

Miniature Schnauzer 견에서 혈중 Estradiol-17 β 와 Progesterone 농도 측정에 의한 배란시기 추정

김정배 · 김방실 · 문병권 · 윤창진 · 박철호, 문진산* · 서국현 · 오기석 · 손창호¹
전남대학교 수의과대학, *국립수의과학 검역원

(게재승인: 2008년 4월 1일)

Estimating the Ovulation Time Based on Plasma Estradiol-17 β and Progesterone Concentrations in Miniature Schnauzer Dogs

Jeong-Bae Kim, Bang-Sil Kim, Byeong-Gwon Mun, Chang-Jin Yun, Chul-Ho Park, Jin-San Moon*,
Guk-Hyun Suh, Ki-Seok Oh and Chang-Ho Son¹

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

*National Veterinary Research and Quarantine Service, Anyang 430-824, Korea

Abstract : For estimating the ovulation time in Miniature Schnauzer dogs during the estrous cycle, radioimmunoassay of plasma estradiol-17 β and progesterone concentrations was conducted on blood samples in 21 pregnant and 13 non pregnant dogs. When Day 0 was that plasma progesterone concentrations exceeded 4.0 ng/ml, on Day 64, parturition day, progesterone declined below 1.0 ng/ml with 0.92 ± 0.29 ng/ml and when Day 0 was that plasma progesterone concentrations declined below 1.0 ng/ml, on Day -64, progesterone increased above 4.0 ng/ml with 4.56 ± 0.87 ng/ml. Gestational length was 63.71 ± 1.35 (Mean \pm S.D.) days from plasma progesterone concentrations exceeded 4.0 ng/ml and was 66.29 ± 1.98 days from first male acceptance. The plasma estradiol-17 β concentrations reached maximum value with 28.20 ± 2.86 pg/ml on Day -2, and plasma progesterone concentrations reached 5.90 ± 0.36 ng/ml, 5.18 ± 0.32 ng/ml on Day 0, and the maximum of 61.58 ± 10.47 ng/ml on Day 19 and 56.05 ± 8.86 ng/ml on Day 16 in pregnant and non pregnant dogs, respectively. Afterward, plasma progesterone concentrations declined below 1.0 ng/ml on Day 64 with 0.92 ± 0.29 ng/ml in pregnant cycles and on Day 58 with 0.95 ± 0.63 ng/ml in non pregnant dogs. No difference were found pregnant and non pregnant dogs in plasma estradiol-17 β and progesterone concentrations ($p > 0.01$). Based on first male acceptance (Day 0), the maximum of plasma estradiol-17 β concentrations (29.31 ± 3.61 pg/ml) occurred on Day -1 and plasma progesterone concentrations exceeded 4.0 ng/ml on Day 2 in pregnant (5.37 ± 0.76 ng/ml) and non pregnant (4.25 ± 0.80 ng/ml) dogs. These results suggest that in Miniature Schnauzers, the ovulation occurred when plasma progesterone concentrations exceeded 4.0 ng/ml, 3 days after plasma estradiol-17 β peak and 2 days after first male acceptance.

Key words : Miniature Schnauzer dogs, ovulation time, estradiol-17 β , progesterone

서 론

개는 단발정 동물로 자연 배란되고, 다른 동물에 비해 발정 주기가 길며 발정전기, 발정기, 발정후기, 무발정기로 나누어진다.

발정전기는 난포가 성장하는 시기로 혈장 estrogen 농도가 증가하는 것이 특징이고 난포가 성장하기 시작하여, 성숙된 난포는 estrogen을 합성하고 분비시킨다(9). 증가한 혈장 estrogen 농도는 발정전기의 증상을 나타나게 하고 수컷을 허용하기 전까지 증가한다. 발정전기에 혈중 progesterone 농도

는 기저치를 유지하다가 발정전기의 후반부에 증가하기 시작하며 이는 혈중 progesterone 농도가 배란 전 난포의 황체화와 관련이 있다는 것을 의미한다(4).

발정기는 수컷을 허용하는 기간으로 혈중 estrogen 농도가 감소하고 혈중 progesterone 농도가 증가하기 시작한다. 혈중 estrogen 농도의 감소는 발정기가 시작하는 시기에 일어나고 배란을 유발하는 luteinizing hormone (LH) surge와 관련이 있으며(7), 혈중 progesterone 농도는 LH surge를 기점으로 그 전까지 점차적으로 증가하다가 이후부터 급격한 증가를 나타낸다. 개에서 LH surge는 배란 전 48시간 이내에 이루어지며(23), 배란은 교배를 허용하는 행동과 관련이 있는 것이 아니며, 견종에 따라 다르게 나타날 수 있다(21).

