8
12	2.5±1.0	11.6±10.7*	41.4±5.1	2.7±0.7	1.7±2.1	25.3±23.5
16	2.3±0.3*	3.2±2.8	17.6±11.3	3.5±0.9	2.7±3.2	36.1±7.3
20	2.0±0.2*	1.4±0.9	29.3±11.8	2.9±0.4	1.5±0.8	52.8±28.3
26	2.0±0.8*	9.8±13.8	133.1±181.7	2.9±0.1	6.2±3.4	42.9±36.4
38	2.3±0.3*	12.2±5.3	48.4±28.4*	3.1±2.5	5.9±4.0	49.9±64.7
49	2.7±0.3	0.8±0.8	27.5±7.2	3.3±2.0	1.5±1.1	52.7±34.9

\* significant difference from control (P<0.05).

**Table 3.** Changes of hematological parameters in experimental hemorrhagic anemia

Day	Ht (%)	Hb (g/dl)	RBC count (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	MCHC (%)	MCV ( $\mu\text{m}^3$ )	MCH (pg)
Control	32±4.1	9.17±1.6	3.73±0.7	29.1±4.3	93.9±13.6	25.4±6.2
2	21±3.0*	4.66±1.0*	2.92±0.9*	22.3±2.3*	77.5±31.1	17.0±5.8*
4	21±3.5*	6.07±1.1*	2.58±0.8	29.6±2.5	83.8±17.2	24.9±6.1
8	19±3.0*	4.25±0.9*	1.95±0.6*	22.6±4.3*	101.1±20.0*	22.6±4.7
12	12±5.7*	2.26±1.5*	1.25±0.5*	18.7±4.1*	92.1±7.6	17.2±4.0
16	10±2.1*	0.70±0.3*	0.77±0.3*	7.2±2.9*	132.7±24.0*	9.8±5.1
20	12±5.0*	2.16±0.5*	1.47±0.8*	18.6±4.2*	90.5±16.8	17.3±6.8
26	13±1.5*	4.14±0.7*	1.15±0.1*	31.0±1.5	117.6±21.1*	36.5±7.7
38	22±3.6*	5.94±0.2*	2.69±0.2*	25.6±4.6	82.9±20.3	22.8±1.2
49	28±1.5	4.89±0.7*	3.74±0.1	17.2±1.7*	68.0±15.3	11.7±2.9

Ht: hematocrit, Hb: hemoglobin, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration, MCV: mean corpuscular volume, MCH: mean corpuscular hemoglobin. n: number of fish analysed

\* Statistical significance from control (P<0.05).

소한 후, 49일째에 2.7 g/dl으로 다소 증가하였다. 용혈성 빈혈의 경우에는 빈혈 유도 기간 및 회복 기간 동안 혈액 생화학적 파라메타에

유의한 변화가 관찰되지 않았다 (Table 2).

### 3. 말초혈액 Ht 및 Hb의 변화

**Table 4.** Changes of hematological parameters in experimental hemolytic anemia

Day	Ht (%)	Hb (g/dl)	RBC count (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	MCHC (%)	MCV ( $\mu\text{m}^3$ )	MCH (pg)
Control	32±4.1	9.17±1.6	3.73±0.7	29.1±4.3	93.9±13.6	25.4±6.2
2	13±7.4*	4.42±1.4*	0.30±0.2*	38.4±9.0	429.1±73.0*	165±48.1*
4	10±4.6*	3.36±1.6*	0.29±0.2*	33.3±9.0*	399.4±140.3*	128.9±32.4*
8	7±2.9*	1.80±0.5*	0.24±0.2*	25.7±4.9	392.6±215.0*	97.5±43.4*
12	11±1.2*	2.55±0.5*	0.67±0.1*	23.8±2.8	161.6±15.0	38.2±1.6
16	18±2.5*	2.89±0.2*	0.87±0.1*	15.9±1.1*	211.7±10.2*	33.5±2.3
20	19±1.5*	3.68±0.5*	1.25±0.4*	19.6±2.1*	159.8±46.9	30.9±7.5
26	22±2.8*	4.63±1.0*	1.16±0.3*	21.0±2.5*	199.7±56.4*	41.9±13.8
38	27±4.9*	5.79±1.3*	1.77±0.3*	21.3±1.6	152.8±14.3	32.7±5.6
49	31±4.9	5.81±0.5*	2.18±0.7*	19.2±1.4*	150.0±67.5	28.3±10.8

Ht: hematocrit, Hb: hemoglobin, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration, MCV: mean corpuscular volume, MCH: mean corpuscular hemoglobin. n: number of fish analysed

\* Statistical significance from control (P<0.05).

