

비글개에서 발정 주기 및 교배 적기 동안 질세포상과 번식 호르몬의 관계

이기창¹ · 강현구[†] · 천현미 · 김일화
충북대학교 수의과대학 및 동물의학연구소

Relationship between Vaginal Cytology and Reproductive Hormone during the Estrous Cycle and Optimal Mating Time in Beagle Dogs

K. C. Lee¹, H. G. Kang[†], H. M. Cheun and I. H. Kim

*College of Veterinary Medicine and Research Institute of Veterinary Medicine,
Chungbuk National University*

SUMMARY

This study was conducted to examine relationship between vaginal cytology and reproductive hormones during the estrous cycle and to provide basic data to estimate for ovulation time and optimal mating time in 6 beagle dogs.

The duration of proestrus, estrus and diestrus were 8.5±1.4, 10.0±1.4 and 54.0±2.8 days at pregnant respectively, and 7.9±2.1, 9.5±0.7 and 62.0±11.3 days at non-pregnant respectively. The duration of interestrus intervals were 246.2±24.5 days at pregnancy, and 175.3±34.5 days at non-pregnancy. The duration of interestrus intervals at pregnancy was longer than that of non-pregnancy.

A characteristic features of vaginal cytology during the estrous cycle were the high proportion of superficial cell, anuclear cell and erythrocyte in proestrus and estrus, parabasal cell, small intermediate cell and leukocyte in diestrus, and parabasal cell and small intermediate cell in anestrus, respectively. Cornification index (CI) in proestrus and estrus were significantly higher than that of CI in diestrus and anestrus.

Plasma progesterone concentration was below 1.0 ng/ml at the first day of vulval bleeding at pregnancy and non-pregnancy, and then it was above 2.0 ng/ml at Day -2 in all bitches. When plasma progesterone concentration was first increased above 4.0 ng/ml, it was the second day after the first day of male acceptance. Plasma progesterone concentration showed above 40 ng/ml on Day 20~22 in all bitches, and then it was gradually decreased until Day 35. Plasma progesterone concentration at pregnancy was higher than that of non-pregnancy from Day 35 to Day 63. Plasma estradiol-17 β concentration was above 9.0 pg/ml at the first day of vulval bleeding, and it showed 26.4 pg/ml on Day -2.

* 본 연구는 교육인적자원부 2단계 BK 21 사업지원으로 이루어졌음.

¹ 충청북도 축산위생연구소(Chungbuk Livestock and Veterinary Research Institute)

[†] Correspondence : E-mail : kang6467@cbu.ac.kr

When it was timed from the first day of male acceptance (Day 0), plasma estradiol-17 β concentration showed a peak on Day 0 and plasma progesterone concentration was first increased above 4.0 ng/ml on Day 2 which was the third day after plasma estradiol-17 β peak. CI was first increased above 80 and 90% on Day -1 and Day 1, respectively. CI was maintained above 80% from Day -1 to Day 8 (10 days) and above 90% from Day 1 to Day 6 (6 days), respectively.

CI was maintained above 80% from Day 0 to Day 8 (9 days) and above 90% from Day 1 to Day 6 (6 days), respectively. Plasma progesterone concentration was first increased above 4.0 ng/ml on the second day after the day which CI was first increased above 90%.

In conclusion, beagle bitches ovulated on the second day after the day which CI was first increased above 90% and on the day which plasma progesterone concentration was first increased 4.0 ng/ml, and it was estimated that the optimal mating time was the day which the second day after CI was first increased above 90% and plasma concentration was between 2~25 ng/ml. The measurement of plasma progesterone was used to determine of and accurate ovulation time and the optimal mating time, but vaginal cytology is low-priced and simple method to estimate estrous cycle, optimal mating time and ovulation time.

(Key words: beagle dog, vaginal cytology, progesterone, estradiol-17 β , optimal mating time)

서 론

개는 1년에 1~2회의 발정 주기를 나타내는 단발정 동물로서 다른 동물과 달리 발정 전기와 발정기의 길이가 길고 다양하기 때문에 교배 적기 및 배란 시기를 정확하게 판정하는 것이 중요하다(Feldman과 Nelson, 1996; Allen, 1992). 교배 적기 및 배란 시기를 정확하게 판정하기 위한 방법으로는 웅견 허용 반응(Bouchard 등, 1991), luteinizing hormone(LH), estradiol-17 β 그리고 progesterone과 같은 성 hormone의 농도 측정(England와 Yeager, 1993; Bouchard 등, 1991), 초음파 검사(Boyd 등, 1993; Hayer 등, 1993; Renton 등, 1992; Wallace 등, 1992) 및 질세포 검사(Badinand 등, 1993; Bouchard 등, 1991; Wright, 1991; Mestre 등, 1990) 등이 있다.

웅견 허용 반응은 교배 적기를 판정하기 위해 가장 일반적으로 사용되고 있는데(Bouchard 등, 1991), 이것은 검사가 용이하다는 장점이 있으나 개체간의 다양성, 미경산견과 경산견의 발정 징후의 차이 그리고 결과를 해석하는 해석자의 주관성 때문에 이 방법의 신뢰도는 낮다고 하였다(Bouchard 등, 1991).

혈중 LH 농도 측정법은 개의 배란 시기를 가장 정확하게 알 수 있는 방법이며(England와 Yeager, 1993; Bouchard 등, 1991), LH surge 후 2~3일에 배란된다고 보고된 바 있다(Concannon 등, 1977).

하지만 배란 전에 일과성 분비 양상을 보이는 혈중 LH 농도를 측정하기 위해서는 고가 장비 및 특수 시설이 필요하며(Bouchard 등, 1991), 1일 2회 이상 채혈을 해야 하는 번거로움이 있어(Bouchard 등, 1991; van Haften 등, 1989) 실제 현장에서 응용하기에는 많은 어려움이 있다.