¹Corresponding author.
E-mail : chson@chonnam.ac.kr

발정후기에는 황체의 형성으로 증가된 혈장 progesterone 농도가 지속적으로 유지되고, 황체의 기능은 임신유무에 영향을 미치지 않으며, 임신기와 비임신기의 혈장 progesterone 분비양상이 비교적 유사하다(6). 따라서 일부 비임신견들은 progesterone 농도에 의하여 “생리적 위임신(physiologic pseudopregnancy)” 나타나는데, 이는 난소와 뇌하수체의 기능이 정상임을 의미한다(10).

무발정기는 발정주기의 마지막 과정으로 황체퇴행으로 인해 혈장 progesterone 농도가 기저치(1-2 ng/ml)이하로 감소하며, 황체퇴행의 임상증상이 없기 때문에 비임신견에서는 무발정기의 시작을 규정하기 어려우나 Concannon과 Lein(5)은 혈장 progesterone 농도가 1.0 ng/ml이하로 감소할 때를 무발정기의 시작이라 하였다. 무발정기의 기간은 발정주기의 간격에 영향을 미치며, 견종에 따라 발정주기가 각각 다양하다.

또한 개의 발정주기는 다른 동물에 비해 독특하기 때문에 개에서 성공적인 번식관리를 위해서는 이에 대한 완벽한 숙지가 필요하며, 특히 배란시기를 판정하는 것이 매우 중요하다. Wright(24)는 개에서 배란시기와 교배적기를 판정하기 위해 검사방법의 실용성과 정확성, 암컷 생식기 내에서 정자의 수정가능시간 그리고 유효한 수정이나 교배의 횟수를 확인해야 하고, 이를 위해서는 번식호르몬이 고려되어야 한다고 하였다. 이러한 방법은 수태율을 증가시키고 번식관리에 적용될 뿐만 아니라 불임의 관리와 진단, 연구 그리고 수정란 이식에도 적용시킬 수 있다고 Bouchard 등(2)이 지적한 바 있다. 한편 Johnston 등(13)에 따르면 임신견에서 나타나는 내분비학적인 변화가 주로 비글견에서 보고 되어져 왔으며, 다른 견종과 내분비학적인 차이가 나타나지는 않았으나 많은 견종에 이를 적용할 수 없다고 하였다.

따라서 본 연구는 아직 보고된 바 없는 Miniature Schnauzer 견을 대상으로 발정주기 동안 혈중 estradiol-17 β 와 progesterone의 농도 변화와 이들의 상관관계 및 임신견과 비임신견을 비교하여 발정주기별 번식호르몬의 특징, 교배시기 및 배란시기의 판정 등에 활용하고자 수행되었다.

재료 및 방법

대상동물

건강한 Miniature Schnauzer 17두를 대상으로 하였으며 총 34회의 발정주기를 가졌고 이 중 21회의 임신(초산 8회, 경산 13회)과 13회의 비임신을 나타냈다. 실험견들은 적어도 2회 이상의 발정주기를 거친 개를 대상으로 하였으며 교배는 동종의 수컷 3두를 이용하였다. 실험견들의 체중은 4.9-7.9 Kg, 연령은 2-7세로 실내에서 사육되었으며, 일반적인 관행으로 사료는 제한급여, 물은 자유음수토록 하였다.

발정출혈확인

발정출혈 개시 예정 2개월 전부터 매일 발정출혈 및 외음부 종대여부를 관찰하였으며, 발정출혈 개시일부터 발정이 종료될 때까지 매일 2회 출혈색, 출혈량 및 점도와 교배 허용여부

를 관찰하였다. 최초 교배 허용 후 1~2일에 동일 종의 수캐와 2일 간격으로 2~3회 자연교배를 실시하였다.

발정주기의 구분

임상적 증상의 관찰에 의한 발정주기의 구분은 김 등(1) 및 Concannon과 Lein(5)의 기술에 준하여 실시하였다. 발정전기는 발정출혈 개시일부터 최초 교배허용전날까지, 발정기는 최초 교배허용일부터 최후 교배허용일까지, 발정후기는 최초 허용거부일부터 임신견의 경우 분만일까지, 비임신견의 경우 혈장 progesterone 농도가 1.0 ng/ml 이하로 하강할 때로 하였으며, 그 이후부터 다음 발정출혈 개시 전날까지를 무발정기로 구분하였다.