빈혈 유도 직전의 대조군의 평균 Ht는 32%였고, 평균 Hb는 9.17 g/dl였다. 출혈성 빈혈의 경우에는 12일째에 4회 채혈 후 Ht가 평균 12%까지 감소하였고, Hb는 3.16 g/dl였다 (Table 3). 용혈성 빈혈의 경우에는 12일째에 평균 Ht가 11%였고, 평균 Hb는 2.55 g/dl로 낮아졌다 (Table 4). 이들 수치는 회복 기간 동안 다시 증가하여, 49일째에 출혈성 빈혈의 경우, Ht와 Hb가 각각 28%, 4.89 g/dl였고 (Table 3), 용혈성 빈혈의 경우에는 각각 31%, 5.81 g/dl였다 (Table 4).

#### 4. 적혈구 지수

빈혈 유도 직전의 대조군의 MCHC, MCV 및 MCH는 각각 29.1%, 86.8  $\mu\text{m}^3$ , 25.4 pg이었다. 출혈성 빈혈의 경우에는 유도 12일째에 MCHC가 18.7%로 감소하였고 49일째에 17.2%로 여전히 낮은 수치였으며, MCV와 MCH는 시기에 따라 유의한 변화가 있었으나, 지속성의 일정한 변화는 관찰되지 않았다 (Table 3). 빈혈의 유형은 빈혈 유도 기간과 회복 기간 모두 정구성 저혈색소성 (normocytic hypochromic)이었다. 용혈성

빈혈의 경우에는 빈혈 유도 기간에는 MCHC가 대조군과 차이 있는 변화가 없었고, 회복 16일째에 15.9%로 감소하여 49일째에 대조군보다 낮은 19.2%였다. MCV는 유도 2일째에 대조보다 429.1  $\mu\text{m}^3$ 로 증가하였고, 49일째에는 다시 낮아져 148.3  $\mu\text{m}^3$ 였다. 그리고 MCH는 유도 4일째 128.9 pg이었으나 회복 기간 동안에는 큰 변화가 없었다 (Table 4). 용혈성 빈혈 경우에서 빈혈 유도 기간의 빈혈 유형은 대구성 정혈색소성 (macrocytic normochromic)이었고, 회복 기간에는 정구성 저혈색소성이었다.

#### 5. 적혈구 형태 변화

빈혈 유도 직전의 대조군 혈액 내 적혈구는 대부분, 세포질이 호산성이고 중앙에 핵을 가진 타원형의 성숙 적혈구와 세포의 형태는 성숙 적혈구와 같은 타원형이나 크기는 크며 성숙 적혈구보다 세포질이 열린 호산성을 띠는 미성숙 적혈구들로 구성되어 있었다.

