

## Shih-tzu견에서 발정 주기 동안 질세포 검사 및 번식 호르몬 측정에 의한 교배 적기 및 배란 시기의 판정

김방실 · 오기석 · 김재풍 · 배춘식 · 김성호 · 김종택<sup>1</sup> · 박인철<sup>1</sup> · 박상국<sup>2</sup> · 손창호<sup>†</sup>  
전남대학교 수의학대학

## Estimation of Ovulation and Optimal Breeding Time Based on Vaginal Cytology and Determination of Reproductive Hormones in Shih-tzu Bitches

B. S. Kim, K. S. Oh, J. P. Kim, C. S. Bae, S. H. Kim, J. T. Kim<sup>1</sup>, I. C. Park<sup>1</sup>, S. G. Park<sup>2</sup> and C. H. Son<sup>†</sup>

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University

### SUMMARY

Vaginal cytology was examined in 12 Shih-tzu bitches to establish the accurate basic data for estimate to the optimal mating time and ovulation time. The mean duration of proestrus and estrus were  $9.09 \pm 0.83$  (mean $\pm$ SD) days and  $7.36 \pm 0.47$  days in pregnant bitches. The gestational length in the 12 pregnant bitches was  $65.2 \pm 0.5$  days in pregnant bitches when Day 0 was timed from the first day of male acceptance. Characteristic features of vaginal cytology during the estrous cycle were the high proportion of large intermediate cell, superficial cell, anuclear cell and erythrocyte in proestrus, superficial cell, anuclear cell and erythrocyte in estrus, and parabasal cell, small and large intermediate cell and leukocyte in diestrus, respectively. Cornification index (CI) was the high proportion in proestrus and estrus, then it decreased in diestrus and anestrus. When Day 0 was timed from the day of the first male acceptance, the CI peak was Day 2 and maintained above 80% between Day -4 and Day 6 during 11 days, and above 90% between Day -1 and Day 5 during 7 days. In relationship between CI and reproductive hormones, CI showed peak at the first day after plasma estradiol-17 $\beta$  concentration peak and plasma progesterone concentration was first increased above 4.0 ng/ml at Day 0 which was the first day after CI peak. In conclusion, ovulation in Shih-tzu bitches occurred at the first day after CI peak. Vaginal cytology is the simple and reliable method for estimating estrous cycle, optimal breeding time and ovulation time in Shih-tzu bitches.

(Key words : Shih-tzu bitches, vaginal cytology, cornification index)

### 서 론

개에서 난소 호르몬의 표적 기관인 질 상피는 발

정기 동안 다수의 층으로 분화되면서 표층 상피 세포의 박리가 일어난다. 즉 질 상피 세포는 발정기 때 증가하는 estrogens의 영향을 받아 각화 및 박리

<sup>1</sup> 강원대학교 수의학과(Dept. of Veterinary Medicine, Kwangwon National University)

<sup>2</sup> 전라남도 축산기술연구소(Jeollanamdo Livestock and Veterinary Research Institute)

<sup>†</sup> Correspondence : E-mail : chson@chonbuk.ac.kr

가 일어나게 된다. 그러므로 질세포 검사는 각 발정 주기별로 질세포의 출현율에 차이가 있기 때문에 발정 주기 및 교배 적기를 판정하기 위한 방법으로 이용되고 있다(이 등, 2006; 김 등, 2000; 손 등, 1996; Feldman과 Nelson, 1996; Bell과 Christie, 1971). 또한 Schutte(1967a, b)는 발정 주기의 각기에 출현하는 질세포를 세포질의 각화 유무 및 세포핵의 형태에 따라 부기저 세포, 소형 중간 세포, 대형 중간 세포, 표층 세포 그리고 무핵 세포로 분류하여 질세포 검사의 진단적 가치 및 임상적 응용성을 강조한 바 있다. 그리고 질세포 검사는 비정상적인 발정 증상 및 발정 주기를 보이는 개에서도 교배 적기의 판정에 응용되며 정확한 임신 일수의 평가 및 분만일의 예시와 생식기 질환의 진단에 응용될 수 있다고 하였다(Feldman과 Nelson, 1996; Guyant, 1988). 이상에서와 같이 개에서 발정 주기, 교배 적기 및 배란 시기를 판정하기 위하여 질세포 검사는 가장 간단하면서 신뢰할 수 있는 검사로서 본 연구에서는 Shih-tzu견 12두를 대상으로 각 발정 주기에 따른 질세포의 변화와 발정기 전후의 질세포상 및 세포지수를 검토한 후, 이를 교배 적기 및 배란 시기의 판정에 응용하고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 대상 동물

무발정기 Shih-tzu 견 12두(체중: 4.1~5.8 kg; 연령: 1~3년)를 대상으로 하였으며 모든 실험견은 실험 시작 전에 구충 및 예방 접종(canine distemper, canine hepatitis, canine parvovirus, canine parainfluenza virus, canine leptospira combined vaccine)을 실시하였다. 사료는 제한 금여하였고, 물은 자유 음수도록 하였으며 1두씩 격리하여 사육하였다.

### 2. 발정 출혈 확인

발정 개시 예정 2개월 전부터 매일 2회 발정 출혈 및 외음부 종대 여부, 그리고 발정 출혈 개시일부터 발정이 종료될 때까지는 매일 출혈색, 출혈량 및 점도와 수캐에 대한 허용 여부를 육안적으로 관찰하였다. 동일한 품종의 수컷에 의한 자연 교배를 실시하여 실험견 12두 모두 임신되었다.