교배 적기를 판정하고 배란 시기를 추정하는데 있어서 혈중 progesterone 농도를 측정하는 방법들이 보고되고 있다(Dietrich와 Möller, 1993; Hayer 등, 1993; Okens 등, 1993; Bouchard 등, 1991; Post 등, 1990; Concannon과 Lein, 1989; Concannon 등, 1989; Concannon 등, 1977). 혈중 progesterone 농도는 배란 전부터 서서히 증가하기 시작하다가 배란 직후부터 급격히 증가하여 배란 후 20일 전후에 최고치를 나타낸다(Concannon과 Lein, 1989; Concannon 등, 1989). 또한 배란 전에 난포벽이 황체화되므로 배란 전에 혈중 progesterone 농도가 증가하는 현상은 오로지 개에서만 관찰할 수 있다고 하였으며(Hayer 등, 1993; Bouchard 등, 1991; Concannon 등, 1977), Concannon 등(1977)은 LH surge 후 배란 현상은 혈중 progesterone의 농도가 증가하는 것과 밀접한 관련이 있다고 하였다. 또한, 혈중 progesterone 농도를 측정하여 배란 시기를 비교적 정확하게 파악할 수 있고 교배 적기를 판정하는데도 중요하다고 보고된 바 있으며(Post 등, 1990), 혈중 progesterone 농도를 측정하여 이

재료 및 방법

를 기준으로 일정한 시간에 교배를 실시하여 높은 수태율을 나타내었다고 보고되었다(Okens 등, 1993; Dietrich와 Möller, 1993; Post 등, 1990).

최근 초음파 진단 장치를 이용하여 난소의 구조물을 직접 관찰함으로써 배란 시기를 확인하는 방법이 소개되었다(Boyd 등, 1993; Hayer 등, 1993; Renton 등, 1992; Wallace 등, 1992). 그러나 개의 난포는 다른 동물과 달리 배란전부터 난포 내벽의 황체화가 이루어지며(Hayer 등, 1993), 난포가 파열(collapse)되지 않은 경우가 많기 때문에 모든 개에서 배란 시기를 정확하게 판정할 수 없다고 하였다(Boyd 등, 1993).

개에서 난소 호르몬의 표적 기관인 질상피 세포는 발정기 동안 다수의 층으로 분화되면서 표층 상피 세포의 박리가 일어난다(Linde-Forsberg와 Forsberg, 1989). 즉 질상피 세포는 발정기 때 증가하는 estrogen의 영향을 받아 각화 및 박리가 일어나게 되는데, 질세포 검사법은 이러한 각 발정 주기별 질세포의 출현과 비율의 차이를 토대로 하여 발정전기와 발정기의 진행 과정 판단 및 교배 적기를 판정하는데 이용되고 있다(Hayer 등, 1993; Allen, 1992; Post 등, 1990). 한편 질세포 검사에 의한 세포 지수, 즉 eosinophilic index(EI), cornification index(CI), superficial cell index(SCI) 및 karyopyknotic index(KPI)에 대한 임상적 응용성도 보고된 바 있다(Fayrer-Hoskens, 1994; Hayer 등, 1993). 이밖에도 질세포 검사는 비정상적인 발정 주기를 보이는 개에서의 교배 적기 판정(Dore, 1978), 분만일의 예시(England와 Allen, 1989) 그리고 자궁이나 질 등의 생식기 질환(Feldman과 Nelson, 1987) 등의 진단에도 응용되고 있다.

이상 보아온 바와 같이 발정 주기와 교배 적기 및 배란 시기를 판정하기 위한 많은 연구가 보고되어지고 있는 가운데 국내에서 번식되고 있는 비글개를 대상으로 질세포와 번식 호르몬 사이의 관계를 종합적으로 비교, 검토가 필요하다고 판단되었다. 따라서 본 연구는 비글개를 대상으로 검사 방법이 간단한 질 세포 검사를 수행하여 발정 주기 동안 질 세포상을 조사하고 혈장 progesterone 및 estradiol-17 β 농도를 측정하여 이들 사이의 상관관계를 규명함으로써 비글개의 번식에 대한 기초적 자료를 제공하고자 실험을 실시하였다.

1. 실험 동물

실험 동물은 비글개 6두를 대상으로 11회의 발정 주기를 관찰하였으며, 11회의 발정 주기 중 임신이 되었던 예는 7회, 임신이 되지 않았던 예는 4회이었다. 모든 개는 성성숙 전부터 사육하면서 발정주기를 관찰하였으며 6두 중 2두는 3회의 발정 주기, 1두는 2회, 나머지 3두는 1회의 발정 주기를 나타내었다. 첫 발정 개시 시의 체중은 평균 10.3 kg이었다.

실험견은 실험 동물 사육실에서 1두씩 격리 사육하였으며, 조명은 명암을 14 및 10 시간 주기로 맞추어 주었다. 사료는 제한 급여하였고, 물은 자유 음수토록 하였다. 모든 개는 실험 개시 전에 예방 접종 및 구충을 실시하였다.

2. 발정 전기 출혈의 확인

모든 개는 발정 출혈이 관찰될 때까지 매일 발정 출혈 및 외음부 종대 여부를 관찰하였으며, 발정출혈 개시일부터 발정이 종료될 때까지 매일 2회 출혈색, 출혈량과 점도 및 교배 허용 여부를 관찰하였다. 최초 교배 허용 후 1~2일에 동일종의 수캐와 2일 간격으로 2회 자연 교배를 실시하였다.

3. 발정 주기의 구분

임상 증상의 관찰 및 번식 호르몬 농도 측정에 의한 발정 주기는 Guyant(1988) 및 Concannon과 Lein(1989)의 기술에 준하여 발정 전기, 발정기, 발정 휴지기, 무발정기로 구분하였다. 즉, 발정 전기는 발정 출혈 개시일부터 최초 교배 허용 전 날까지, 발정기는 최초 교배 허용일부터 최후 교배 허용일까지, 발정 휴지기는 임신건의 경우 최후 교배 허용 다음날부터 분만일까지, 비 임신건의 경우 최후 교배 허용 다음날부터 혈장 progesterone 농도가 1.0 ng/ml 이하로 하강할 때로 하였으며, 그 이후부터 다음 발정 출혈 개시 전 날까지를 무발정기로 구분하였다.