출혈성 빈혈의 경우에는 유도 8일째에 호염성 유약 적혈구와 분엽 형태를 가진 적혈구들이

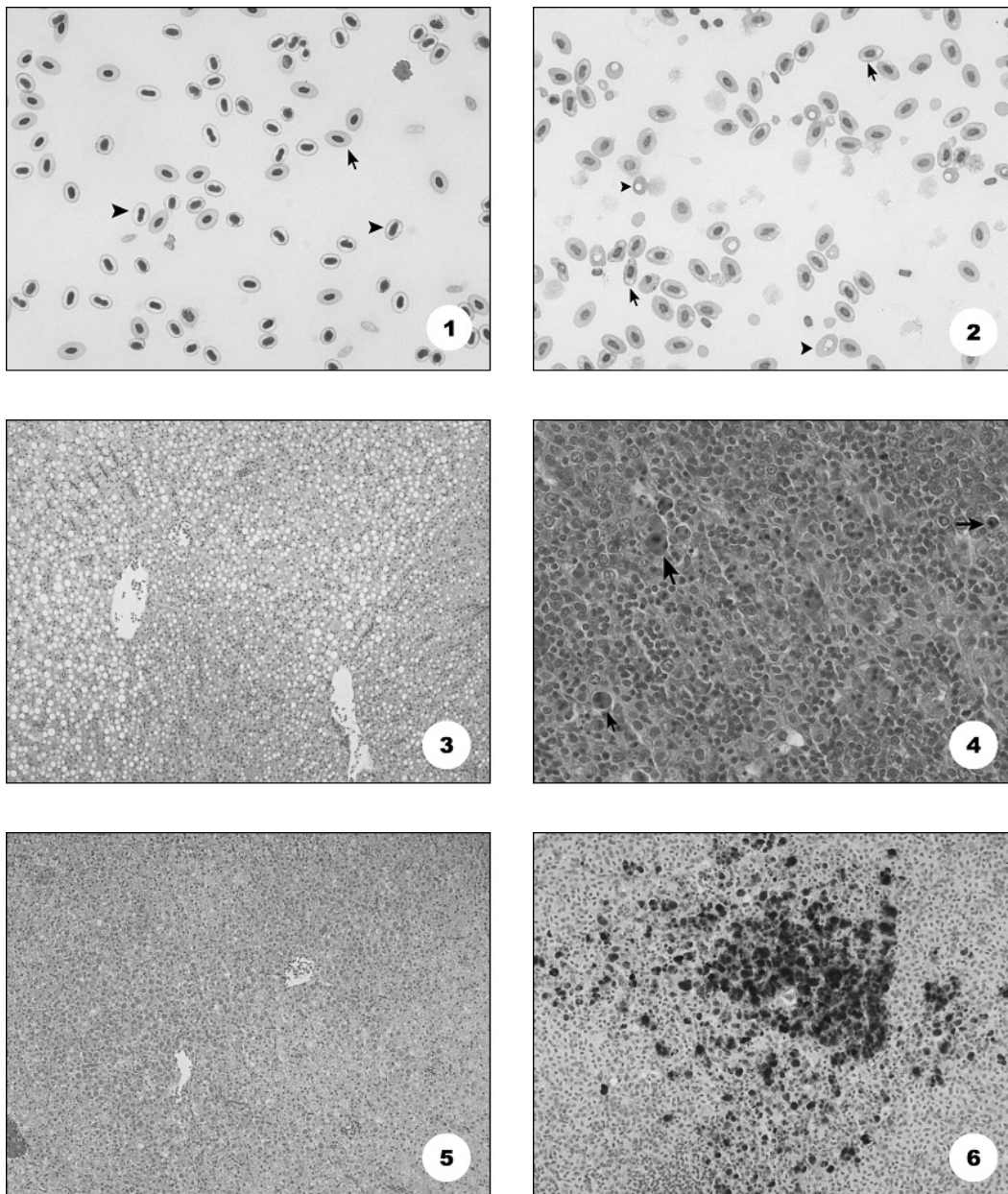


Fig. 1~6. 1: Peripheral blood from hemorrhagic anemic individuals on the 12th days. Note increased number of abnormal erythrocytes. Arrow: mature erythrocyte, Arrow head: erythrocyte with stainless cytoplasm. Diff-Ouik stain,  $\times 400$ . 2: Peripheral blood from hemolytic anemic individuals on the 2nd days. Note a number of degenerative erythrocytes. Arrow: erythrocyte with vaculation in cytoplasm, Arrow head: erythrocyte with exclusion of nucleus. Diff-Ouik stain,  $\times 400$ . 3: Note the fatty changes of hepatocytes around central veins from hemorrhagic anemic individuals on the 12th days. Liver, H&E stain,  $\times 100$ . 4: Abnormal erythrocytes are engulfed by phagocytes in head kidney from hemorrhagic anemic individuals on the 26th days. Arrow: Phagocytes engulfing erythrocytes. H&E stain,  $\times 400$ . 5: Note the hyaline changes of hepatocytes around central veins from hemolytic anemic individuals on the 12th days. Liver, H&E stain,  $\times 100$ . 6: Histological features of head kidney from hemolytic anemic individuals on the 49th days. Note a large amount of hemosiderin in MMC in parenchyma. Prussian blue reaction,  $\times 200$ .