혈장 progesterone과 estradiol-17 β 농도측정

채혈 : 발정출혈 개시일부터 최초 교배허용 후 20일까지는 매일, 임신견의 경우 최초 교배허용 후 21일부터 분만예정 6일 전까지는 3일 간격으로, 분만예정 6일전부터 분만 후 10일까지는 매일 그리고 분만 후 11일부터 다음 발정출혈 개시일까지는 2주에 1회씩 먹이를 주기 전 아침에 채혈하였으며, 비임신견의 경우 교배 후 21일부터 progesterone 농도가 1.0 ng/ml 이하일 때, 즉 교배 후 약 80일째까지는 3일 간격으로, 이후부터 다음 발정출혈 개시일까지는 2주에 1회씩 채혈하였다. 채혈 후 EDTA병에 채취한 혈액은 4°C에서 3000 g로 10분 동안 원심 분리하여 혈장을 분리한 후 혈장 estradiol-17 β 와 progesterone의 농도를 측정할 때까지 -20°C에 냉동보관하였다.

혈장 progesterone 농도 분석 : 혈장 progesterone 농도측정은 김 등(1)의 기술에 준하여 progesterone kit (Progesterone Coat-A-count, Diagnostic Products Corporation, USA)을 사용하여, 추출하지 않은 100 μ l 의 혈장을 duplicate로 하여 Gamma counter (EG & G Wallace, Finland)로 측정하였다. 즉 progesterone 항체가 부착된 각각의 시험관에 표준액, quality control 또는 시료를 100 μ l 씩 분주한 다음 label hormone (¹²⁵I-progesterone) 1 μ l를 각각 넣어 실온에서 3시간 동안 incubation하였다. Incubation 후 결합하지 않은 부분을 제거한 다음 Gamma counter로 측정하였다. 변이계수(coefficients of variation)인 intra-assay는 5.1%, inter-assay는 8.2% 이었다.

혈장 estradiol-17 β 농도 분석 : Estradiol-17 β kit (Estradiol Coat-A-count, Diagnostic Products Corporation, USA)를 이용하여 progesterone 분석과 같은 방법으로 Gamma counter (EG & G Wallace, Finland)로 측정하였다. 변이계수인 intra-assay는 8.9%, inter-assay는 12.1% 이었다.

통계처리

각 발정주기의 길이와 발정주기의 간격은 Mean \pm S.D., 각 주기별 progesterone 및 estradiol-17 β 농도는 Mean \pm S.E.M.으로 산출하였다. 그리고 임신, 비임신 그룹간 혈장 estradiol-17 β 와 progesterone 농도의 비교는 student's *t-test*를 이용하여 유의성을 검토하였다.

결 과

혈장 progesterone 농도측정에 의한 배란시기의 판정

임신견 21두에서 발정출혈 개시 후 혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 상승한 날을 기준(Day 0)으로 한 혈장 progesterone 농도는 Table 1에 나타낸 결과와 같다. Day 60에 혈장 progesterone 농도는 3.86 \pm 0.69 ng/ml이었다. 분만일인 Day 64에 0.92 \pm 0.29 ng/ml로 최초로 혈장 progesterone 농도가 1.0 ng/ml 이하를 나타내었고 그 이후에는 1.0 ng/ml 이하로 지속되었다.

분만일을 기준(Day 0)으로 한 발정기 전후의 혈장 progesterone 농도 변화는 Table 2에 나타낸 바와 같이 Day -66에 1.63 \pm 0.32 ng/ml, Day -64에 4.56 \pm 0.87 ng/ml, Day -62에 11.15 \pm 1.92 ng/ml로 분만 전 64일에 혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 증가하였다.

각 기준일에 따른 임신기간

임신견의 21두에서 각 기준일에 따른 임신기간은 혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 증가한 날을 기준으로 63.71 \pm 1.35일(범위 61~66), 첫 교배 허용일을 기준으로 66.29 \pm 1.98 일(64~72) 이었다.

Table 1. Plasma progesterone concentrations during the periparturition period in pregnant 21 Miniature Schnauzer dogs. Day 0 is the day of progesterone concentrations exceeded 4.0 ng/ml.

| Day | Progesterone concentrations (ng/ml) | |
|-----|-------------------------------------|-----------|
| | Mean \pm S.E.M | Range |
| 60 | 3.86 \pm 0.69 | 1.22~7.72 |
| 61 | 2.90 \pm 0.70 | 0.97~6.98 |
| 62 | 2.12 \pm 0.51 | 0.86~4.43 |
| 63 | 1.22 \pm 0.32 | 0.70~4.40 |
| 64 | 0.92 \pm 0.29 | 0.45~2.94 |
| 65 | 0.62 \pm 0.29 | 0.02~1.85 |
| 66 | 0.35 \pm 0.05 | 0.01~0.68 |