4. 질세포 검사

질세포 검사는 Guyant(1988) 및 손 등(1997)의 방법에 준하여 멸균 면봉에 생리 식염수를 묻힌

후 질내에 삽입하여 질진정에서 질분비물을 채취한 후 2장의 슬라이드 글라스에 직접 도말하였다. 질 도말 표본을 자연 건조시킨 후 각각의 질세포 비율과 각화지수(cornified index(CI))를 산출하기 위해 Wright's 염색을 실시하였다.

질세포 검사는 발정 출혈 개시일 부터 최초 교배 허용 후 20일까지는 매일, 최초 교배 허용 후 21일째 부터 다음 발정 출혈 개시일 까지는 주 1회 실시하였다.

질세포의 구분은 Schutte(1967a)의 기술에 준하여 각각의 슬라이드의 5개 이상 시야에서 200개의 질세포를 검경한 후 세포질의 각화 유무 및 세포핵의 형태에 따라 5가지 세포로 분류한 다음 이를 다시 비 각화 상피 세포(parabasal cell, small intermediate cell, large intermediate cell)와 각화 상피 세포(superficial cell 그리고 anuclear cell)로 대별하였으며, Bell과 Christie(1971)의 기술에 준하여 슬라이드상의 적혈구와 백혈구 출현 정도를 Table 1과 같이 0부터 5까지 6등급으로 분류하였다.

질세포의 각화지수(Cornification index; CI)의 산출은 Schutte(1967a)와 Post(1985)의 기술에 준하여 각화된 세포의 비율을 백분율로 환산하여 CI를 산출하였다. CI의 산출 공식은 다음과 같다.

$$CI (\%) = \frac{\text{Number of cornified cells}}{\text{Total number of epithelial cells (200)}} \times 100$$

Table 1. The classification employed to grade the number of blood cells in the vaginal smear

| Grade | Microscopic findings of vaginal smear |
|-------|---|
| 0 | No cells present |
| 1 | An occasional cell in the smear |
| 2 | A few cells (2 to 3) in each low power ($\times 100$) field |
| 3 | Several cells (approximately 10) in each low power field |
| 4 | Many cells in each low power field |
| 5 | Erythrocyte and leukocyte obliterate other cells in the field |

5. 초음파 검사

모든 개는 임신의 여부를 확인하기 위하여 최후 교배 후 25일에 초음파 진단기를 이용하여 임신 진단을 실시하였다. 초음파 검사 전에 복부의 전도를 실시하였고, 진정이나 마취는 실시하지 않았다. 실험견을 양와위로 보정한 후 acoustic gel을 복부에 바르고 탐촉자를 피부에 밀착시켜 상복부와 하복부 사이를 이동하면서 초음파 검사를 실시하였다. 초음파 검사에는 6.5 MHz 탐촉자(convex형 multi-probe; 5.5 MHz, 6.5 MHz, 7.5 MHz)와 7.5 MHz 탐촉자(linear형 multi-probe; 7.5 MHz, 8.5 MHz, 10.0 MHz)가 장착된 SonoAce 8800(Medison Co, Korea)을 이용하였다.

6. 혈장 Progesterone과 Estradiol-17 β 농도 측정

모든 개는 발정 출혈 개시일부터 최초 교배 허용 후 20일까지는 매일, 임신이 된 예는 최초 교배 허용 후 21일부터 분만 예정 6일전까지는 3일 간격으로, 분만 예정 6일전부터 분만 후 10일까지는 매일 그리고 분만 이후에는 2주에 1회 채혈하였으며, 임신이 되지 않은 예는 최초 교배 허용 후 80일째까지는 3일 간격으로, 이후에는 2주에 1회 채혈하였다. 채혈 후 EDTA 병에 채취한 혈액은 4 $^{\circ}$ C에서 1,500 g로 10분 동안 원심 분리하여 혈장을 분리한 후 혈장 progesterone과 estradiol-17 β 의 농도를 측정할 때까지 -20 $^{\circ}$ C에 냉동 보관하였다.

혈장 progesterone 농도 측정은 progesterone kit (Coat-A-Count[®] Progesterone, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, USA)를 사용하여, 추출하지 않은 100 μ l의 혈장을 duplicate로 하여 Gamma counter(EG & G Wallace, Finland)로 측정하였다. 즉, progesterone 항체가 부착된 각각의 시험관에 표준액, quality control 또는 시료를 100 μ l씩 분주한 다음 label hormone(¹²⁵I-progesterone) 1ml를 각각 넣어 실온에서 3시간동안 incubation 하였다. Incubation 후 결합하지 않은 부분을 decant한 다음 Gamma counter로 측정하였다. 변이 계수(coefficients of variation)인 intra-assay는 5.1%, inter-assay는 8.2% 이었다.

Estradiol-17 β 농도는 Estradiol-17 β kit(Coat-A-Count[®] Estradiol, Diagnostic Products Corpora-

tion, Los Angeles, USA)를 이용하여 progesterone 분석과 같은 방법으로 Gamma counter(EG & G Wallace, Finland)로 측정하였다. 변이 계수인 intra-assay는 9.6%, inter-assay는 11.8% 이었다.

7. 통계 처리

각 발정 주기의 길이와 발정 주기의 간격은 Mean±SD 그리고 각 주기별 질세포의 비율과 혈장 progesterone 및 estradiol-17β 농도는 Mean±sem으로 산출하였다. 발정 주기별 각 질세포의 비교는 SPSS의 GLM(General Linear Model) 그리고 각 그룹별 혈장 progesterone과 estradiol-17β 농도의 비교는 Student's *t*-test를 이용하여 유의성을 검토하였다.

Table 2. The duration of each phase of the 11 estrous cycles in 6 beagle bitches

| Estrous cycle | Pregnant (n=7) | Non-pregnant (n=4) |
|------------------------|----------------|--------------------|
| Proestrus | 8.5± 1.4 | 7.9± 2.1 |
| Estrus | 10.0± 1.4 | 9.5± 0.7 |
| Diestrus | 54.0± 2.8 | 62.0±11.3 |
| Anestrus | 171.2±27.4* | 127.0±31.7 |
| Interestrous intervals | 246.2±24.8* | 175.3±34.5 |

* n=6.