출현하였다. 그리고 12일째에는 세포질 염색성이 없는 적혈구들이 대량 출현하였다 (Fig. 1). 49일째에도 세포질 염색성이 없는 적혈구들이 관찰되었다. 한편, 용혈성 빈혈의 경우에는 phenylhydrazine (PH) 주사 후 2일째에 핵이 농축되거나, 사라진 적혈구와 세포질의 헤모글로빈이 고르게 분포하지 않고 비어있는 곳을 가진 성숙 적혈구들이 다수 관찰되었으며, 세포의 구조가 붕괴되고 그 붕괴 잔존물들이 관찰되었다 (Fig. 2). 이들 이상 세포들은 PH 주사 후 8일째까지 관찰되었으며, 8일째부터 세포가 원형이고 세포질이 호염성인 미성숙 적혈구들이 다수 관찰되었다. 12일째에는 대부분 미성숙 적혈구와 비정상적인 염색성을 보이는 이상 적혈구들로 구성되어 있었으며, 20일째까지 관찰되었다. 49일째에는 세포질이 호산성이고 타원형인 성숙 적혈구로 구성되어 있었다.

## 6. 병리조직학적 변화

출혈성 빈혈 유도군의 경우, 빈혈 유도 12일째부터 38일째까지 간장 중심정맥 중심성 (소엽구조가 분명하지 않으므로)의 지방변성 소견이 관찰되었다 (Fig. 3). 12일째부터 26일째까지 비장 협조직 (ellipsoid)의 비후가 관찰되었다. 두신 (head kidney)에서는 16일째부터 적혈구를 탐식한 대식 세포들이 확인되었고 (Fig. 4), 38일째까지 동 소견이 관찰되었다. 빈혈 유도 12일째부터 26일째까지 핵이 크고 짙은, 호염기성의 세포들이 많이 출현하는 조혈활성 증가 소견이 관찰되었으며, 유사분열 중인 조혈세포도 다수 관찰되었다.

용혈성 빈혈의 경우에는 12일째부터 26일째까지 간장의 중심정맥 중심으로 초자변성 소견이 확인되었다 (Fig. 5). 2일째부터 20일째까지 비장 협조직의 비후가 관찰되었고, 황갈색의 과립을 함유한 melano-macrophage center (MMC) 들이 관찰되었다. 또한, 두신에서는 적혈구를 탐식한 대식 세포들이 2일째부터 16일째까지 관찰되었으며, 조혈활성 소견이 2일째부터 12일째

까지 관찰되었다.

Hemosiderin의 축적 유무 및 내용을 확인하기 위한 조직에 대한 Prussian blue reaction 결과, 용혈성 빈혈 유도군 모두에서 2일째부터 49일째까지 두신 및 비장 내 MMC 내에서 강한 양성 반응을 관찰할 수 있었다 (Fig. 6). 그러나 간과 비장 및 두신 외의 다른 조직에서는 유의한 조직학적 변화가 관찰되지 않았다.

## 고 찰

용혈성 빈혈 유도시 사용한 phenylhydrazine은 적혈구의 필수 효소와 막 단백질 그리고 막인지질 및 헤모글로빈의 자가 산화 (auto-oxidation)를 유도하여 용혈을 발생한다고 알려져 있다 (Chakrabarti *et al.*, 1995). 적혈구 용혈 작용 외에 이것은 간장 실질세포의 미토콘드리아 변성을 유도하여 간장에 독성작용이 발현되는 것으로 알려져 있다 (Baruffaldi *et al.*, 1995). 그러나 본 실험의 용혈성 빈혈에서 간장 손상의 지표로 알려져 있는 TP, ALT와 AST 수치의 유의한 변화가 관찰되지 않아 실험이 간장에 미칠 수 있는 영향은 미약할 것으로 사료되었다.

포유동물에서 빈혈 시 말초 순환 혈량의 20% 이상 급격한 감소에 따른 쇼크가 일어나거나 심각할 경우 사망에 이를 수 있다 (Aster, 2005). 그러나 본 연구에서 출혈성 빈혈 유도시 1회 채혈량이 어체중의 1%에 해당하는 대량일 뿐 아니라, 두 빈혈 모두 Ht가 약 10%까지 감소하는 급격한 변화임에도 불구하고, 아가미 퇴색 외에 특기할 행동학적 이상을 포함한 임상 소견이 관찰되지 않았다. 고등동물에서 빈혈 시 보상 기전으로 심박동 수 증가, 세동맥 확장 및 순환속도 증가로 조직의 관류량이 증가한다고 알려져 있다 (Aster, 2005). 어류에서는 담수에서 무지개송어의 Ht가 70% 감소된 상태에서 심장 박출량을 증가시키으로써 아가미를 통해 줄어든 산소 운반 혈액량을 증가시키고 말초 혈관계 저항을 감소시켜 산소를 조직에 정상적으로 공급한다는

