

스트레스 유형에 따른 고양이 혈중 Cortisol 농도의 변화

나 기 정
충북대학교 수의과대학

Change of Blood Cortisol Concentration in Domestic Cats by Various Stress Types

Ki-jeong Na

College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University,
Cheongju, 361-763, Republic of Korea

ABSTRACT : The present study was performed to evaluate circadian rhythm of blood cortisol concentration and change of blood cortisol concentration by various stress type in domestic cats. The ELISA kit for cortisol measurement was evaluated on the effective assay range, day to day variation, within-run variation and accuracy. The results were 1~1,000 ng/ml, 0.7~5.9%, 0.9~4.5% and 98%, respectively. The circadian rhythm of serum cortisol concentration is presented in cats. Change of serum cortisol concentration was also examined with several stressors, stimulation with hamster as a prey, beep electronic sounds, vehicle transportation and unfamiliar environment. Unfamiliar environment showed most remarkable change in serum cortisol level.

Key words : cortisol, cat, circadian rhythm, stress

서 론

뇌에서 스트레스를 인식하게 되면 뇌하수체에서 ACTH가 분비되고 이로 인해 부신피질에서는 cortisol, 18-hydroxycorticosterone, aldosterone, dehydroepiandrosterone 등이 분비된다. 이중에서 cortisol이 주된 분비물이다². 체액중의 cortisol 농도는 동물과 사람에서 부신피질기능항진증과 부신피질기능저하증의 진단을 위해 측정될 뿐만 아니라 동물이나 사람에서 스트레스의 정도를 파악하기 위해서도 측정된다³. 염소에서 수송에 의한 스트레스⁸, 개와 고양이에서 피내반응 검사에 의한 스트레스^{7,16}, Chinese water deer에서 보정방법에 따른 스트레스 정도의 비교⁹, 송아지에서 품종에 따른 보정 및 수송 스트레스의 영향¹⁸, 말에서 운동 스트레스¹⁷, 돼지에서 보정 스트레스에 대한 연령별 변화⁴, 그리고 개에서 전기자극 스트레스 등¹⁹을 비교할 때 cortisol 농도의 변화를 그 지표로 사용하였다. 사람에서의 혈중 cortisol 농도는 일중변동이 명확히 밝혀져 있으며, 오전에 가장 높고 오후에는 낮은 농도를 나타낸다². 동

물에서는 혈중 cortisol 농도의 일중변동에 대한 연구가 많이 이루어져 있지는 않다. 개에서는 혈중 cortisol 농도의 일중변동이 없는 것으로 밝혀졌으나 그밖의 동물에서는 조사된 바가 거의 없다¹.

고양이는 사람의 면역관련 질병모델로 많이 이용되고 있다. 그리고 스트레스에 비교적 민감한 돼지와는 달리 고양이는 스트레스에 아주 민감한 동물로 '감정적인 백혈구증다증'이 나타나는 것으로 알려져 있다¹⁰. 고양이에서 피내반응검사를 할 때 마취를 하고 보정을 하였을 때에는 마취를 하지 않은 경우보다 cortisol 농도의 증가가 훨씬 적게 나타난다¹⁶. 이러한 결과는 스트레스의 유형에 따라서 혈중 cortisol 농도는 다양하게 나타날 수 있음을 제시해 준다. 즉, 고양이가 stressor를 인지하는 정도에 따라서 혈중 cortisol 농도는 다양하게 나타날 수 있음을 의미한다.

본 연구는 제한된 공간에서 집단 사육되는 고양이의 혈중 cortisol 농도의 일중변동을 조사하고, 다양한 종류의 stressor에 대하여 고양이가 인지하는 스트레스 정도를 파악하는데 목적이 있다. 더 나아가서는 cortisol 측정 시 스트레스에 따른 cortisol 농도의 변화를 보정함으로써 질병진단을 위한 기초적 자료를 제시하는데 있다.

¹Corresponding author.