### 3. 발정 주기의 구분

발정 주기의 구분은 Concannon과 Lein(1989) 및 Guyant(1988)의 기술에 준하여, 발정 전기는 발정 출혈 개시일부터 최초 수컷 허용 전날까지, 발정기는 최초 수컷 허용일로부터 최후 수컷 허용일까지, 발정 휴지기는 최후 수컷 허용 다음날부터 임신견의 경우는 분만일까지로 구분하였다.

### 4. 배란일 판정

#### 1) 채혈

실험 개시 1주일 전부터 최초 수컷 허용 후 20일 까지 매일 아침 요골쪽 피부 정맥에서 채혈하였다. 채혈 후 EDTA bottle에 채취한 혈액은 4°C, 3,000 g, 10분동안 원심분리하여 혈장을 분리한 후 혈장 progesterone 농도 및 estradiol-17 $\beta$  농도를 측정할 때 까지 -20°C에서 냉동 보관을 하였다.

#### 2) 혈장 Progesterone 및 estradiol-17 $\beta$ 농도 측정

혈장 progesterone 및 estradiol-17 $\beta$  농도 측정은 김 등(2000)의 기술에 준하여 progesterone kit(Progesterone Coat-A-count, Diagnostic Products Corporation, Los angeles, CA) 및 estradiol-17 $\beta$  kit(Estradiol Coat-A-count, Diagnostic Corporation, Los angeles, CA)를 사용하여 Gamma count(EC&G Wallace, Finland)로 측정하였다. 혈장 progesterone에 대한 변이 계수는 intra-assay는 5.1%, inter-assay는 8.2%이고 혈장 estradiol-17 $\beta$ 에 대한 변이 계수는 intra-assay는 9.6%, inter-assay는 11.8%이었다.

#### 3) 혈장 Progesterone 농도에 의한 배란일 판정

김 등(2000)의 기술에 준하여 발정 출혈 후 혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 상승한 날을 배란일로 판정하였다.

### 5. 질 상피 세포 검사

#### 1) 질 상피 세포의 채취 및 도말

김 등(2000) 및 Guyant(1988)의 기술에 준하여 멀균된 면봉에 생리 식염수를 묻힌 후 질내에 삽입하여 질전정에서 질 분비물을 채취한 후 2장의 슬라

이드에 직접 도말하였다. 슬라이드는 자연 진조시킨 후 각 유형의 질 상피 세포 비율과 cornification index(CI)를 산출하기 위해 Wright's 염색을 실시하였다. 질 상피 세포 검사는 실험 개시 2주 전부터 분만일까지 매일 실시하였다.

## 2) 질 상피 세포의 검경

### (1) 질 상피 세포의 구분

Schutte(1967a)의 기술에 준하여 각 슬라이드에 5개 이상의 시야에서 200개의 질 상피 세포를 검경한 후 세포질의 각화 유무 및 세포핵의 형태에 따라 5가지 세포, 즉 부기저 세포, 소형 중간 세포, 대형 중간 세포, 표층 세포, 그리고 무핵 세포로 분류하였으며, Bell과 Christie(1971)의 기술에 준하여 슬라이드상의 적혈구와 백혈구 출현 정도를 0부터 5까지 6등급으로 분류하였다.

### (2) Cornification Index (CI)의 산출

Post(1985)와 Schutte(1967b)의 기술에 준하여 각화된 세포의 비율을 백분율로 환산하여 CI를 산출하였다. CI의 산출 공식은 다음과 같다.

$$CI(\%) = \frac{\text{Number of cornified cells}}{\text{Total number of epithelial cells}} \times 100$$

## 6. 통계 처리

각 발정 주기의 길이와 발정 주기의 간격은 평균±표준편차(mean±S.D), 각 주기별 질 상피 세포의 비율 및 혈장 progesterone 농도는 평균±표준오차(mean±S.E.M)로 산출하였다. 그리고 발정 주기별 각 질 상피 세포의 비교는 statistical analysis system (SAS)의 general linear model(GLM)을 이용하여 유의성을 검토하였다.

## 결 과

### 1. Shih-tzu 견에서의 발정 주기

자연 발정된 Shih-tzu 견 12두 모두 발정 출혈, 회음부 반사, 외음부 종대와 같은 임상적 발정 증상

Table 1. The gestational length from each day in 12 Shih-tzu bitches

Parameter	Gestational length (days)
Day of first male acceptance	65.20±0.50
Day of first increased plasma progesterone concentration above 4.0 ng/ml	61.90±0.47

이 관찰되었다. 발정 전기와 발정기의 기간은 9.03±0.83일, 7.36±0.47일이었으며 발정 후기는 56.73±0.38일로 나타났다. 또한 동종의 수퇘와 자연 교배시켜 12두의 Shih-tzu견 모두 임신되었다. 이들을 각 기준일에 따른 임신 기간은 Table 1에 나타낸 바와 같다. 혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 상승한 날을 기준으로 한 경우 61.9±0.47일이었으며 최초 수컷 허용일을 기준으로 한 경우에는 65.2±0.5일이었다(Table 1).

### 2. 발정 주기 중 질 세포상의 변화

Shih-tzu 견 12두를 대상으로 발정 주기 중 도말한 질 상피 세포를 각각 검경하여 얻은 질 세포상의 변화는 Table 2와 같다.