보고가 있으며 (Cameron and Davis, 1970), icefish (*Chaenocephalus aceratus*)는 혈색소가 없는 혈액의 산소 운반 능력이 해수의 산소 운반 능력과 같고 가스 운반을 전적으로 혈장에 의존한다는 보고도 있다 (Ruud, 1954). 따라서 Ht나 Hb 수치로 표현되는 빈혈의 병리학적 영향이 포유류의 경우에 비하여 심각하지 않을 수 있다고 생각된다.

포유동물의 경우 급성 출혈성 빈혈의 경우 대구성 저혈색소성 (macrocytic hypochromic)이고 용혈성 빈혈의 경우 대구성 정혈색소성이다 (Jones *et al.*, 1997). 그러나 본 실험의 출혈성 빈혈과 용혈성 빈혈의 경우 각각 정구성 저혈색소성과 대구성 정혈색소성에서 두 경우 모두 정구성 저혈색소성으로 진행되었다. 이와 같이 빈혈의 유형이 포유류와 다른 이유는 어류의 빈혈에 대한 병리학적 영향이 다르기 때문일 것이다.

35일간의 회복 기간 후, 실험적 용혈성 빈혈과 출혈성 빈혈에서, Ht는 거의 완전한 회복 경향을 보인 반면, Hb는 여전히 대조군보다 낮았다. 이와 같은 결과는 연어과 어류 (chinook salmon)의 용혈성 빈혈 실험에서도 관찰되었는데, 이것은 수온과 절식이 영향을 미친 결과이며 (Smith *et al.*, 1971) 수온이 낮으면 대사율이 느려지기 때문이라고 보고하였다 (Smith *et al.*, 1971; Hardig and Hoglund, 1984). 그러나 본 실험에서는 실험 기간 동안 수온은 틸라피아의 사육적수온이었고 일정하게 유지되었기 때문에 수온이 결과에 영향을 주지는 않았을 것이라고 생각된다. 연어과 어류 (*Salmo gairdneri*)를 대상으로 한 실험에서 절식만으로는 Hb에 영향이 없었는데, 채혈 후 30일 동안 절식을 한 개체에서 Hb의 구성성분에 영향을 주어 말초에 성숙 적혈구 보다 낮은 Hb 농도를 가진 적혈구가 존재한다고 보고하였다 (Lane, 1980). 본 실험에서도 회복 기간 동안 대조군의 Hb 농도에 도달하지 못한 것은 절식과 채혈로 인하여 Hb 형성 또는 구성 요소에 영향을 받았을 것이다. 심한 용혈성 빈혈의 경우, 비장 협조직과 MMC 내에 hemosiderin이 대

량으로 축적된다 (Ferguson, 1989). 본 실험의 용혈성 빈혈에서도 이와 같은 소견이 관찰되었으며 두신에서도 hemosiderin의 축적이 관찰되었다. 고등 포유류의 경우, 빈혈 시 철이 부족하게 되면 체내에 축적된 hemosiderin에서 철을 재사용하게 된다 (Aster, 2005). 그런데 적혈구가 파괴되는 초기뿐만 아니라 회복 단계에 있는 두신과 비장 조직에서도 여전히 hemosiderin 축적 정도가 일관되게 관찰된 것은 철의 재이용성에 문제가 있을 수 있음을 암시하며, 따라서 적혈구내 Hb 합성에도 영향을 주었을 것이다.