재료 및 방법

실험동물

Cortisol에 대한 항혈청을 생산하기 위하여 5~6개월령의 토끼(Newzealand white) 4마리를 사용하였으며, 2주일간의 적응 후 항체생산에 사용하였다. 적응기간에는 콕시듐 구충을 위하여 sulfadimethoxine을 투여하였다.

면역

Hydrocortisone-3-(o-carboxymethyl)oxime bovine serum albumin(Sigma Chemical Co., USA)을 항원으로 사용하였다. 항원 1.5 mg을 complete Freund's adjuvant (Difco laboratories, USA)와 혼합하여 토끼 등의 피내에 접종하였다. 추가 접종은 1.5 mg의 항원을 incomplete Freund's adjuvant와 혼합하여 사용하였다. 1~2차 추가 접종은 2주 간격으로, 3차 추가 접종은 1개월 후에 하였다.

항체역가 측정

항혈청을 96 well microplate(Maxisorp, Nunc Co., Denmark)에 0.05 M carbonate buffer(pH 9.6)로 희석하여 흡착시키고 일정량의 표준 cortisol과 horseradish peroxidase 표지 cortisol을 경쟁반응시켰으며 면역시키지 않은 혈청을 대조군으로 하여 항체역가를 측정하였다.

항 BSA 항체의 제거와 IgG의 정제

항혈청 속에 존재하는 항 bovine serum albumin (BSA, Sigma Chemical Co., USA) 항체를 제거하기 위하여 항혈청 ml 당 0.05 mg의 BSA를 첨가하여 4°C에서 72시간 반응시켰다. 이것을 3,000×g로 원심분리한 후에 상층액을 membrane filter(pore size 0.2 μm, 녹십자 의료공업, 한국)로 여과하였다. 여과한 상층액은 Protein G sepharose column(Protein G sepharose Fast Flow와 LKB column C10, Pharmacia, Sweden)로 친화성 크로마토그라피를 실시하여 혈청으로부터 IgG를 분리해 내었다.

ELISA에 의한 cortisol 측정

Cortisol 측정, 제작된 cortisol 측정용 kit의 검정, 교차반응은 나와 이¹⁹의 방법에 준하여 ELISA를 실시하였으며, 96 well microplate reader(Titertek Multiskan MCC/340, Labsystems, Finland)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. ELISA를 이용하여 시료를

측정할 때의 오차를 줄이는 방법으로 Bunch 등⁵의 제안에 따라 매 plate마다 표준곡선을 작성하고 3회 반복 측정하여 각 시료의 cortisol 농도를 구하였다.

표준곡선의 작성은 위하여 ethanol에 cortisol(Sigma Chemical Co., USA)을 2 mg/ml이 되도록 용해하여 4°C에 보관하면서 이것을 PBS로 희석하여 다양한 농도의 표준액(0.1~1,000 ng/ml)을 만들어 사용하였다. 각각의 표준액은 위에 기술한 방법으로 ELISA를 실시하여 흡광도를 측정하였으며, 흡광도는 percent bound (%B)로 환산하였다. 각각의 표준액에 대해 24회 반복 실험하였다.

고양이 혈중 cortisol 농도의 일중변동

임상적으로 건강한 체중 2~3.5 kg의 1~2년령의 21마리 고양이를 가로, 세로, 높이가 4×2.5×2.5(m)의 컨테이너에서 3개월 이상의 기초사육을 하였다. 기초사육기간에는 3회 이상의 구충을 실시하였고 실험자와 친수해지도록 하였으며 실험을 시작하기 전에 신체검사와 임상병리학적 검사를 통해 건강 상태를 판정하였다. 그리고 실내온도는 15~25°C가 유지되도록 하였다. 환경적응이 끝난 고양이는 각각의 실험에 사용하였다.