Table 3. The percentage (Mean±sem) of vaginal cells and grades of blood cells in vaginal smears during each phase of the 11 estrous cycles in 6 beagle bitches

| Cell types | Proestrus | Estrus | Diestrus | Anestrus |
|---------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Non-cornified cells | 29.1±2.6 | 11.1±1.2 | 82.8±1.3* | 92.1±0.7* |
| Superficial cell | 39.2±3.0* | 35.5±2.2* | 9.1±0.9 | 3.8±0.4 |
| Anuclear cell | 31.3±1.5* | 42.5±2.7* | 8.1±0.6 | 4.1±0.4 |
| Leukocyte | 0.3±0.1 | 0.8±0.2 | 3.3±0.1* | 2.2±0.1 |
| Erythrocyte | 3.8±0.1* | 2.5±0.2* | 0.9±0.1 | 0.3±0.1 |
| CI | 70.2±3.0* | 88.9±2.4* | 17.2±1.2 | 7.9±0.6 |

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

결 과

1. 각 발정 주기의 기간

비글개 6두에서 11회의 발정 주기 중 임신인 경우 7회와 비 임신인 경우 4회의 발정 전기, 발정기 및 발정 휴지기의 평균 일수는 Table 2에 나타내었다. 임신 예의 발정 전기, 발정기 및 발정 휴지기의 기간은 각각 8.5±1.4, 10.0±1.4 및 54.0±2.8일이었고, 비 임신 예의 각 기간은 7.9±2.1, 9.5±0.7 및 62.0±11.3이었다. 임신시와 비 임신시 무발정기의 길이 및 발정 주기 사이의 간격은 임신시는 각각 171.2±27.4일, 246.2±24.5일이었으며 비 임신시는 각각 127.0±31.7일과 175.3±34.5일로 임신시에 무발정기의 길이 및 발정주기 사이의 간격이 길었다.

2. 발정 주기중 질세포상의 변화

비글개 6두를 대상으로 11회의 발정 주기 동안 (임신 7회, 비 임신 4회) 질도말 표본을 검정하여 얻은 질세포상의 변화는 Table 3에 나타내었다.

발정 전기에는 superficial cell, anuclear cell 및 적혈구가 각각 39.2±3.0%, 31.3±1.5% 및 3.8±0.1로 높은 수준을 나타내었고 발정기에도 superficial cell, anuclear cell 및 적혈구가 각각 35.5±2.2%, 42.5±2.7% 및 2.5±0.2로 높은 수준을 나타내었다. 발정 휴지기에는 비 각화 세포 및 백혈구가 각각 82.8±1.3% 및 3.3±0.1로 높은 수준을 나타내었다. 무발정기에도 비 각화 상피 세포의 수가 높게 나타났다.

질세포의 각화 지수는 발정 전기와 발정기에 각

각 70.2 ± 3.0 및 $88.9 \pm 2.4\%$ 로 유의성 있게 높았다 ($p < 0.01$). 발정 휴지기와 무발정기에 각각 17.2 ± 1.2 및 $7.9 \pm 0.6\%$ 로 감소하였다.

3. 발정 주기 중 혈장 Progesterone 및 Estradiol-17 β 농도 변화

혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 상승한 날을 기준(Day 0)으로 하였을 때, 실험견 6두에서 11회의 발정 주기 동안 임신이 되었던 7회와 임신이 되지 않았던 4회에 있어서 발정 전기부터 무발정기까지 혈장 progesterone 농도 및 estrogen 농도 변화를 Fig. 1에 나타내었다.

Day -13에 임신이 되었던 예와 임신이 되지 않았던 예의 혈장 progesterone 농도는 각각 0.11 및 0.16 ng/ml이었으며 Day -1에 각각 2.9 및 3.3 ng/ml로 증가하였다. Day 0에는 4.6 및 4.1 ng/ml로 혈장 progesterone 농도가 처음으로 4.0 ng/ml 이상으로 증가하였다. 이후 모든 예에서 농도가 증가하여 Day 20일 경에 40 ng/ml 이상으로 최고치를 나타내었다. 이후 혈장 progesterone 농도가 지속적으로 감소하여 임신된 예에서는 Day 43에

19.5 ng/ml 그리고 임신이 되지 않았던 예에서는 Day 44에 11.6 ng/ml로 나타나 임신이 된 예에서의 혈장 progesterone 농도가 임신이 되지 않았던 예에 비해 높게 나타났다. 임신이 되었던 예에서는 분만 1일전인 Day 64에 1.3 ng/ml로 감소하였으며 분만일인 Day 65에는 0.7 ng/ml로 혈장 progesterone 농도가 1.0 ng/ml 이하로 나타났다. 임신이 되지 않았던 예는 임신이 되었던 예의 분만 1일전에 해당하는 Day 64에도 4.9 ng/ml를 나타내어 임신이 된 경우와는 달리 혈장 progesterone 농도가 1.0 ng/ml 이하로 감소하지 않았다. 임신이 되지 않은 예는 Day 79에 0.3 ng/ml를 나타내어 1.0 ng/ml 이하로 감소하였다. 무발정기의 혈장 progesterone 농도는 임신이 된 예와 임신이 되지 않았던 예 모두에서 1.0 ng/ml 이하 수준을 나타내었다.