용혈성 빈혈과 출혈성 빈혈에서 모두, 빈혈 유도 시작 후 12일째에 세포질 염색성이 약하거나 거의 없는 이상 적혈구들이 출현하였다. 이 세포들에 대해 일부 문헌에서 언급하지만 상세한 설명이 없다 (Yosihinaga *et al.*, 2001). 이것은 형태적으로 포유류의 철 결핍성 빈혈의 말초혈액에서 나타나는 'tired blood cell'과 유사하다. 포유류에서 철 결핍성 빈혈 시 크기가 작고 세포의 가장자리만 붉은 색을 띠는 'tired cell'이 출현을 한다 (Aster, 2005). 고등 포유동물의 경우, 용혈성 빈혈에서는 철을 재이용할 수 있기 때문에 철 결핍성 빈혈이 발생하지 않는 것으로 되어 있다 (Aster, 2005). 어류의 경우에도 같은 기전을 적용한다면 인위적 용혈로 유도한 틸라피아의 용혈성 빈혈의 경우에도 철 결핍성 빈혈이 일어날 가능성이 없다고 생각된다. 그러나 35일 후의 회복 개체에 이르기 까지, 신장 및 비장의 실질 및 MMC 내에 hemosiderin의 현저한 축적 상태가 형태학적으로 확인되는 것으로 미루어, 철의 이용성 제한이 의심되며, 이로 인한 철결핍성 빈혈일 수도 있음을 배제할 수 없다.

포유동물에서 극심한 빈혈 시 간장은 지방변성과 함께 괴사가 동반되며 산소분압이 낮은 중심정맥을 중심으로 발생한다 (Aster, 2005). 본 실험적 출혈성 빈혈어에서도 지방변화 소견이 고등동물과 유사하게 중심정맥 중심으로 관찰되었다. 그리고 본 실험의 용혈성 빈혈어에서도 저산소로 인한 단백대사 장애를 암시하는 중심정맥



주변의 초자적 변성이 관찰되었다. 그러나 이들 소견은 회복기간 동안 관찰되지 않은 것으로 보아 경미한 가역적 변성인 것으로 사료되었다.

본 실험의 출혈성 및 용혈성 빈혈의 두신에서 관찰되는 대식세포의 적혈구 포식상은 고등동물을 사용한 용혈성 실험에서 보고되어 있다 (Sorrell and Weiss, 1982; Datta *et al.*, 1989). 용혈성 빈혈의 경우에는 빈혈 유도초기부터, 출혈성 빈혈의 경우에는 세포질에 염색성이 없는 적혈구가 출혈하는 시기에, 본 소견과 비장 협조직 비후 소견이 관찰되는 것으로 보아, 용혈성 빈혈의 경우, phenylhydrazine에 의한 손상 적혈구가 초기부터 포식되며, 출혈성 및 용혈성 빈혈의 경우 모두, 이상 적혈구가 포식되는 것으로 사료된다.

따라서 본 실험의 결과 어류에서 빈혈의 영향은 고등 포유동물에서 만큼 심각하지 않고, 출혈성 빈혈과 용혈성 빈혈의 병리학적 영향과 회복 경향이 유사하다고 사료된다.

## 요 약

나일 틸라피아에 실험적 출혈성 빈혈 (EHA) 과 용혈성 빈혈 (ELA)을 제작하여 빈혈 과정과 회복 과정에서의 병리학적 차이를 알기 위해서 본 실험을 수행하였다. EHA는 어체중의 약 1%에 해당하는 혈액을 반복 채혈하여 유도하였다. ELA는 1% phenylhydrazine을 2회 복강 주사하여 유도하였다. 회복 과정은 16일째부터 49일째까지로 하였다. 빈혈 및 회복 기간 동안 아가미의 빈혈성 퇴색 외 특기할 임상 소견은 관찰되지 않았다. 두 빈혈 경우 모두, 12일째에 세포질 염색성이 없는 적혈구들이 출현하기 시작하였으며 EHA의 경우 49일째까지, ELA의 경우 20일째까지 출현하였다. 빈혈 유형은 빈혈 유도 기간에는 EHA의 경우 정구성 저혈색소성이었고 ELA의 경우 대구성 정혈색소성이었으며, 회복 기간에는 두 경우 모두 정구성 저혈색소성이었다. 간장에서 EHA의 경우에 12일째에서 38일째까지 중심정맥 중심성 지방변성이 확인되었고,

ELA의 경우에 12일에서 26일째까지 중심정맥 중심성 초자 변성이 확인되었다. EHA의 경우 12일째부터 26일째까지 두신에서 조혈활성 소견이 확인되었으며, ELA의 경우에는 2일째부터 12일째까지 관찰되었다. 두신에서 적혈구 탐식 대식세포들이 EHA의 경우 16일째부터 38일째까지, ELA의 경우에는 2일째부터 12일째까지 관찰되었다. 비장 협조직의 비후 소견이 EHA의 경우 12일째부터 26일째까지, ELA의 경우에는 2일째부터 20일째까지 확인되었다. ELA의 경우 2일째에서 49일째까지 두신과 비장에서 hemosiderin 축적이 현저하였다. 49일째에 두 빈혈 경우 모두 Ht는 회복되었지만 Hb는 완전한 회복을 보이지 않았다.