10마리의 고양이를 실험 1일전에 acepromazine으로 진정시킨 후에 경정맥에 카테터를 장착하였다. 카테터는 venocath-18(Abbott Lab., USA)의 바늘을 제거하고 길이를 15 cm가 되도록 자른 다음 18 gage의 green IV 카테터(녹십자 의료공업, 한국)를 이용하여 경정맥에 삽입 장착하였다. 카테터 내의 혈액응고방지를 위하여 heparin을 생리식염수에 50 IU/ml로 희석하여 충진하였고, 채혈시에는 카테터 내의 heparin을 제거하기 위해 약 1 ml을 뽑아 버린 후에 채혈하였다. 여러 종류의 스트레스 실험에서도 이와 같은 방법으로 카테터를 장착하여 실험에 사용하였다. 채혈은 실험시작 후 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24시간 째에 실시하였다. 채혈된 혈액은 cortisol 농도 측정을 위해 혈청을 분리한 후 -20°C에 냉동 보관하였다가 분석에 사용하였다.

햄스터를 이용한 먹이 스트레스 실험

각각의 스트레스 실험은 고양이를 케이지(가로cm × 세로cm × 높이cm: 50×30×32)에 한 마리씩 넣어서 실시하였다. 5마리의 고양이를 케이지에 넣은 다음 안이 들어다보이는 상자에 햄스터를 넣어 케이지 앞에 설치하였다. 실험은 오후 3시부터 시작하였으며 채혈은 실험시작 후 0, 30, 60, 120, 180분에 하였고 채혈된

혈액으로부터 혈청을 분리하여 cortisol 농도를 측정하였다.

전자신호음 자극 스트레스 실험

5마리의 고양이를 케이지에 한 마리씩 넣은 다음 4 KHz에 67 dB의 “삐-”소리가 나는 전자음을 실험시간 동안 지속적으로 들려줬다. 채혈은 전자음을 들려주기 직전을 0분으로 하고 30, 60, 120, 180분에 각각 채혈하였다.

차량수송 스트레스 실험

5마리의 고양이를 케이지에 한 마리씩 넣은 다음 차에싣고 60 km/hr의 속도로 시내 주행을 하였다. 차에 싣기 직전을 0분으로 하고 0, 30, 60, 120, 180분에 채혈을 하였다. 채혈을 위해서는 정지하였으며 1회 채혈 시간은 약 10분 가량이 소요되었다.

낯선환경 스트레스 실험

5마리의 고양이를 케이지에 한 마리씩 넣은 다음 낯선 장소에 옮겨놓고 새로운 환경에 의한 스트레스 실험을 하였다. 케이지를 낯설은 장소로 옮기기 직전을 0분으로 하고 30, 60, 120, 180분에 각각 채혈하였다.

통계

고양이의 혈중 cortisol 농도의 일종변동에 관한 실험은 통계용 패키지인 SAS의 general linear model (GLM) test로 분산분석을 실시하여 시간별 변화를 확인하였다. 그리고 스트레스 실험은 시작 전의 cortisol 농도를 대조군으로하여 이에 대한 시간별 변화를 Student-t test로 검정하였다.

결 과

Cortisol의 ELISA에 의한 분석조건 설정

제작된 kit의 최소측정한계는 130 pg/ml이었으며, 유효한 측정범위는 1~1,000 ng/ml로 하였다. Cortisol

Table 1. Coefficient of cortisol variation in within-run and day to day

Cortisol (ng/ml)	Within-run (CV)	Day to day (CV)
0.1	0.9	0.7
1	3.3	4.2
10	3.8	4.6
100	3.5	3.9
1,000	4.5	5.9

Table 2. Cortisol recovery rate in serum

Added amount (ng/ml)	Measured value (ng/ml)	Recovery rate (%)
5	4.3	85
50	51	102
500	540	108

Table 3. Cross-reactivity of the rabbit anti-cortisol-3-(o-carboxymethyl) oxime IgG to various steroid hormones

Steroid hormone	Cross-reactivity (%)
11-Dehydrocorticosterone	0.56
17 α -Hydroxyprogesterone	8.4
17 α -Estradiol	0.05
21-Deoxycortisol	8.5
Corticosterone	3.5
Dexamethasone	0.2
Prednisolone	46.0
Prednisone	8.0

농도가 0.1~1,000 ng/ml일 때 동시재현성의 CV 값은 0.9~4.5%이고(Table 1), 일차재현성의 CV값은 0.7~5.9%로써 동시재현성의 CV값보다 약간 높은 경향을 보였다(Table 1).