발정 주기 중 혈장 estradiol-17 β 의 농도 변화는 발정 전기 개시 일부터 상승하기 시작하여 배란 2일전(Day -2)에 26.4 ± 10.9 pg/ml로 최고치를 나타내었다. 발정기에 급격히 감소하였고 발정 휴지기와 무발정기에 계속해서 낮은 수준을 유지하는 것으로 나타났다. 혈장 estradiol-17 β 농도는 발정 전

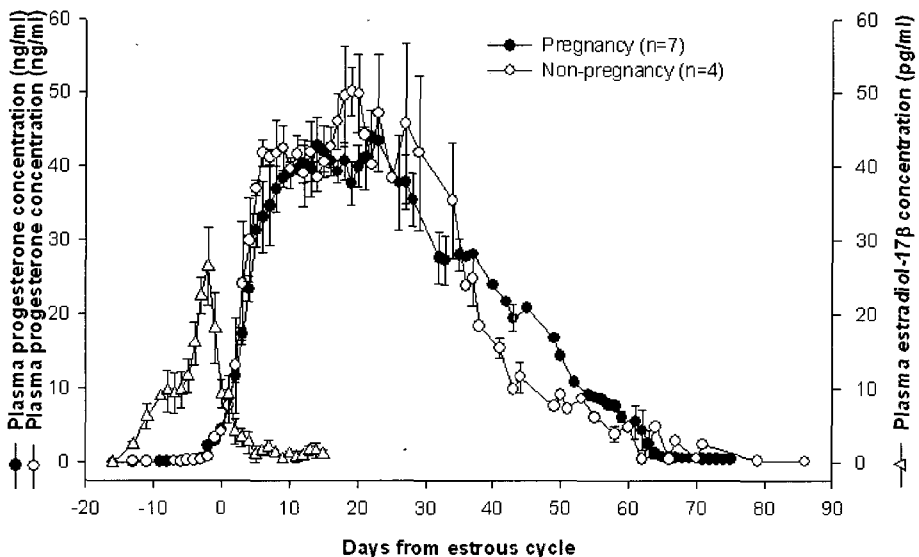


Fig. 1. Plasma progesterone and estradiol-17 β profiles (Mean \pm sem) during the 11 estrous cycle from Day -16 to Day 86 in 6 beagle bitches (Day 0 is the day that plasma progesterone concentration was first increased above 4.0 ng/ml after the first day of vulval bleeding).

기에 유의하게 높았다($p < 0.01$).

4. 발정기 전·후에 있어서 CI와 혈장 Progesterone 및 Estradiol-17 β 농도 사이의 관계

비글개 6두에서 11회의 발정주기 동안(임신 예 7회, 비임신 예 4회)에 있어서 최초 교배 허용일을 기준(Day 0)으로 하였을 때, CI와 혈장 progesterone 및 estradiol-17 β 농도 사이의 관계는 Fig. 2와 같다.

혈장 estradiol-17 β 농도는 최초 교배 허용 하루 전(Day -1)에 최고치를 나타냈고 혈장 progesterone 농도는 Day 2에 4.4 ng/ml를 나타내어 4.0 ng/ml 이상으로 처음 증가하였다. CI는 발정전기 개시일 이후부터 증가하기 시작하여 Day 1에 90% 이상으로 증가하였다. CI가 80% 이상 수준을 유지한 기간은 10일간(Day -1~Day 8)이었으며, 90% 이상 수준을 유지한 기간은 6일간(Day 1~Day 6)이었다. CI와 혈장 estradiol-17 β 농도는 발정전기에 유의성 있게 높았으며, 발정기 이후에는 지속적으로 낮은 수준을 유지하였다($p < 0.01$).

고 찰

개에서 질 상피 세포 검사는 발정 전기 및 발정기의 진행 과정과 교배 적기를 판정하는데 있어서 비교적 간단히 수행할 수 있는 방법으로 이용되고 있다(Hayer 등, 1993; Allen, 1992; England, 1992; Post 등, 1990). 질 상피 세포는 발정기 때 증가하는 estrogen의 영향을 받아 각화 및 박리가 일어나게 되는데, 질세포 검사법은 이러한 각 발정 주기별 질세포의 출현과 비율의 차이를 토대로 하여 발정 전기와 발정기의 진행 과정 판단 및 교배 적기를 판정하는데 이용되고 있다(Fayrer-Hoskens, 1994; Hayer 등, 1993).

개에서의 발정 주기는 난포에서 분비되는 estrogen의 영향 하에 있는 발정 전기와 발정기, 난소의 황체에서 분비되는 progesterone의 영향 하에 있는 발정 휴지기 그리고 난소의 활동이 전혀 없는 무발정기로 나누어진다(김 등, 2000; England, 1992; Tsutsui, 1975; Bell 등, 1973). 또한 발정 전기와 발정기의 길이는 개체에 따라 상당한 차이를 나타내지만 각각 약 9일로 상당히 긴 편이다. 본 연구에서도 발정 전기와 발정기의 길이는 임신된 경우에 각각 8.5일과 10.0일, 비 임신인 경우는 각각 7.9일

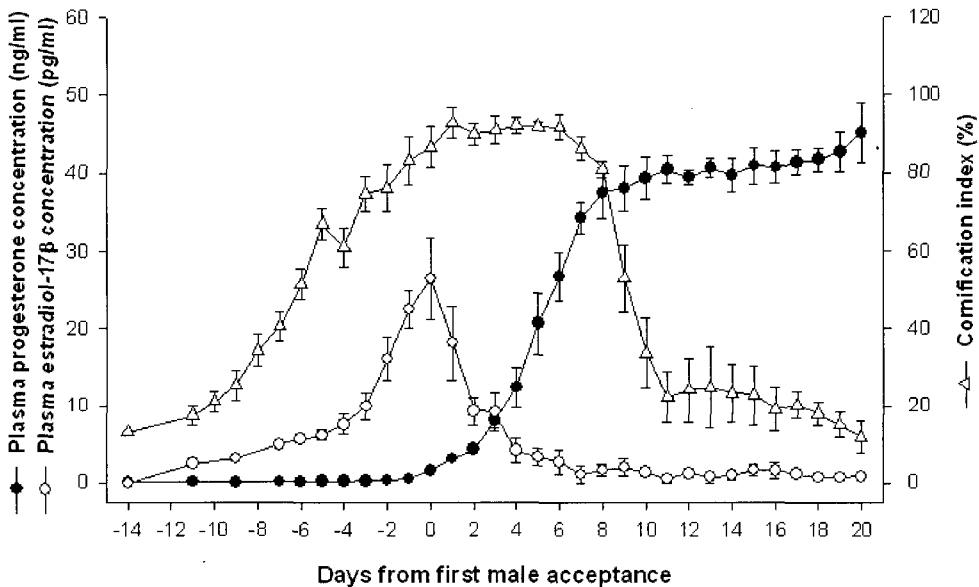


Fig. 2. Plasma progesterone and estradiol-17 β profiles (Mean \pm sem), and cornification index during the 11 estrous cycles from Day -14 to Day 20 in 6 beagle bitches (Day 0 is the first day of male acceptance).