#### 1) 부기저 세포

발정 전기와 발정기에 각각 1.9±0.3%, 0.3±0.2%이었으나 발정 휴지기와 무발정기에는 각각 7.0±1.1%, 40.0±0.7%로 유의성 있게 높았다( $p<0.01$ ).

#### 2) 소형 중간 세포

발정 전기와 발정기에 각각 4.4±0.6%, 2.1±0.5%이었으나 발정 휴지기와 무발정기에는 각각 30.7±2.0%, 43.6±1.3%로 유의성 있게 높았다( $p<0.01$ ).

#### 3) 대형 중간 세포

발정 전기에 14.9±1.3%, 발정기에 11.4±1.5%이었으나 발정 휴지기에는 37.6±1.8%, 무발정기에는 16.0±1.0%로 감소하였다.

#### 4) 표층 세포

Table 2. The percentages (mean $\pm$ S.E.M) of vaginal epithelial cells and grades of blood cells in vaginal smears during each phase of the estrous cycle in 12 Shih-tzu bitches

Cell types	Proestrus	Estrus	Diestrus	Anestrus
Parabasal cells	1.9 $\pm$ 0.3	0.3 $\pm$ 0.2	7.0 $\pm$ 1.1	40.0 $\pm$ 1.7
Small intermediate cells	4.4 $\pm$ 0.6	2.1 $\pm$ 0.5	30.7 $\pm$ 2.0	43.6 $\pm$ 1.3*
Large intermediate cells	14.9 $\pm$ 1.3	11.4 $\pm$ 1.5	37.6 $\pm$ 1.8*	16.0 $\pm$ 1.0
Superficial cells	29.6 $\pm$ 1.2*	34.2 $\pm$ 1.4*	18.6 $\pm$ 1.6	1.4 $\pm$ 0.2
Anuclear cells	50.0 $\pm$ 1.8*	51.9 $\pm$ 2.4*	6.5 $\pm$ 0.9	0.9 $\pm$ 0.2
Erythrocytes	2.6 $\pm$ 0.1*	1.1 $\pm$ 0.1	0.9 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1
Leukocytes	0.4 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.1*	1.4 $\pm$ 0.1*
Cornification indexes	81.0 $\pm$ 1.6	88.7 $\pm$ 1.7	24.0 $\pm$ 2.3*	2.2 $\pm$ 0.5

\* Differences are significant between values indicated with an asterisk and each other values in the same row ( $p<0.01$ ).

발정 전기에 29.6 $\pm$ 1.2%, 발정기에 34.2 $\pm$ 1.4%이었으나 발정 휴지기에는 18.6 $\pm$ 1.6%, 무발정기에는 1.4 $\pm$ 0.2%로 감소하였다. 각 기간별 비교에서 특히 발정 전기와 발정기에 유의성 있게 높게 나타났다( $p<0.01$ ).

### 5) 무핵 세포

발정 전기에 50.0 $\pm$ 1.8%, 발정기에 51.9 $\pm$ 2.4%이었으나, 발정 휴지기에는 6.5 $\pm$ 0.9%, 무발정기에는 0.9 $\pm$ 0.2%로 감소하였고, 발정 전기와 발정기에 유의성 있게 높게 나타났다( $p<0.01$ ).

### 6) 적혈구와 백혈구

적혈구는 발정 전기에 2.6 $\pm$ 0.1로, 발정기에는 1.1 $\pm$ 0.1 그리고 발정 휴지기와 무발정기에는 각각 0.9 $\pm$ 0.1, 0.3 $\pm$ 0.1로 감소하였는데 특히 발정 전기에 유의성 있게 높았다( $p<0.01$ ). 백혈구는 발정 전기와 발정기에 각각 0.4 $\pm$ 0.1, 0.3 $\pm$ 0.1이었으나 발정 휴지기에는 1.1 $\pm$ 0.1로, 무발정기에는 1.4 $\pm$ 0.1로 무발정기에 유의성 있게 나타났다( $p<0.01$ ).

### 7) 발정 주기별 질세포상의 변화

발정 전기에는 표층 세포와 무핵 세포 그리고 적혈구가 각각 29.6 $\pm$ 1.2%, 50.0 $\pm$ 1.8% 및 2.6 $\pm$ 0.1%로 주종을 이루었으며, 발정기에는 표층 세포와 무핵 세

포가 각각 34.2 $\pm$ 1.4%, 51.9 $\pm$ 2.4%로 주종을 이루는 세포이었다. 발정 휴지기에는 소형 중간 세포와 대형 중간 세포가 각각 30.7 $\pm$ 2.0%, 37.6 $\pm$ 1.8%로 주종을 이루었으며 무발정기에는 부기저 세포와 소형 중간 세포, 백혈구가 각각 40.0 $\pm$ 1.7%, 43.6 $\pm$ 1.3%, 1.4 $\pm$ 0.1로 주종을 이루는 세포이었다.

### 8) Cornification Index

발정 전기에는 81.0 $\pm$ 1.6%, 발정기에는 88.7 $\pm$ 1.7%로 매우 높게 나타났으나 발정 휴지기에는 24.0 $\pm$ 2.3%, 무발정기에는 2.2 $\pm$ 0.5%로 감소하였다. 각 기간별 비교에서 발정 전기와 발정기에 유의성 있게 높았다( $p<0.01$ ).

### 3. 발정기 전후의 질 세포상의 변화

최초 수컷 허용일(Day 0)을 기준으로 발정 전기와 발정기 동안의 질 세포상은 Fig. 1과 같다.