Cortisol 농도가 낮은 혈청에 5, 50, 500 ng/ml의 cortisol을 첨가한 후 cortisol 농도를 측정한 결과 각각 4.3, 51, 540 ng/ml로써 평균 재현성은 98.3%이었다. 혈청의 cortisol 측정 재현성은 낮은 농도에서 85%을 보인 반면에 높은 농도인 500 ng/ml에서는 108%를 보였다 (Table 2).

각종 스테로이드 호르몬에 대한 교차반응은 0.05~46%으로 다양하게 나타났다(Table 3). 이중에서 prednisolone이 가장 높은 교차반응을 보였다.

고양이 혈중 cortisol 농도의 일종변동

고양이에서 혈중 cortisol 농도의 변화는 낮에는 낮은 농도를 유지하다가 밤에는 증가하는 경향을 나타냈다(Fig 1). 6시부터 15시까지의 평균 cortisol 농도는 80.7 ng/ml이며, 18시와 21시 그리고 24시의 평균은 264 ng/ml이었다

햄스터를 이용한 먹이 스트레스 실험

고양이의 햄스터에 대한 반응은 30분까지는 집중력과 집착을 보이지만 그 이후에는 점점 감소하는 것이 관찰되었다. 혈중 cortisol 농도는 실험시작 30분에 증가하여 296 ng/ml을 나타냈다. 이후에는 감소하기 시작하여 정상 수준으로 돌아왔다. 혈중 cortisol 농도의

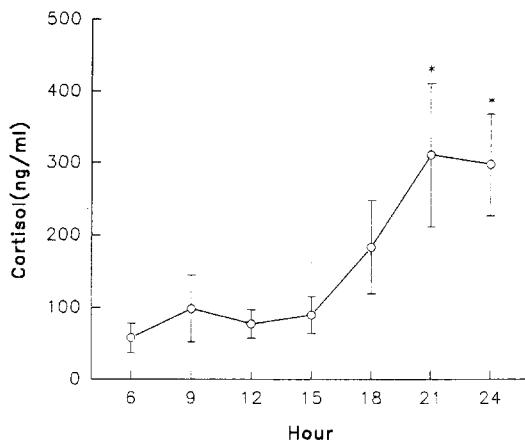


Fig 1. Circadian rhythm of the cortisol concentration in domestic cat serum. The vertical bar represents standard error. *: p<0.05

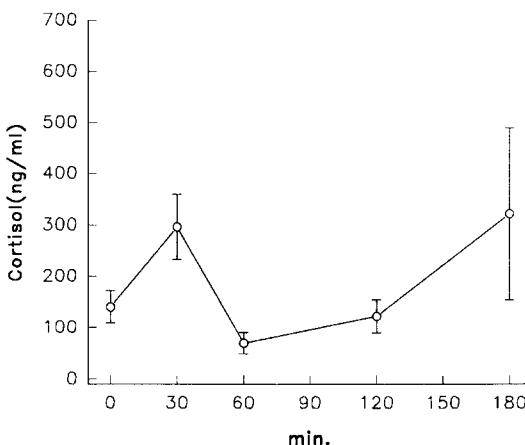


Fig 2. Sequential change of the serum cortisol concentration in stressed cats with hamster as a prey. The vertical bar represents standard error.

변화도 이러한 행동의 변화와 일치하고 있음을 알 수 있다(Fig 2).

전자신호음 자극 스트레스 실험

전자신호음을 들려준 지 60분까지는 혈중 cortisol 농도의 변화가 없었으나 이후부터는 증가하여 120분에 536 ng/ml로써 유의성있는 증가를 나타냈고(p<0.05) 이후 감소하기 시작하였다(Fig 3).