Table 2. Plasma progesterone concentrations from Day -66 to Day -60 before parturition in pregnant 21 Miniature Schnauzer dogs. Day 0 is the parturition day.

| Day | Progesterone concentrations (ng/ml) | |
|-----|-------------------------------------|-------------|
| | Mean \pm S.E.M | Range |
| -66 | 1.63 \pm 0.32 | 0.52~5.18 |
| -65 | 2.54 \pm 0.47 | 0.76~6.76 |
| -64 | 4.56 \pm 0.87 | 2.26~7.54 |
| -63 | 6.91 \pm 1.35 | 4.041~11.14 |
| -62 | 11.15 \pm 1.92 | 4.702~5.94 |
| -61 | 14.56 \pm 2.62 | 5.873~3.54 |
| -60 | 22.67 \pm 4.18 | 7.474~6.53 |

발정주기 중 혈장 estradiol-17 β 와 progesterone 농도변화

혈장 estradiol-17 β 농도변화 : 혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 상승한 날을 기준(Day 0)으로 하여 발정주기 중 혈장 estradiol-17 β 농도변화는 Fig 1와 같이 발정전기 개시일부터 기저치 이상으로 상승하여 Day -8에는 13.43 \pm 2.91 pg/ml, Day -5에는 19.52 \pm 2.61 pg/ml로 증가하여 Day -2에 28.20 \pm 2.86 pg/ml로 최고치를 나타내었다. 이후 Day 0에는 19.96 \pm 2.78 pg/ml, Day 3에는 10.55 \pm 1.93 pg/ml로 급격히 감소하였으며, Day 10에는 1.34 \pm 0.58 pg/ml로 이후 기저치 이하로 지속되었다. 특히 혈장 estradiol-17 β 의 농도는 발정전기에 유의성 있게 높았으며 발정전기의 초기보다 후기에 높았다($p < 0.01$).

혈장 progesterone 농도 변화 : 혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 상승한 날을 기준(Day 0)으로 하여 임신견 21두와 비임신견 13두에서 발정전기부터 다음 발정전기까지 모든 발정주기 동안 혈장 progesterone 농도 변화는 Fig 1에 나타낸 바와 같다.

임신견과 비임신견의 혈장 progesterone의 농도는 Day -13에 각각 0.22 \pm 0.08 ng/ml, 0.64 \pm 0.21 ng/ml, Day -4에 0.94 \pm 0.09 ng/ml, 0.98 \pm 0.18 ng/ml, Day -1에는 3.18 \pm 0.17 ng/ml, 2.84 \pm 0.22 ng/ml로 증가하였다. Day 0에는 5.90 \pm 0.36 ng/ml, 5.18 \pm 0.32 ng/ml로 혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 상승하였다. 이후 지속적으로 상승하여, 임신견의 경우에는 Day 19에 61.58 \pm 10.47 ng/ml로 최고치를 나타내었고, 비임신견에서는 Day 16에 56.05 \pm 8.86 ng/ml로 최고치를 나타내어 비임신견과 임신견 사이에 유의성 있는 차이가 없었다($p > 0.01$). 이후 Day 35에 임신견과 비임신견에서 각각 22.52 \pm 4.01 ng/ml, 13.39 \pm 8.39 ng/ml로 감소하였고, Day 47에는 8.49 \pm 2.67 ng/ml, 5.01 \pm 0.57 ng/ml를 나타내어 혈장 progesterone 농도의 최고치를 지난 후에는 임신견의 혈장 progesterone의 농도가 비임신견보다 더 높게 유지되었다. Day 58에 임신견의 경우 5.35 \pm 0.84 ng/ml로 점차적으로 감소를 하여 분만 하루 전인 Day 63에는 1.39 \pm 0.37 ng/ml로 급격히 감소하였다. 분만일인 Day 64에는 0.92 \pm 0.29 ng/ml로서 1.0 ng/ml 이하로 감소하였다. 한편 비임신견의 경우 Day 58에 0.95 \pm 0.63 ng/ml, 이후에는 1.0 ng/ml 이하로 감소하였으며 임신견과 비임신견 모두 무발정기 동안 혈장 progesterone 농도는 1.0 ng/ml 이하로 낮게 지속되었다.

발정기간 중 혈장 estradiol-17 β 및 progesterone 농도변화

임신 21회와 비임신 13회에서 최초 교배허용일(Day 0)을 기준으로 최초 교배 허용 전 9일(Day -9)부터 교배허용 후 20일(Day 20)까지 혈장 estradiol-17 β 와 progesterone 농도의 변화는 Fig 2에 나타낸 바와 같다.