#### 1) 부기저 세포

발정 전기 개시일 전후인 Day -9에 6.3 $\pm$ 0.9%였고, Day -6에 1.6 $\pm$ 0.4%로 감소하였으며 발정 휴지기 개시일 전후인 Day 8에 1.8 $\pm$ 1.1%로, Day 20에는 20.2 $\pm$ 5.5%로 증가하였다.

#### 2) 소형 중간 세포

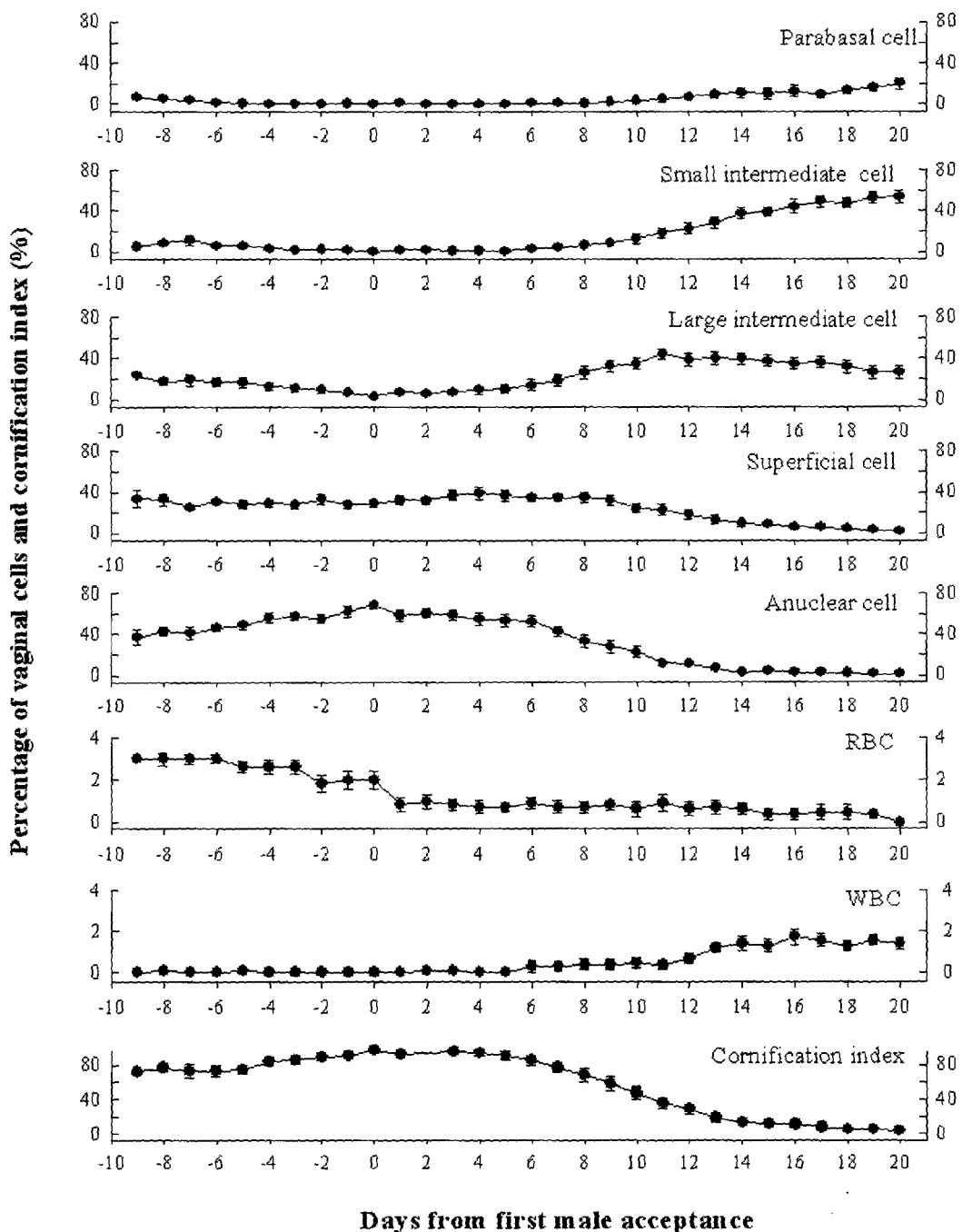


Fig. 1. Profiles (mean $\pm$ S.E.M) of cell type on vaginal cytology from Day -9 to Day 20 in 12 Shih-tzu bitches. Day 0 is the first day of male acceptance.

Day -9에 5.9 $\pm$ 1.5%였고, Day -6에는 5.0 $\pm$ 2.4%로 감소하였으며 Day 6에 3.0 $\pm$ 2.0%로 감소하였다.

발정 휴지기 개시일 전후인 Day 8에 6.4 $\pm$ 2.7%, Day 20에는 53.5 $\pm$ 6.0%로 증가하였다.

### 3) 대형 중간 세포

Day -9에  $23.4\pm1.5\%$ 이었고, Day -6에는  $17.2\pm4.3\%$ 로 감소하였으며 발정기 개시일 전후 Day 0에  $3.2\pm1.1\%$ 로 감소하여 이 후 발정 휴지기 개시일 전후인 Day 8에  $26.4\pm6.2\%$ , Day 11에  $44.1\pm4.8\%$ , Day 20에는  $53.5\pm6.0\%$ 로 증가하였다.