차량수송 스트레스 실험

고양이를 차에 싣고 수송을 시작했을 때 30분부터

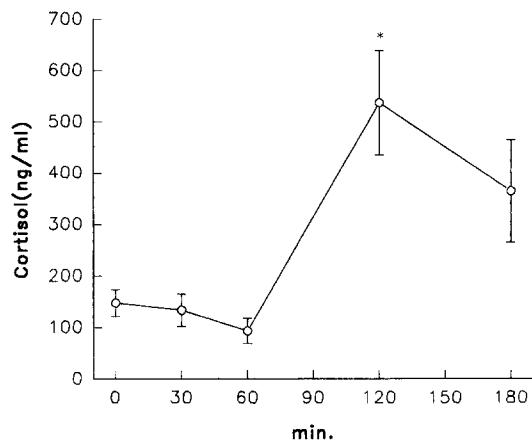


Fig 3. Sequential change of the serum cortisol concentration in stressed cat with beep sound. The vertical bar represents standard error. *: p<0.05

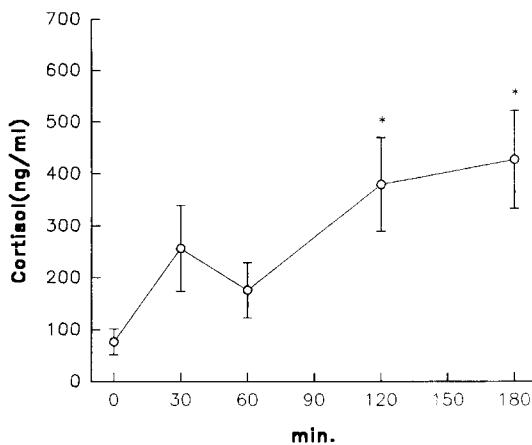


Fig 4. Sequential change of the serum cortisol concentration in stressed cats with transportation. The vertical bar represents standard error. *: p<0.05

혈중 cortisol 농도가 증가하기 시작하였다. 유의성있는 증가는 실험시작 후 120분에 379 ng/ml로 나타났다(p<0.05). 실험시간 동안 cortisol 농도가 출발 직전에 비해서 지속적으로 높게 나타났다(Fig 4).

낯선환경 스트레스 실험

실험시작 30분째에 혈중 cortisol 농도가 423 ng/ml로 유의성있게 증가하였다(p<0.05). 이후에도 지속적이고 높은 cortisol 농도를 나타냈다(Fig 5). 낯선환경 스트레스를 가하는 동안의 평균 cortisol 농도는 538 ng/ml이었다.

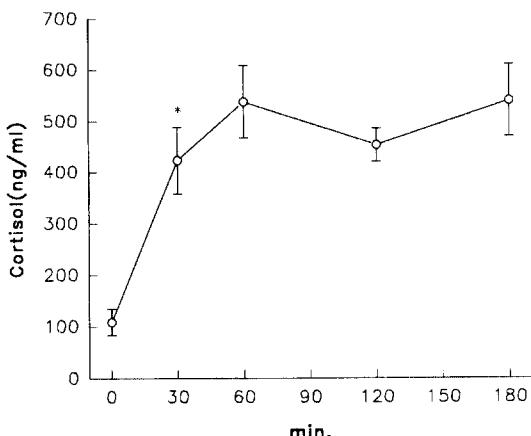


Fig 5. Sequential change of the serum cortisol concentration in stressed cats with unfamiliar environments. The vertical bar represents standard error. *: p<0.05

고 찰

고양이에서 혈중 cortisol 농도의 일중변동 존재 여부는 확실하게 밝혀져 있지 않았으나 이 연구에서 고양이의 혈중 cortisol 농도의 일중변동 여부를 검토한 결과 명확히 일중변동을 갖는 것을 알 수 있었다. 낮시간의 cortisol 농도는 평균 101 ng/ml로써 이 수치는 아침 6시부터 오후 6시까지 3시간 간격으로 5회에 걸쳐 측정한 값의 평균이다. 오후 6시의 측정값을 제외할 경우는 80.7 ng/ml로 나타났다. 밤시간의 cortisol 농도는 오후 6시부터 저녁 12시 사이에 3회 측정한 값의 평균으로 했을 때 264 ng/ml로 나타났다. 주간과 야간을 비교했을 때 서로 유의성 있는 차이가 인정되어 고양이의 혈중 cortisol 농도는 일중변동을 나타내는 것으로 밝혀졌다. 사람의 경우 낮시간의 혈중 cortisol 농도가 밤시간의 농도보다 높은 일중변동을 나타내는 반면, 고양이에서는 밤이 낮보다 높은 일중변동을 갖는다. 이것은 고양이가 야행성 동물로서 밤시간에 활동력이 증가되기 때문에 나타나는 생리적현상으로 짐작할 수 있다.