과 9.5일로 이전 보고자와 큰 차이는 없었다(Table 1). 한편 발정 주기 사이의 간격에 있어서는 임신인 경우는 246.2 ± 24.5 일이었으며 비 임신인 경우는 175.3 ± 34.5 일로 비 임신의 경우보다 임신인 경우에 발정 사이의 길이가 더 길다는 것을 확인하였다.

질상피 세포는 estrogen의 표적 세포로서 난포에서 분비하는 estrogen의 영향을 받게 되면 질상피 세포의 각화가 일어난다(Schutte 등, 1967a; 1967b). 질상피 세포의 종류는 크게 각화 상피 세포와 비각화 상피 세포로 대별되며 비 각화 상피 세포는 parabasal cell, small intermediate cell, large intermediate cell이 있으며, 각화 상피 세포는 superficial cell과 anuclear cell이 있다. 각 발정 주기에 따른 질세포 상피의 변화상은 발정 전기에는 비 각화 상피 세포가 난포에서 분비하는 estrogen의 영향을 받아 점차적으로 각화 상피 세포로 변화한다. 또한 발정기에는 각화 상피 세포가 주종을 이루며 각화 상피 세포 중에서도 무핵 각화 상피 세포가 50% 이상을 차지하게 된다(Hayer 등, 1993; Allen, 1992; Post 등, 1990). 본 연구에서도 Table 2에서 보는 바와 같이 발정 전기에는 비 각화 상피 세포가 점차적으로 증가하여 발정기에는 superficial cell, anuclear cell이 주종을 이루었으며, 발정 후시기에는 각화 상피 세포의 수는 지속적으로 감소하여 비 각화 상피 세포가 주를 이룸과 동시에 백혈구가 출현하였다. 그리고 무발정기에는 비 각화 상피 세포인 parabasal cell과 small intermediate cell이 주종을 이루었다. 이러한 결과는 이전 연구자들의 보고(김 등, 2000; Feldman과 Nelson, 1996; England, 1992; Guyant, 1988; Holst, 1986)와 동일한 것으로 품종과 염색 방법이 다르더라도 발정 주기 중 질 세포상의 변화 양상은 비슷하게 나타난다는 것을 알 수 있었다.

혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 증가한 날을 기준(Day 0)으로 하였을 때 발정 주기 중 혈장 progesterone 및 estradiol-17 β 의 농도의 변화상은 Fig. 1에서와 같이 발정 전기부터 Day 35일까지 임신의 경우와 비 임신의 경우 사이에 유의성 있는 차이가 인정되지 않았지만 Day 35일 이후부터 Day 63일까지 혈장 progesterone 농도는 임신 예가 비 임신 예보다 더 높은치를 나타내

었다. 이 결과는 임신 예와 비 임신 예의 혈장 progesterone 농도를 비교해 보면 임신 예의 혈장 progesterone 농도가 비임신 예에 비해 높게 유지되는 기간이 길다는 보고(Fayrer-Hosken 등, 1994; Concannon과 Lein, 1989)와 일치하였다. 또한 임신 건과 비 임신건에서 혈장 progesterone 농도가 1.0 ng/ml 이하로 감소되는 시기에 대해 Concannon 등(1983)은 임신건은 61~65일, 비 임신건은 51~82일이라 하였고, LH surge일을 기준으로 임신건은 65 ± 1 일, 비 임신건은 50~120일이라 하였다. 본 연구에서(Fig. 1)도 임신된 예는 분만 1일전인 Day 64에 혈장 progesterone 농도는 1.3 ng/ml를 나타내었고, 분만일인 Day 65에 0.7 ng/ml로 1.0 ng/ml 이하를 나타내어 혈장 progesterone 농도가 분만 전 24~36시간에 극적인 감소를 보이다가 분만일에는 1.0 ng/ml 이하를 나타낸다는 보고(Silva 등, 1995; Bouchard, 1991; Post 등, 1990)와 유사한 결과를 나타내었다. 반면 비임신 예에서는 임신 예의 분만 1일 전에 해당하는 Day 64에 4.9 ng/ml를 나타내었으며, Day 79에 1.0 ng/ml 이하를 나타내어 비 임신 예의 황체가 임신 예에 비해 더 길게 나타나 전술한 바와 동일한 결과를 나타내었다.

혈장 estradiol-17 β 농도는 무발정기 후반부에 5~10 pg/ml 수준으로 낮게 유지되다가 발정 전기 개시 후 10~20 pg/ml로 증가된 후 발정 전기 후반부와 LH surge 이전 1~2일에 50~100 pg/ml로 최고치에 도달한 후 발정기동안 감소한다고 한다(Bell 등, 1971). 본 연구에서는 발정 출혈 개시일의 혈장 estradiol-17 β 농도는 9.6 ± 2.7 pg/ml이었고, 최초 교배 허용일에 26.4 ± 10.9 pg/ml로 최고치를 나타냈으며 최후 교배 허용일에 1.5 ± 1.0 pg/ml로 감소하였다. 이는 이전 보고자들이 보고한 바와 동일한 분비 양상을 나타내는 것이지만 최초 교배 허용일에 peak를 나타낸 것은 다소 차이가 있었다. 이는 임신 예 및 비 임신 예 각각 1두에서 최초 교배 허용일의 혈장 estradiol-17 β 농도가 높게 측정되어 전체 평균에도 영향을 미친 것으로 생각된다.