### 4) 표층 세포

Day -9에는  $33.8\pm1.5\%$ 이었고 Day -6에  $31.0\pm2.7\%$ 로 약간 감소하다가, Day 0에  $28.6\pm3.3\%$ , Day 4에  $39.0\pm5.8\%$ 로 최고치로 증가하였고, 발정 휴지기 개시일 전후인 Day 8에  $34.6\pm4.2\%$ , Day 20에는  $2.2\pm0.4\%$ 로 감소하였다.

### 5) 무핵 세포

Day -9에는  $37.1\pm7.9\%$ 이었고, Day -6에  $46.7\pm3.9\%$ , Day 0에  $68.6\pm4.8\%$ 로 최고치로 증가하였으며, 발정 휴지기 개시일 전후인 Day 8에  $33.1\pm6.5\%$ 로 감소하여 Day 13에  $6.68\pm2.26\%$ , Day 20에  $1.1\pm0.3\%$ 로 낮게 지속하였다.

### 6) 적혈구와 백혈구

적혈구는 Day -9에  $3.0\pm0.0$ 이었고, Day -6에  $3.0\pm0.2$ 에서 Day 0에는  $2.0\pm0.4$ 로 낮아지다가 발정 휴지기 개시일 전후인 Day 8에  $1.0\pm0.3$ 으로 낮게 나타났으며 백혈구는 발정 전기 개시일 전후인 Day -9와 발정 개시일 전후인 Day 0에 관찰되지 않았고, 발정후기 개시일 전후 Day 8에  $0.3\pm0.0$ 으로 관찰되어, Day 15에  $1.0\pm0.2$ 로 낮게 지속되었다.

### 7) Cornification Index

Day -9에  $72.4\pm2.9\%$ , Day -6에  $73.8\pm6.2\%$ , Day -4에  $84.0\pm3.9\%$ 로 80% 이상으로 증가하였으며 Day 0에  $97.0\pm1.1\%$ 로 증가하여 Day 2에는  $98.2\pm0.5\%$ 로 최고치를 나타내었다. Day 4에  $93.8\pm3.6\%$ , Day 7에  $77.0\pm5.8\%$ 로 80% 이하로 감소하여 Day 10에  $48.1\pm7.6\%$ , Day 13에  $19.0\pm5.2\%$ 로 급격히 감소하였으며 그 후는 계속 20% 이하로 나타내었다.

CI가 80% 이상을 나타낸 기간은 Day -4에서 Day 6까지(11일간)이었고, 90% 이상을 나타낸 기간은 Day -1에서 Day 5까지(7일간)이었다.

### 4. 발정 기간 중 혈장 Progesterone와 Estradiol-17 $\beta$ 농도의 변화

혈장 progesterone 농도가  $4.0 \text{ ng/ml}$  이상으로 증가한 날(Day 0)을 기준으로 임신전 12두의 progesterone, estradiol-17 $\beta$  그리고 CI와의 관계를 검토한 결과는 Fig. 2와 같다.

#### 1) 혈장 Progesterone 농도의 변화

혈장 progesterone 농도가  $4.0 \text{ ng/ml}$  이상 상승한 날을 기준으로 발정 출혈 개시일에는  $0.1 \text{ ng/ml}$  이하를 보이다가 서서히 상승하여 Day -7에는  $0.6\pm0.2 \text{ ng/ml}$ 를 보였고 Day -1에  $2.9\pm0.3 \text{ ng/ml}$ , Day 0에는  $5.2\pm0.3 \text{ ng/ml}$ 로 최초로  $4.0 \text{ ng/ml}$  이상으로 증가하였으며 이후 급격히 상승하였다. Day 15에  $42.6\pm3.7 \text{ ng/ml}$ 로 최고치를 나타내었고 그 이후 서서히 감소하기 시작하였다.

#### 2) 혈장 Estradiol-17 $\beta$ 농도의 변화

혈장 progesterone 농도가 최초로  $4.0 \text{ ng/ml}$  이상 상승한 날을 기준으로 혈장 estradiol-17 $\beta$  농도 변화는 Fig. 2와 같이 발정 전기 개시일부터 기저치 이상으로 증가하여 Day -2에  $33.5\pm8.0 \text{ pg/ml}$ 로 최고치를 나타내었다. 이후 Day 0에는  $13.4\pm8.3 \text{ pg/ml}$ 로 감소하기 시작하여 급격히 감소하였으며 발정 휴지기와 무발정기에는 기저치 이하로 낮게 지속되었다.

#### 3) 혈장 Progesterone 및 Estradiol-17 $\beta$ 와 Cornification Index와의 관계

혈장 estradiol-17 $\beta$  가 Day -2에 최고치를 나타내었고, estradiol-17 $\beta$  peak 후 2일째인 Day 0에 혈장 progesterone 농도가  $5.2\pm0.3 \text{ ng/ml}$ 로 최초로  $4.0 \text{ ng/ml}$  이상으로 증가하였다. 그리고 CI는 estradiol-17 $\beta$  peak 후 1일째인 Day -1에  $97.6\pm0.8\%$ 로 최고치를 나타내었으며, CI가 최초로 80% 이상으로 증가한 날은 estradiol-17 $\beta$  peak 5일전인 Day -7이었고, Day -7부터 Day 3까지 11일 동안 80% 이상으로 지속되었다. CI가 90% 이상으로 증가한 날은 estradiol-17 $\beta$  peak 2일전인 Day -4이었으며 Day -4부터 Day 2까지 7일 동안 90% 이상으로 지속되었다. 또한 CI가 최고치를 나타낸 후 1일째인 Day 0에 혈장 progesterone 농도가  $5.2\pm0.3 \text{ ng/ml}$ 로 최초로  $4.0 \text{ ng/ml}$