연구자에 따라 고양이의 정상적인 혈중 cortisol 농도를 다양하게 보고하고 있다. Feldman과 Nelson⁶은 10~44 ng/ml를 보고하였고, Kemppainen et al¹¹은 3~25 ng/ml였으며, Sodikoff¹⁴는 10~40 ng/ml를 정상 고양이의 혈중 cortisol 농도로 보고하였다. 그리고 0.125 mg의 합성 ACTH를 근육 주사했을 때는 정상 고양이에서 60~120 ng/ml의 농도를 나타내는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서 얻은 정상적인 고양이의 낮시간 혈

중 cortisol 농도가 평균 80.7 ng/ml로 나타났는데 이러한 차이를 가져온 원인으로는 고양이 품종, 기후, 집단 사육, 측정방법의 차이 등에 기인한 것으로 추측된다. 이 연구는 7월중에 수행하였으며 이때의 평균 최고 기온은 25.6°C였다.

먹이로써 햄스터를 이용한 스트레스에 대한 혈중 cortisol 농도변화에서는 실험시작 30분까지는 높은 관심을 보이다가 시간이 경과하면서 점점 관심을 보이지 않았다. 혈중 cortisol 농도는 햄스터에 대하여 경계심을 보인 시기인 실험시작 30분까지는 증가하였으나 이후에는 감소하기 시작하여 정상 수준으로 돌아왔다. 실험시작 180분에는 혈중 cortisol 농도가 다시 증가하였으나 이것은 햄스터에 의한 자극뿐만 아니라 고양이의 저녁시간의 일중변동과 관련되어 증가한 것으로 판단된다. 따라서, 먹이로써 햄스터를 이용한 자극은 고양이에게 지속적인 스트레스를 가하지 못하였으며, 일회적인 자극으로 끝났다.

전자신호음 자극 실험은 주위의 환경속에서 쉽게 접할 수 있는 주파수의 소리가 스트레스를 유발할 수 있는지를 알아보기 위한 것이었다. 실험에 사용된 전자신호음은 4 KHz로 생활환경 속에서 쉽게 접할 수 있는 가청 주파수이다. 전자신호음으로 자극하였을 때 실험시작 60분까지는 cortisol 농도가 증가하지 않아 전자신호음이 즉각적인 스트레스를 가하지는 않는 것 같았다. 그러나 2시간 후에는 혈중 cortisol 농도가 유의성있게 증가하였다. 이것은 정상 고양이의 주간 평균 cortisol 농도를 훨씬 상회하는 수치이다. 따라서, 이러한 전자신호음 자극 스트레스 실험결과에 의하면 비록 신호음이 가청 주파수에 속한다 하더라도 동일한 과정의 소리를 지속적으로 고양이에 들려준다면 스트레스를 유발할 가능성이 높은 것으로 판단된다.

차량수송에 의하여 스트레스를 가하였을 때 실험시작 30분 경부터 cortisol 농도가 증가하기 시작하여 120분에는 379 ng/ml, 그리고 실험시작 180분에도 427 ng/ml로 증가하여 일중변동 폭보다 훨씬 높게 나타났다. 차량수송은 차를 타면서 받게 되는 혼들림에 의한 스트레스와 차창밖의 새로운 환경에 의한 스트레스의 결합으로 추측할 수 있다. 그러나, 낮선환경 스트레스에 의한 혈중 cortisol 농도의 변화와 비교해 볼때 cortisol 농도의 증가가 적은 것으로 보아 이는 환경 변화에 의한 스트레스보다는 수송에 의한 스트레스 요인이 크게 작용한 것이 아닌가 생각된다.