최초 교배 허용일을 기준(Day 0)으로 하였을 때 발정기 전·후 CI, 혈장 progesterone 및 estradiol-17 β 농도 사이의 관계를 살펴보면 Fig. 2에 나타난 바와 같이 혈장 estradiol-17 β 농도는 Day 0에

peak를 나타내었고, 혈장 estradiol-17 β peak 후 2 일인 Day 2에 혈장 progesterone 농도가 4.0 ng/ml 이상으로 처음 증가하였다. CI는 혈장 estradiol-17 β peak 후 1일인 Day 1에 90% 이상으로 증가하였다. CI가 80% 이상을 나타낸 기간은 혈장 estradiol-17 β peak 1일전인 Day -1부터 Day 8까지 10일간이었으며, 90% 이상을 나타낸 기간은 혈장 estradiol-17 β peak 후 1일인 Day 1부터 Day 6까지 6일간이었다. 이 결과는 혈장 estradiol-17 β peak 후 3~6일에 질세포의 각화 정도가 최고를 이룬다는 보고(Linde와 Karlsson, 1984)와 유사한 결과를 나타내었다. 또한 80% 이상으로 증가한 날로부터 6일 후, 90% 이상으로 증가한 날로부터 3일 후인 Day 0에 혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 증가하여 질상피 세포의 각화가 80% 이상인 날로부터 6.9일 후에 배란이 일어난다는 보고(Christiansen, 1984)와도 유사한 결과를 나타내었다.

이상의 결과를 종합하면, 비글개에 있어서 혈장 progesterone 농도와 질상피 세포상의 변화를 바탕으로 배란시기를 추정한 결과, CI가 90% 이상으로 증가한 후 2일에 배란이 일어나며 이때 혈장 progesterone 농도는 처음으로 4.0 ng/ml 이상으로 증가하였다. CI peak 후 CI가 90% 이상으로 지속되는 기간을 최상의 교배 적기로 예상할 수 있으며 이때 혈장 progesterone 농도는 2~25 ng/ml 이었다. 혈장 progesterone 농도를 측정하여 배란시기와 교배적기를 정확히 판정할 수 있으며, 질세포 검사 역시 검사 방법이 간단하고 비용이 저렴하여 배란시기 및 교배 적기 판정에 유용하게 사용할 수 있는 방법임을 확인하였다.

적 요

비글개 6두에서 11회(임신견 7두, 비 임신견 4두)의 발정 주기 및 임신 기간 동안 질 상피 세포 검사 및 혈장 progesterone과 estradiol-17 β 농도를 측정하여 질 상피 세포상과 번식 호르몬의 관계를 조사하고 배란 및 교배 적기 판정을 위한 기초 자료를 제공하고자 본 실험을 실시하였다.

임신 예와 비 임신 예에 있어서 발정 전기, 발정기 및 발정 휴지기의 기간은 각각 8.5 \pm 1.4(Mean \pm SD),

10.0 \pm 1.4 및 54.0 \pm 2.8 그리고 7.9 \pm 2.1, 9.5 \pm 0.7 및 62.0 \pm 11.3일이었다. 임신 예에 비해 비 임신견의 발정 휴지기가 길었으며, 발정 주기 사이의 간격은 임신 예가 246.2 \pm 24.5일, 비 임신 예는 175.3 \pm 34.5 일을 나타내어 임신이 되었던 예가 임신이 되지 않았던 예보다 길었다.

발정 주기별 질 상피 세포상의 변화를 보면 발정 전기와 발정기에는 superficial cell, anuclear cell 및 적혈구가, 발정 휴지기에는 parabasal cell, small intermediate cell, large intermediate cell 및 백혈구가, 그리고 무발정기에는 parabasal cell과 small intermediate cell이 주종을 이루었다. Cornification index(CI)는 발정 전기와 발정기에 유의하게 높았다.

발정 주기 중 혈장 progesterone과 estradiol-17 β 의 농도 사이의 관계를 혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 상승한 날을 기준(Day 0)으로 살펴보면, 혈장 progesterone 농도는 발정 출혈 개시 일에 1.0 ng/ml 이하였으나 Day -2에 2.0 ng/ml 이상으로 상승하였으며, 혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 상승한 날은 최초 교배 허용 후 2일이었다. Day 20일 경에 임신 예 및 비임신 예 모두 40 ng/ml 이상으로 최고치를 나타내었으며 Day 35일까지 임신 예와 비 임신 예 사이에 차이가 인정되지 않았으나 이후 임신 예가 비 임신 예에 비해 높게 유지된 기간이 길었다. 혈장 estradiol-17 β 농도는 발정 출혈 개시 일에 9 pg/ml 이상을 나타냈으며 이후 급증하여 Day -2에 26.4 pg/ml로 peak를 나타내었다.

CI와 혈장 progesterone 및 estradiol-17 β 농도 사이의 관계를 살펴보면, 혈장 estradiol-17 β 농도는 최초 교배 허용 일(Day 0)에 peak를 나타냈고 혈장 progesterone 농도는 Day 2에 4.0 ng/ml 이상으로 처음 상승하였다. CI는 혈장 estradiol-17 β peak 이후 1일(Day 1)에 최고치를 나타냈으며 80% 및 90% 이상으로 증가한 날은 각각 Day -1 및 Day 1 이었다. CI가 80% 및 90% 이상을 지속한 기간은 각각 Day -1에서 Day 8(10일간) 및 Day 1에서 Day 6(6일간)이었다. CI가 최고치를 나타낸 후 1일(Day 2)에 혈장 progesterone 농도가 4.0 ng/ml 이상으로 처음 증가하였다.

결과를 종합하면 본 연구에서 비글개의 배란은

혈장 estradiol-17 β peak 이후 3일 및 혈장 progesterone 농도가 4.0 ng/ml 이상으로 처음 상승한 날에 일어나며, 교배 적기는 CI가 90% 이상으로 증가한 후 2일 이후와 혈장 progesterone 농도가 2~25 ng/ml인 시기로 생각된다.