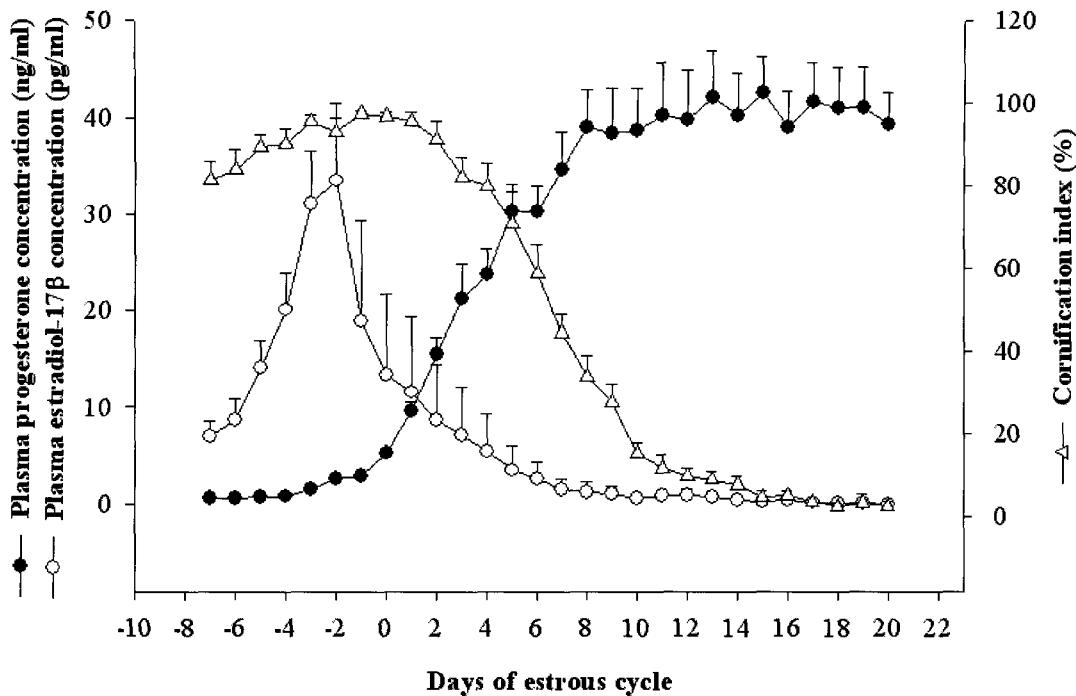


Fig. 2. Profiles (mean±S.E.M) of plasma progesterone and estradiol-17 $\beta$  concentrations and CI during the estrous cycle from Day -8 to Day 21 in 12 Shih-tzu bitches. Day 0 is the day that plasma progesterone concentration was first increased above 4.0 ng/ml after the first day of vulvar bleeding.

이상으로 증가하였다.

## 고 칠

개에서 발정 전기와 발정기의 진행 과정 및 교배 적기를 판정하는데 있어 질세포 검사는 비교적 간단한 방법으로 이용되고 있다(Linde와 Karlsson, 1984; Olson 등, 1984). 본 연구에서 최초 교배일을 기준으로 한 발정 주기 동안의 질세포상과 CI의 변화는 Table 2와 Fig. 1에서와 같이 부기저 세포와 소형 중간 세포는 발정 전기와 발정기에는 거의 관찰되지 않았으며 발정 휴지기에도 낮게 나타나다가 무발정기에 40%로 높게 나타났으며 대형 중간 세포는 발정 전기에서 감소하여 발정기에서는 더욱 감소하다가 발정 휴지기에 증가하였다. 표층 세포는 발정 전기에 증가하여 발정기에 30% 정도로 증가하였으며 무핵 세포는 발정 전기와 발정기에 가장 높게 증가하였다가 발정 휴지기에 다시 감소하였

다. 적혈구는 발정 전기에 급증한 후 높게 지속되다가 발정 휴지기에 현저한 감소를 나타내었고 백혈구는 발정 전기와 발정기에 거의 나타나지 않았으나 발정 휴지기 개시일을 전후로 증가하기 시작하였다. CI는 발정 전기 개시일부터 증가하기 시작하여 발정 전기 후반부에 최고치를 나타낸 후 발정기 중반부부터 감소하였다. 발정 주기별로 살펴보면 발정 전기에는 표층 세포와 무핵 세포 그리고 적혈구, 발정기에는 표층 세포와 무핵 세포, 발정 휴지기에는 소형 중간 세포와 대형 중간 세포, 무발정기에는 부기저 세포와 소형 중간 세포, 백혈구가 주종을 이루었으며 이는 김 등(2000)의 진돗개를 대상으로 한 경우에서 보고된 결과와 동일하여 발정 주기 중 질세포상의 변화가 품종 간에 따라 차이가 없음이 시사되었다.