낮선환경 스트레스 실험은 5가지 스트레스 유형 중에서 가장 효과적으로 cortisol 농도를 증가시켰는데 실험시작 30분부터 증가하기 시작하여 실험시작 후

180분까지 높은 cortisol 농도가 지속적으로 유지되었다. 이때의 평균 cortisol 농도는 고양이 혈중 cortisol 농도의 일중변동을 초과하였다. 이러한 결과는 낮선 환경 스트레스에 대한 고양이의 적응은 쉽게 이루어지지 않는 것을 알 수 있다. 고양이는 0.5~4 km²의 일정한 활동영역을 갖고 있고, 이 영역으로 새로운 고양이가 들어오면 우위다툼을 하게 된다. 그리고 환경에 적응하는데는 짧게는 약 2일에서 길게는 2주이상이 걸린다¹⁵. 고양이의 이러한 특성으로 인해서 새로운 환경 또는 낮선환경에 대한 스트레스가 여러 가지 스트레스 유형중에서 가장 효과적인 것으로 판단된다.

스트레스 실험에서 전자신호음을 사용한 경우를 제외하고는 모두 스트레스를 가하기 시작한 30분 후부터 cortisol 농도가 증가되었다. 이 결과는 ACTH를 고양이에 투여했을 때 투약 후 30분에 최고치를 나타내는 것을 확인한 Smith 등¹³의 결과와 일치하는 것이다. 따라서 스트레스에 대한 고양이의 반응은 스트레스 직후 뇌하수체에서 ACTH가 분비되고 이것에 의해 부신피질에서 cortisol이 서서히 분비되기 시작하여 30분 경에 최고치에 달하는 것을 알 수 있다.

이 연구의 결과로 미루어 보아 고양이에서 낮 동안에는 cortisol 농도가 낮게 유지되는 반면에 밤에는 높아지는 것을 알 수 있다. 각종 스트레스 시험의 결과에 의하면 효과적인 stressor는 낮선환경과 수송인 것으로 판단된다. 그리고, 고양이는 낮시간과 밤시간의 혈중 cortisol 농도를 달리하는 일중변동을 나타내기 때문에 혈중 cortisol 농도를 질병진단에 이용해야 하는 부신피질기능항진증이나 저하증과 같은 경우에 주의를 기울여야 할 것이다. 고양이에서 낮선환경이나 수송에 의한 스트레스는 높은 혈중 cortisol 농도를 유도하기 때문에 내원한 환축의 부신기능을 평가할 때는 더욱 주의를 기울여야 할 것으로 판단된다.

결 론

고양이에서 혈중 cortisol 농도를 측정하기 위한 ELISA kit를 제작하였다. 제작된 ELISA kit로 고양이에서 혈중 cortisol 농도의 일중변동을 관찰하였다. 그리고 스트레스 유형에 따른 혈중 cortisol 농도의 변화를 검토했다.

제작된 ELISA kit의 검정 결과 유효 측정범위는 1~1,000 ng/ml이었으며, 일차재현성은 0.7~5.9%였고 동시재현성은 0.9~4.5%였다. 그리고, 표준용액을 고양이 혈청에 첨가하여 cortisol 농도를 측정하여 그 측정치와 이론치를 비교한 재현성은 98%였다.

고양이에서는 혈중 cortisol 농도의 일중변동이 인정되었다($p<0.05$). 6시부터 15시까지의 평균 혈중 cortisol 농도는 80.7 ng/ml이었으며, 18시와 21, 그리고 24시의 평균 cortisol 농도는 264 ng/ml이었다.