혈장 estradiol-17 β 농도 : 혈장 estradiol-17 β 농도는 Fig. 2와 같이 임신과 비임신의 유의성 있는 차이는 없었기 때문에 ($p > 0.01$) 임신견과 비임신견을 비교하지 않았다.

발정출혈 개시일에 혈장 estradiol-17 β 농도는 2.44 \pm 0.90 pg/ml

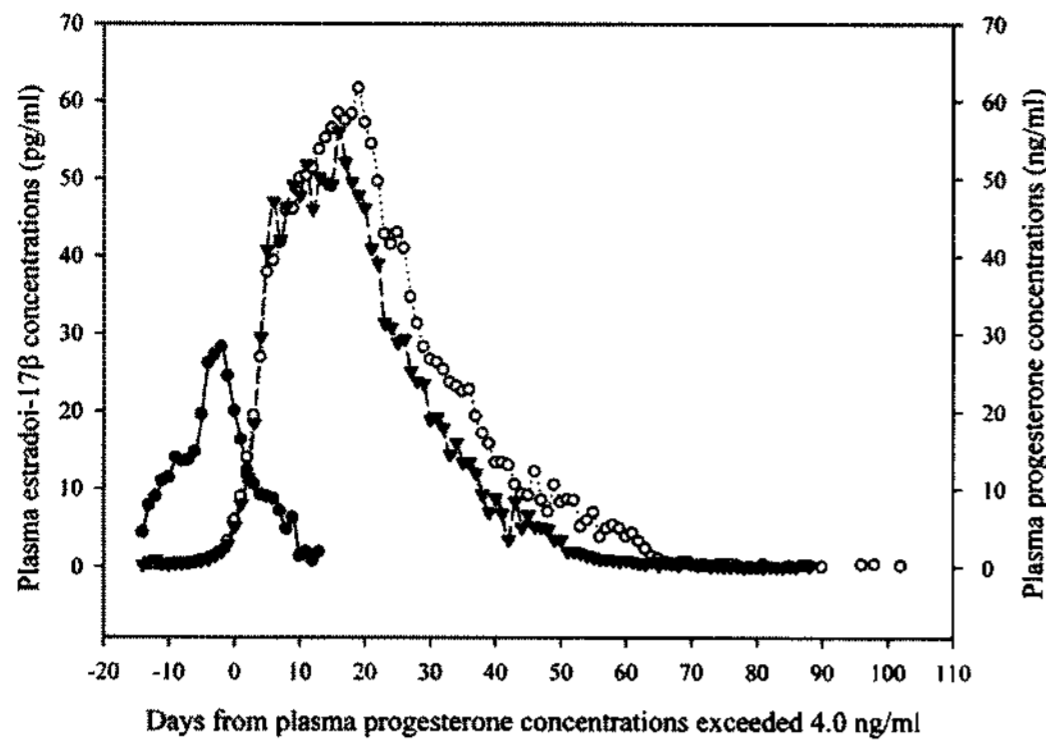


Fig 1. Plasma estradiol-17β (●) and progesterone concentrations in pregnant (○) and non pregnant (▼) Miniature Schnauzer dogs during the estrous cycles. Day 0 is the day of progesterone concentrations exceeded 4.0 ng/ml.