발정 기간 중 세포지수는 Fig. 1에서와 같이 첫 수컷 허용일(Day 0)을 기준으로 하였을 때 CI는 Day -9에 72.4±2.9%에서 Day -4에 84.0±3.9%로 80

% 이상으로 증가하였으며, Day -1에  $90.5 \pm 3.5\%$ 로 90%로 증가하였으며 CI 최고치는 Day 2에  $98.2 \pm 0.5\%$ 로 나타내었다. Day 7에  $77.0 \pm 5.8\%$ 로 80% 미만으로 감소하여 Day 13에  $19.0 \pm 5.2\%$ 로 급격히 감소하였으며 그 후는 계속 20% 이하로 나타내었다. CI가 80% 이상을 나타낸 기간은 Day -4에서 Day 6까지 11일간이었으며, 90% 이상으로 나타낸 기간은 Day -1에서 Day 5까지 7일간이었다. 이는 13두의 진돗개를 대상으로 한 손 등(1996)에서 첫 수컷 허용일을 기준으로 하였을 때 Day 2에 CI 최고치를 나타내었고 80% 이상을 나타낸 기간은 11일이었다는 결과와 유사하였다. 한편 개에서 배란은 수캐허용 후 1~3일에 일어나며(Renton 등, 1992; Bouchard 등, 1991), 이 때가 교배적기라고 보고되었다(Concannon 등, 1977). 따라서 Shih-tzu 견에서 CI가 첫 수컷 허용 후 2일째에 최고치를 나타낸 것은 이 때가 교배적기의 최적기로 추정된다.

또한 발정 주기 중 혈장 progesterone 농도가 최초로  $4.0 \text{ ng/ml}$  이상으로 증가한 날(Day 0)을 기준으로 발정 주기 중 혈장 progesterone 농도와 혈장 estradiol- $17\beta$  농도와 CI의 상관관계를 비교, 검토한 결과는 Fig. 2와 같다. Estradiol- $17\beta$ 가 Day -2에 최고치를 나타내었고, CI가 Day -1에 최고치를 나타낸 후 Day 0에 혈장 progesterone 농도가  $5.2 \pm 0.3 \text{ ng/ml}$ 로 최초로  $4.0 \text{ ng/ml}$  이상으로 증가하였다. 이는 김 등(2000)의 36두의 진돗개를 대상으로 하여 CI와 혈장 progesterone 및 estradiol- $17\beta$  농도와의 상관관계에서 estradiol- $17\beta$  농도는 Day -3에 최고치를, CI는 Day -1에 최고치를 나타내었으며 CI peak 후 1일째에 혈장 progesterone 농도가 최초로  $4.0 \text{ ng/ml}$  이상으로 증가하였다는 보고와 유사하였다. 또한 본 실험에서는 CI가 최초로 80% 이상으로 증가하여 지속한 날은 estradiol- $17\beta$  peak 5일전인 Day -7이었고, Day -7부터 Day 3까지 11일 동안 80% 이상으로 지속되었다. CI가 최초로 90% 이상으로 증가한 날은 estradiol- $17\beta$  peak 2일전인 Day -4이었으며 Day -4부터 Day 2까지 7일 동안 90% 이상으로 지속되었다. 이 기간 중 CI가 최고치를 나타낸 Day -1 전후에는 CI의 증감의 폭은 현저하지 않았으나 혈장 estradiol- $17\beta$  peak 1일째에 CI peak가 나타났으며 그 이후 4일 후까지 90% 이상

을 나타내었다. 이 결과는 36두의 진돗개를 대상으로 한 김 등(2000)이 CI가 90% 이상인 날이 estradiol- $17\beta$  peak 3일전이었으며, Day -3부터 Day 3까지 7일 동안 90% 지속되었다는 보고와 매우 유사한 결과를 나타내었으며, 혈장 estradiol- $17\beta$  peak 후 3~6일에 질세포의 각화 정도가 최고를 이룬다는 보고(Concannon 등, 1977)와 유사한 결과를 나타내었다. 또한 80% 이상으로 증가한 날로부터 7일 후, 90% 이상으로 증가한 날로부터 4일후인 Day 0에 혈장 progesterone 농도가 최초로  $4.0 \text{ ng/ml}$  이상으로 증가하여 질 상피 세포의 각화가 80% 이상인 날로부터 6.9일 후에 배란이 일어난다는 보고(Christiansen, 1984)와도 유사한 결과를 나타내었다.

이상의 결과를 종합하여 보면 Shih-tzu 견에서 첫 수컷 허용일(Day 0)을 기준으로 하였을 때 CI 최고치는 Day 2에 나타났으며 이 때가 최상의 교배적기로 사료되며, Day 3에 혈장 progesterone 농도가 최초로  $4.0 \text{ ng/ml}$  이상으로 증가하여 CI가 90% 이상으로 지속된 시기가 최상의 교배 적기임이 확인되었다.

## 적 요

Shih-tzu 견에서 발정 주기, 교배 적기 및 배란 시기를 정확하게 추정하기 위한 질 세포 검사를 확립하기 위하여 Shih-tzu 견 12두를 대상으로 발정 주기 동안 질 세포 검사 및 estradiol- $17\beta$ 와 progesterone 농도를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 발정 주기별 질 세포상의 특징적인 변화로서 발정 전기에는 무핵 세포와 적혈구, 발정기에는 표층 세포와 무핵 세포 및 적혈구가 주종을 이루는 세포였으며 발정 휴지기에는 소형 중간 세포와 대형 중간 세포, 무발정기에는 부기저 세포와 소형 중간 세포 및 백혈구가 주종을 이루는 세포였다. 또한 CI는 발정 전기와 발정기에 높게 나타났으나, 발정 휴지기와 무발정기에는 감소하여 각 기간별 비교에서 발정 전기와 발정기에 유의성 있게 높았다. 발정 주기 중 첫 수컷 허용일(Day 0)을 기준으로 하였을 때 CI는 발정 전기 개시일 전후인 Day -9에  $72.4 \pm 2.9\%$ , Day -4에  $84.0 \pm 3.9\%$ 로 80% 이상으로 증가하였으며 Day 0에  $97.0 \pm 1.1\%$ 로 증가하여 Day 2에는