햄스터를 먹이로 이용한 스트레스, 전자신호음 자극 스트레스, 차량수송 스트레스, 그리고 낮선환경 스트레스 실험결과 모두 혈중 cortisol의 상승을 유발시켰고, 특히 고양이에게 가장 많은 스트레스를 주는 것은 낮선환경 스트레스였다($p<0.05$). 이때의 평균 cortisol 농도는 538 ng/ml로 고양이의 혈중 cortisol 농도의 일중변동 중에서 가장 높은 시점의 농도보다도 77%가 더 증가하였다.

참 고 문 헌

- Bamberg-Thalén B, Nyberg L, Fackler L, Edqvist LE. Cortisol binding capacity of corticosteroid binding globulin in hyperadrenocorticoid and healthy dogs. Res Vet Sci, 1992; 52(3): 363-366.
- Baulieu EE, Kelly PA. Hormones. Hermann, Paris, France. 1990: 387-437.
- Benjamins C, Asschelman H, Scuurs AH. Increased salivary cortisol in severe dental anxiety. Psychophysiology 1992; 29(3): 302-305.
- Brown-Borg HM, Klemcke HG, Blecha F. Lymphocyte proliferative responses in neonatal pigs with high or low plasma cortisol concentration after stress induced by restraint. Am J Vet Res 1993; 54(12): 2015-20.
- Bunch DS, Rocke DM, Harrison RO. Statistical design of ELISA protocols. J Immunol Meth 1990; 132: 247-254.
- Feldman EC, Nelson RW. Canine and feline endocrinology and reproduction. Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders Co. 1987: 137-194.
- Frank LA, Kunkle GA, Beale KM. Comparison of serum cortisol concentration before and after intradermal testing in sedated and nonsedated dogs. J Am Vet Med Assoc 1992; 200(4): 507-510.
- Greenwood PL, Shutt DA. Salivary and plasma cortisol as an index of stress in goats. Aust Vet J 1992; 69(7): 161-163.
- Hastings BE, Abbott DE, George LM, Stadler SG. Stress factors influencing plasma cortisol levels and adrenal weights in Chinese water deer(Hydropotes inermis). Res Vet Sci 1992; 53(3): 375-380.
- Jain NC. Schalm's veterinary hematology. 4th ed. USA: Lea & Febiger. 1986: 126-139.
- Kemppainen RJ, Sartin JL. Effects of single intravenous doses of dexamethasone on baseline plasma cortisol concentrations and responses to synthetic

- ACTH in healthy dogs. Am J Vet Res 1984; 45(4): 742-746.
12. Lombardi G, Savastano S, Valentino R, Selleri A, Tommaselli AP, Rossi R, Gigante M, Covelli V. Neuroendocrine axis and behavioral stress. Ann N Y Acad Sci 1994; 741: 217-222.
13. Smith MC, Feldman EC. Plasma endogenous ACTH concentrations and plasma cortisol responses to synthetic ACTH and dexamethasone sodium phosphate in healthy cats. Am J Vet Res 1987; 48(12): 1719-1724.
14. Sodikoff CH. Laboratory profiles of small animal diseases. 2nd ed. St. Louis, USA: Mosby-Year Book, Inc. 1995: 30.
15. Voith VL, Borchelt PL. Behavior. In: Behavior In Feline medicine. California, USA: Am Vet Pub Inc. 1983: 651-668.
16. Willemse T, Vroom MW, Mol JA, Rijnberk A. Changes in plasma cortisol, corticotropin, and alpha-melanocyte-stimulating hormone concentrations in cats before and after physical restraint and intradermal testing. Am J Vet Res 1993; 54(1): 69-72.
17. Wong CW, Smith SE, Thong YH, Opdebeeck JP, Thornton JR. Effects of exercise stress on various immune functions in horses. Am J Vet Res 1992; 53(8): 1414-1417.
18. Zavy MT, Juniewicz PE, Phillips WA, von Tungeln DL. Effect of initial restraint, weaning, and transport stress on baseline and ACTH-stimulated cortisol responses in beef calves of different genotypes. Am J Vet Res 1992; 53(4): 551-557.
19. 나기정, 이창우. ELISA를 이용한 cortisol 측정법의 정립 및 임상적 응용. 대한수의학회지 1996; 36(3): 731-741.