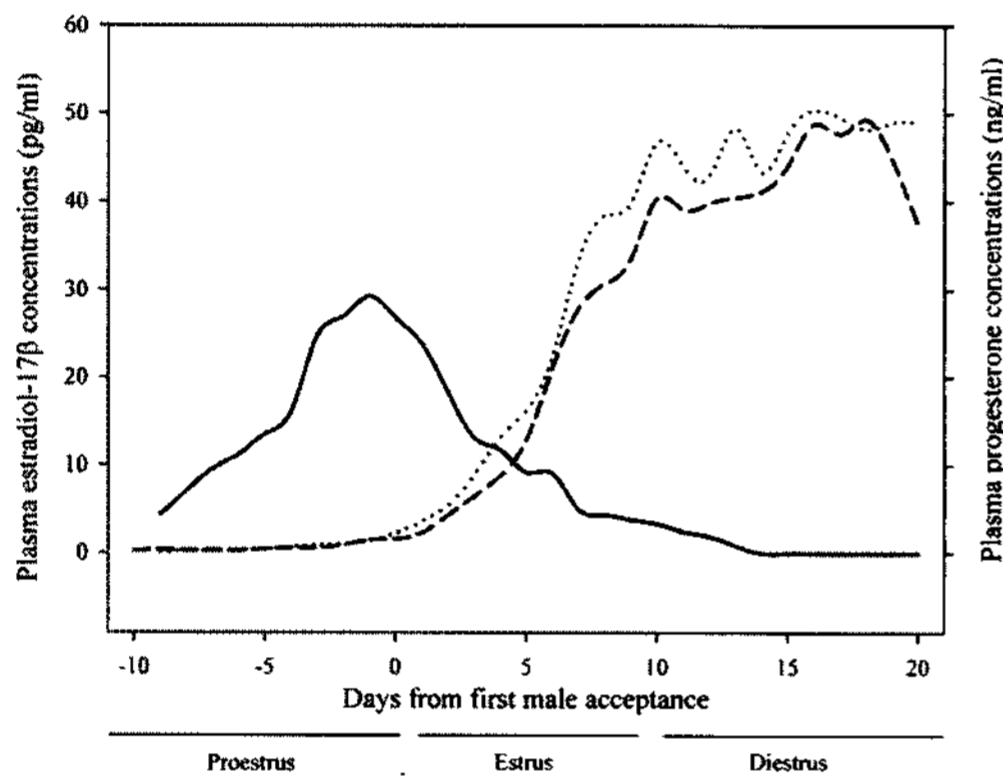


Fig 2. Plasma estradiol-17β (—) and progesterone concentrations in pregnant (---) and non pregnant (—) of Miniature Schnauzer dogs during proestrus and estrus.

이였으며, 이후 급격히 증가하여 최초 교배허용 하루 전(Day -1)에 29.31 ± 3.61 pg/ml로 최고치를 나타내었다. 최초 교배허용일에 26.84 ± 2.42 pg/ml, 최초 교배일에 23.87 ± 4.13 pg/ml, 최후 교배 허용일에는 1.90 ± 0.85 pg/ml로 지속적으로 감소하여 이후 기저치 이하를 나타내었다.

혈장 progesterone 농도 : 발정출혈 개시일에 혈장 progesterone 농도는 임신견과 비임신견에서 각각 0.27 ± 0.06 ng/ml, 0.18 ± 0.03 ng/ml이였으며, 최초 교배 허용일에는 2.18 ± 0.46 ng/ml, 1.61 ± 0.27 ng/ml 이었다. 첫 교배일에 임신견과 비임신견에서 각각 5.37 ± 0.76 ng/ml, 4.25 ± 0.80 ng/ml로 임신견, 비임신견 모두에서 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 증가 하였으며, 유의성 있는 차이는 나타나지 않았다($p > 0.01$). 이후 급격하게 증가하여 최후 교배 허용일에는 각각 41.72 ± 5.86 ng/ml, 36.07 ± 4.71 ng/ml를 나타내었다.

고 찰

본 연구는 우리나라에서 많이 키우는 애견인 Miniature Schnauzer견을 대상으로 발정주기 동안 나타나는 번식호르몬인 estradiol-17β와 progesterone을 임신견과 비임신견에서 비교, 분석하였다.

혈중 progesterone 농도측정에 의한 배란시기의 판정은 보고자에 따라 약간의 차이는 있으나, Bouchard 등(2)은 혈장 progesterone 농도가 3.4~6.6 ng/ml 이상으로 증가할 때가 배란시기라고 하였고, Wallace 등(22)은 혈장 progesterone 농도가 4.0 ng/ml 이상일 때 배란이 일어난다고 하였으며, 일반적으로 2.5~12.0 ng/ml일 때를 배란시기라고 판정하고 있다(2,5,15,24). 또한 Hase 등(11)은 LH surge를 기준으로 혈장 progesterone의 농도가 2 ng/ml 이상으로 증가한 날을 배란일이라고 하였다. 그러나 de Gier 등(8)은 LH surge발생 후에도 혈중 progesterone 농도가 3-4일 동안 비슷하게 나타나 LH surge와 배란일에 차이가 다양하다고 하였으며, Wildt 등(23)은 배란은 LH surge 후 96시간 이후에도 발생할 수 있으므로 배란시기 판정 시 배란 전 LH surge측정이 완벽한 신뢰성을 갖지 못한다고 하였다. LH surge는 배란 전 일과성 분비양상을 나타내어 혈중 LH surge를 측정하기 위해서는 1일 2회 이상 채혈을 해야 한다는 번거로움이 있는(2) 반면, 혈중 progesterone 농도는 LH surge 전후로 천천히 증가하기 때문에 배란시기의 판정이 LH 농도측정보다 progesterone 농도측정이 더 유용하다(13).