참고문헌

- Allen WE. 1992. Fertility and Obstetrics in the Dog. 1st ed., Blackwell Scientific Publications, Cambridge, pp. 90-113.
- Badinand F, Fontbonne A, Maurel MC and Siliart B. 1993. Fertilization time in the bitch in relation to plasma concentration of oestradiol, progesterone and luteinizing hormone and vaginal smears. J. Reprod. Fertil. (Suppl.), 47:63-67.
- Bell ET and Christie DW. 1971. Erythrocytes and leucocytes in the vaginal smears of the beagle bitch. Vet. Rec., 88:546-549.
- Bell ET, Bailey JB and Christie DW. 1973. Studies on vaginal cytology during the canine oestrous cycle. Res. Vet. Sci., 14:173-179.
- Bell ET, Christie DW and Younglai EV. 1971. Plasma oestrogen levels during the canine oestrous cycle. J. Endocrinol., 51:225-226.
- 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.
- Boyd JS, Renton JP, Harvey MJA, Nickson DA, Eckersall PD and Ferguson JM. 1993. Problems associated with ultrasonography of the canine ovary around the time of ovulation. J. Reprod. Fertil. (Suppl.), 47:101-105.
- Christiansen IJ. 1984. Reproduction in the Dog and Cat, 1st ed., Bailliere Tindall, London, pp. 41-54.
- Concannon P, Whaley S, Lein D and Wissler R. 1983. Canine gestation length: Variation related to time of mating and fertile life of sperm. Am. J. Vet. Res., 44:1819-1821.
- Concannon PW and Lein DH. 1989. Current Veterinary Therapy. 10th ed., Saunders, Philadelphia, pp. 1269-1282.
- Concannon PW, Hansel W and McEntee K. 1977. Change in LH, progesterone and sexual behavior associated with preovulatory luteinization in the bitch. Biol. Reprod., 17:604-613.
- Concannon PW, McCann JP and Temple M. 1989. Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. J. Reprod. Fertil. (Suppl.), 39:3-25.
- Dietrich E and Möller R. 1993. Use of a progesterone enzymeimmunoassay to determine the optimal mating time in oestrous bitches. J. Reprod. Fertil. (Suppl.), 47:524.
- Dore MA. 1978. The role of the vaginal smear in detection of metestrus and anestrus in the bitch. J. Small Anim. Pract., 19:561-572.
- England GCW and Allen WE. 1989. Real-time ultrasonic imaging of the canine ovary and uterus. J. Reprod. Fertil. (Suppl.), 39:91-100.
- England GCW and Yeager AE. 1993. Ultrasonographic appearance of the ovary and uterus of the bitch during oestrus, ovulation and early pregnancy. J. Reprod. Fertil. (Suppl.), 47:107-117.
- England GCW. 1992. Vaginal cytology and cervicovaginal mucous arborisation in the breeding management of bitches. J. Small Anim. Pract., 33:577-582.
- Fayrer-Hosken R, Caudle A, Downs M and Miller-Liebl D. 1994. Evaluating the infertile breeding bitch. Vet. Med., 1026-1038.
- Feldman EC and Nelson RW. 1987. Canine and Feline Endocrinology and Reproduction, 1st ed., Saunders, Philadelphia, pp. 413-417.
- Feldman EC and Nelson RW. 1996. Canine and Feline Theriogenology. 1st ed., Saunders, Philadelphia, pp. 526-546.
- Guyant L. 1988. Canine vaginal cytology. Vet. Tech., 9:513-520.
- Hayer P, Günzel-Apel AR, Lüerssen D and Hoppen

- HO. 1993. Ultrasonographic monitoring of follicular development, ovulation and the early luteal phase in the bitch. *J. Reprod. Fertil. (Suppl.)*, 47:93-100.
- Holst PA. 1986. *Current Therapy in Theriogenology*, 2nd ed., Saunders, Philadelphia, pp. 457-462.
- 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.
- Linde-Forsberg C and Forsberg M. 1989. Fertility in dogs in relation to semen quality and the time and site of insemination with fresh and frozen semen. *J. Reprod. Fertil. (Suppl.)*, 39:299-310.
- Mestre J, Wanke M and Sucheyre S. 1990. Exfoliate vaginal cytology and plasma concentrations of progesterone, luteinizing hormone and oestradiol-17 β during oestrus in the bitch. *J. Small Anim. Pract.*, 31:568-570.
- Okkens AC, Hekerman TWM, De Vogel JWA and van Haaften B. 1993. Influence of litter size and breed on variation in length of gestation in the dog. *Vet. Quart.*, 13:160-161.
- Post K, Cook SJ and Rawlings NC. 1990. The evaluation of an enzymeimmunoassay for the assessment of progesterone in canine plasma. *Can. Vet. J.*, 31:708-709.
- Post K. 1985. Canine vaginal cytology during the estrous cycle. *Can. Vet. J.*, 26:101-104.
- 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. I. Technique and cytological morphology. *J. Small Anim. Pract.*, 8:301-306.
- Schutte AP. 1967b. Canine vaginal cytology. II. Cyclic changes. *J. Small Anim. Pract.*, 8:307-311.
- Silva LDM, Onclin K and Verstegen JP. 1995. Cervical opening in relation to progesterone and oestradiol during heat in beagle bitches. *J. Reprod. Fertil.*, 104:85-90.
- Tsutsui T. 1975. Studies on the physiology of reproduction in the dog. III. Observation of vaginal smear in estrous cycle. *Jpn. J. Anim. Reprod.*, 21:37-42.
- van Haaften B, Dieleman SJ, Okkens AC and Willemsse AH. 1989. Timing the mating of days on the basis of blood progesterone concentration. *Vet. Rec.*, 125:524-526.
- Wallace SS, Mahaffey MB, Miller DM, Thompson FN and Chakraborty PK. 1992. Ultrasonographic appearance of the ovaries of dogs during the follicular and luteal phases of the estrous cycle. *Am. J. Vet. Res.*, 53:209-215.
- Wright PJ. 1991. Practical aspects of the estimation of the time of ovulation and of insemination in the bitch. *Aust. Vet. J.*, 68:10-13.
- 손창호, 김정훈, 정경아, 강현구, 오기석, 박인철, 박상국, 한호재. 2000. 진돗개에서 발정주기 동안 질세포상과 번식호르몬의 관계. *한국임상수의학회지*, 17:225-233.
- 손창호, 백인석, 신창록, 최한선, 강병규. 1997. 진돗개에서 발정주기, 교배적기 및 배란시기 판정을 위한 질세포검사의 이용성. *한국임상수의학회지*, 13:114-122.

(접수일: 2006. 6. 5 / 채택일 : 2006. 6. 16)