98.2±0.5%로 최고치를 나타내었으며 CI가 80% 이상을 나타낸 기간은 Day -4에서 Day 6까지(11일 간)이었고, 90% 이상을 나타낸 기간은 Day -1에서 Day 5까지(7일간)이었다. 또한 임신 Shih-tzu 견 12두에서 혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 증가한 날을 기준(Day 0)으로 발정 주기 중 혈장 progesterone과 estradiol-17 $\beta$  및 CI의 관계를 살펴보면 estradiol-17 $\beta$  가 Day -2에 최고치를 나타내었고, CI가 Day -1에 최고치를 나타낸 후 Day 0에 혈장 progesterone 농도가 5.2±0.3 ng/ml로 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 증가하였다. CI가 최초로 80% 이상으로 증가하여 지속한 날은 estradiol-17 $\beta$  peak 5일전인 Day -7이었고, Day -7부터 Day 3까지 11일 동안 80% 이상으로 지속되었다. CI가 최초로 90% 이상으로 증가한 날은 estradiol-17 $\beta$  peak 2일전인 Day -4이었으며, Day -4부터 Day 2까지 7일 동안 90% 이상으로 지속되었다. 이상의 결과를 종합하여 보면 Shih-tzu 견에서 첫 수컷 허용일(Day 0)을 기준으로 하였을 때 CI 최고치는 Day 2에 나타났으며 이 때가 최상의 교배 적기로 사료되며, 혈장 progesterone 농도가 4.0 ng/ml 이상으로 증가한 날(Day 0)을 기준으로 하였을 때부터 CI는 혈장 estradiol-17 $\beta$  peak 후 1일째인 최고치를 나타내었고, CI peak 후 1일째인 Day 0에 혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 증가하여 CI가 90% 이상으로 지속된 시기가 최상의 교배 적기임이 확인되었다. 따라서 혈장 progesterone 농도 측정으로 정확한 배란 시기 및 교배 적기를 판정할 수 있으나, 시설비가 저렴하고 검사 방법이 간단한 질 세포 검사가 Shih-tzu 견에서 발정 주기, 교배 적기 및 배란 시기의 판정에 응용될 수 있음을 시사하는 결과라고 사료된다.

### 참고문헌

- Bell ET and Christie DW. 1971. Erythrocytes and leukocytes in the vaginal smears of the beagle bitch. *Vet. Rec.*, 88:546-549.
- Bouchard GF, Solorzano N, Concannon PW, Youngquist RS and Bierschwal CJ. 1991. Determination of ovulation time in bitches based on teasing, vaginal cytology, and ELISA for progesterone. *Theriogenology*, 35:603-611.
- Christiansen IJ. 1984. Reproduction in the dog and cat. 1st ed., Bailliere Tindall, London, pp. 41-45.
- Concannon PW and Lein DH. 1989. Current veterinary therapy. 10th ed., Saunders, Philadelphia, pp. 1269-1282.
- Concannon PW, Hansel W and McEntee K. 1977. Changes in LH, progesterone and sexual behavior associated with preovulatory luteinization in the bitch. *Bio. Reprod.*, 17:604-613.
- Feldman EC and Nelson RW. 1996. Canine and feline endocrinology and reproduction. 2nd ed., Saunders, Philadelphia, pp. 526-546.
- Guyant L. 1988. Canine vaginal cytology. *Veterinary Technician*, 9:513-520.
- Linde C and Karlsson I. 1984. The correlation between the cytology of the vaginal smear and the time of ovulation in the bitch. *J. Small. Anim. Pract.*, 25:77-82.
- Olson PN, Thrall MA, Wykes PW and Nett TM. 1984. Vaginal cytology. Part II. Its use in diagnosing canine reproductive disorders. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.*, 6:385-390.
- Post K. 1985. Canine vaginal cytology during the estrous cycle. *Can. Vet. J.*, 26:101-106.
- Renton JP, Boyd JS, Harvey MJA, Ferguson JM, Nickson DA and Eckersall PD. 1992. Comparison of endocrine changes and ultrasound as means of identifying ovulation in the bitch. *Res. Vet. Sci.*, 53:74-79.
- Schutte AP. 1967a. Canine vaginal cytology. II. Cyclic changes. *J. Small. Anim. Pract.*, 8:307-311.
- Schutte AP. 1967b. Canine vaginal cytology. III. Complication and evaluation of cellular indices. *J. Small. Anim. Pract.*, 8:313-317.
- 김정훈, 정경아, 강현구, 오기석, 박인철, 박상국, 한호재, 손창호. 2000. 진돗개에서 발정 주기 동안 질세포상과 번식호르몬의 관계. *한국임상수의학회지*, 17:225-233.
- 손창호, 백인석, 신창록, 최한선, 강병규. 1996. 진도

개에서 발정 주기, 교배적기 및 배란시기 관정  
을 위한 질세포 검사의 이용성. 한국임상수의학  
회지, 13:114-122.

이기창, 강현구, 천현미, 김일화. 2006. 비글개에서  
발정 주기 및 교배적기 동안 질세포상과 번식

호르몬의 관계. 한국수정란이식학회지, 21:109-  
119.

---

(접수일: 2006. 8. 30 / 채택일: 2006. 9. 20)