본 연구는 Table 1에서 보는 바와 같이 임신견에서 혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 상승한 날을 배란일로 추정했을 때 분만은 배란 후 64일에 일어났고, 이때의 혈장 progesterone 농도는 0.92 ± 0.29 ng/ml를 나타내었다. 이는 배란일을 기준으로 분만은 배란 후 63일에 일어났다는 Johnston 등(13)과 유사한 결과를 보였다. 또한 Table 2에서와 같이 분만일을 기준(Day 0)으로 한 경우 Day -64에 4.56 ± 0.87 ng/ml로 배란은 분만 전 64일에 일어났다는 보고(5)와도 유사한 결과를 보였다. 이는 혈중 progesterone 농도 측정으로 분만일을 예시할 수 있다고 한 Kutzler 등(14)의 지적을 뒷받침해주는 결과라고 생각된다. 따라서 Miniature Schnauzer견에서 혈장 progesterone 농도에 의한 배란시기는 혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 상승한 날에 일어난 것으로 추정되었다.

한편, 개의 임신기간이 기준일에 따라 매우 다양하여 교배일을 기준으로 한 경우 57~72일(4), LH surge기준으로 한 경우 64~66일(6), 배란일을 기준으로 한 경우 62~64일(15,20)이라 하였다. 본 연구에서는 Miniature Schnauzer견의 임신기간은 최초교배허용을 기준으로 66.29 ± 1.98 (64~72)일 이었으며, 배란일을 기준으로 63.71 ± 1.35 (61~66)일로 위의 보고와 유사한 결과를 나타내었다.

Miniature Schnauzer 견의 발정주기 중 혈장 estradiol-17 β 와 progesterone 농도변화에서 혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 상승한 날을 기준(Day 0)으로 Fig 1과 같이 estradiol-17 β 농도는 배란 2일전(Day -2)에 28.20 ± 2.86 pg/ml 로 최고치를 나타내었다. 이후 배란일인 Day 0에는 19.96 ± 2.78 pg/ml, Day 10에는 1.34 ± 0.58 pg/ml로 이후 기저치 이하로 지속되었으며 임신견과 비임신견에서는 유의성 있는 차이가 없었다($p > 0.01$). 이는 혈장 estradiol-17 β 의 농도가 임신견과 비임신견 모두에서 발정전기의 후반부에 최고치를 이루다가 발정기말에 기저치를 나타냈다는 Onclin 등(16)의 보고와 유사하였다. 또한 혈장 progesterone 농도변화는 임신견, 비임신견에서 각각 Day 0에는 5.90 ± 0.36 ng/ml, 5.18 ± 0.32 ng/ml로 혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 상승하였으며, 임신견의 경우에는 Day 19에 61.58 ± 10.47 ng/ml로 최고치를 나타내었고, 비임신견에서는 Day 16에 56.05 ± 8.86 ng/ml로 최고치를 나타내어 비임신견과 임신견의 유의성 있는 차이는 나타나지 않았다($p > 0.01$). 이후 임신견의 경우, 분만일인 Day 64에는 0.92 ± 0.29 ng/ml, 비임신견의 경우 Day 58에 0.95 ± 0.63 ng/ml로 혈장 progesterone 농도는 1.0 ng/ml 이하로 감소하여 임신견과 비임신견 모두 무발정기 동안 혈장 progesterone 농도는 1.0 ng/ml 이하로 낮게 지속되었다. 이는 혈중 progesterone 농도가 15~30일까지 증가하다가 30일 이후부터 감소하였다는 Concannon 등(3)과 유사한 결과를 보였다. 또한 임신견과 비임신견에서 유의성 있는 차이는 나타나지 않았으나 임신견의 혈장 progesterone 농도가 비임신견보다 높게 지속되어 기존의 보고(5,13)와 유사한 결과를 나타내었다. 또한 임신견과 비임신견에서 혈장 progesterone 농도가 1.0 ng/ml 이하로 감소되는 시기에 대해 Concannon 등(3)은 임신견은 61~65일, 비임신견은 51~82일이라 하였고, LH surge일을 기준으로 임신견은 65 ± 1 일, 비임신견은 50~120일이라 하였으며(5), 본 연구에서는 Miniature Schnauzer 견은 임신견은 64일, 비임신견은 58일로 위의 보고와 동일한 결과를 보였다.