## 참 고 문 헌

- Aster, J. C.: Red blood cell and bleeding disorders. In *Robins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, Kumar, V., Abbas, A.k. and Fausto, N., pp. 619-659, 7th ed., Elsevier Inc, USA, 2005.
- Baruffaldi, A., Cervellati, F., Lanzara, V. and Cucchi, C.: Liver damage due to the administration of phenylhydrazine in *Ictalurus* species. *Cytobios*, 83: 187-194, 1995.
- Cameron, J. N. and Davis, J. C.: Gas exchange in rainbow trout (*Salmo gairderi*) with varying blood oxygen capacity. *J. Fish Res. Bd. Canada.*, 27: 1069-1085, 1970.
- Chakrabarti, S., Sonaye, B., Naik, A. A. and Nadkarni, P. P.: Erythrocyte membrane protein damage by oxidation products of phenylhydrazine. *Biochem. Mol. Biol. Inter.*, 35: 255-263, 1995.
- Datta, K., Soni, J. L., Awadhya, R. P. and Datta, I. C.: Erythrophagocytosis in phenylhydrazine induced acute anaemia in chickens. *Rec. Vet. Sci.*, 47: 136-137, 1989.

- Ferguson, H. W.: Systemic pathology of fish, pp.95-97, 1st ed., Iowa State University Press, Iowa, 1989.
- Hardig, J. and Hoglund, L. B.: Seasonal variation in blood components of reared Baltic salmon, *Salmo salar* L. J. Fish Biol., 24: 565-579, 1984.
- Houston, A. H., Murad, A. and Gray, J. D.: Induction of anemia in goldfish, *Carassius auratus* L., by immersion in phenylhydrazine hydrochloride. Can. J. Zool., 66: 729-736, 1988.
- Jones, T. C., Hunt, R. D. and King, N. W.: Veterinary pathology, vol.2, pp. 1011-1020, 6th ed., Williams & Wilkins, USA, 1997.
- Kawatsu, H.: Haemorrhagic anemia of rainbow trout induced by repeated bleedings. Studies on the anemia of fish- II. Bull. Freshwat. Fish Res. Lab., 18: 61-66, 1968.
- Kawatsu, H.: Hemolytic anemia of common carp induced by injections of phenylhydrazine hydrochloride. Studies on the anemia of fish-IV. Bull. Freshwat. Fish Res. Lab., 21: 139-149, 1971.
- Kawatsu, H.: Further note on the anemia caused by starvation in rainbow trout. Studies on the anemia of fish-VI. Bull. Freshwat. Fish Res. Lab., 24: 89-94, 1974.
- Lane, H. C.: The responses of the haemoglobin system of fed and starved rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, to bleeding. J. Fish Biol., 16: 405-411, 1980.
- Roberts, R. J. and Rodger, H. D.: The pathophysiology and systemic pathology of teleosts. In *Fish pathology*, pp. 80-82, 3rd ed., Roberts, R.J., W.B. Saunders, London, 2001.
- Ruud, J. T.: Vertebrates without erythrocytes and blood pigment. Nature, 173: 848-850, 1954.
- Sorrell, J. M. and Weiss, L.: Development of the embryonic chick phagocytic system: intraembryonic erythrophagocytosis induced by phenylhydrazine. J. Morphol., 171: 183-194, 1982.
- Smith, C. E., McLain, L. R. and Zaugg, W. S.: Phenylhydrazine-induced anemia in chinook salmon. Toxicol. Appl. Pharmacol., 20: 73-81, 1971.
- Yoshinaga, T., Kamaishi, T., Ikeda, H. and Sorimachi, M.: Experimental recovery from anemia in Japanese flounder challenged with the monogenean *Neoheterobothrium hirame*. Fish Pathol., 36: 179-182, 2001.

---

Manuscript Received : September 06, 2005

Revision Accepted : November 15, 2005

Responsible Editorial Member : Joon-Ki Chung

(Pukyong Univ.)