최초 교배허용일(Day 0)을 기준으로 Fig 2와 같이 최초 교배 허용 전 9일(Day -9)부터 교배허용 후 20일(Day 20)까지 혈장 estradiol-17 β 와 progesterone의 농도의 변화를 살펴보면 혈장 estradiol-17 β 농도는 Day -1에 29.31 ± 3.61 pg/ml로 최고치를 나타내었으며, 혈장 progesterone 농도는 Day 2에 임신견과 비임신견에서 각각 5.37 ± 0.76 ng/ml, 4.25 ± 0.80 ng/ml로 임신견, 비임신견 모두에서 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 증가하였다. 이는 개에서 12주 동안 지속되는 발정전기에 estrogen의 분비가 최고치를 이루다가 발정기에는 estrogen의 분비가 감소하고 혈장 progesterone의 농도가 점차적으로 증가한다고 한 Concannon 등(3)과 유사한 결과를 나타내었다. 즉, 최초 교배허용 전 1일에 estradiol-17 β 농도가 최고치로 나타났고 최초 교배 허용 후 2일에 혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 증가하여

estradiol-17 β 최고치 후 3일에, 교배허용 후 2일에 배란이 일어난 것으로 사료된다. 이는 발정기 전 24~48시간 이내에 estradiol-17 β 의 농도가 최고치를 나타낸다고 한 Onclin 등(16)과 Rota 등(18)의 결과와 유사하였으며, 개의 배란시기는 estrogen peak 후 3~5일(12) 그리고 교배 허용 후 1~3일에 일어난다(2,17,19)는 보고와 유사한 결과를 나타내었다.

이상에서와 같이 Miniature Schnauzer 견에서 배란은 혈장 progesterone 농도가 4.0 ng/ml 이상으로 상승한 날에 일어났으며, 발정주기 중 estradiol-17 β 와 progesterone 농도는 임신견과 비임신견에서 유의성 있는 차이가 나타나지 않았다.

결 론

Miniature Schnauzer 견에서 임신견 21두와 비임신견 13두를 대상으로 혈장 estradiol-17 β 와 progesterone 농도를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

혈장 progesterone 농도가 최초 4.0 ng/ml 이상으로 상승한 날을 기준(Day 0)으로 분만일인 Day 64에 0.92 ± 0.29 ng/ml로 농도가 1.0 ng/ml 이하로 감소하였고, 분만일을 기준(Day 0)으로 한 경우 Day -64에 4.56 ± 0.87 ng/ml로 4.0 ng/ml 이상으로 상승하였다. 각 기준일에 따른 임신기간은 혈장 progesterone 농도가 최초 4.0 ng/ml 이상으로 상승한 날(Day 0)을 기준으로 63.71 ± 1.35 (61~66)일이고, 첫 교배허용일을 기준으로 66.29 ± 1.98 (64~72)일이었다.

혈장 progesterone 농도가 최초 4.0 ng/ml 이상으로 상승한 날을 기준(Day 0)으로 estradiol-17 β 농도는 배란 2일전(Day -2)에 28.20 ± 2.86 ng/ml로 최고치를 나타내었다. 혈장 progesterone 농도 변화는 임신견, 비임신견에서 각각 Day 0에는 5.90 ± 0.36 ng/ml, 5.18 ± 0.32 ng/ml로 혈장 progesterone 농도가 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 상승하였으며, 임신견의 경우에는 Day 19에 61.58 ± 10.47 ng/ml, 비임신견에서는 Day 16에 56.05 ± 8.86 ng/ml로 최고치를 나타내어 비임신견과 임신견의 유의성 있는 차이가 없었다($p > 0.01$). 이후 임신견의 경우, 분만일인 Day 64에는 0.92 ± 0.29 ng/ml, 비임신견의 경우 Day 58에 0.95 ± 0.63 ng/ml로 1.0 ng/ml 이하로 감소한 후 임신견과 비임신견 모두 무발정기 동안 혈장 progesterone 농도는 1.0 ng/ml 이하로 낮게 지속되었다.

발정기 전후인 최초 교배허용일(Day 0)을 기준으로 혈장 estradiol-17 β 농도는 최초 교배허용 하루 전(Day -1)에 29.31 ± 3.61 pg/ml로 최고치를 나타내었으며 혈장 progesterone 농도는 Day 2에 임신견과 비임신견에서 각각 5.37 ± 0.76 ng/ml, 4.25 ± 0.80 ng/ml로 최초로 4.0 ng/ml 이상으로 증가하였다.

이상의 결과를 종합하여 보면 Miniature Schnauzer 견에서 배란은 혈장 progesterone 농도가 4.0 ng/ml 이상으로 상승한 날에 일어나며, 이는 혈장 estradiol-17 β 농도가 최고치 후 3일째, 최초 교배허용 후 2일째에 배란이 일어난 것으로 추정되었다.

참 고 문 헌

1. 김정훈, 정경아, 강현구, 오기석, 박인철, 박상국 한호재, 손창호. 진돗개에서 발정주기 동안 질세포상과 변식호르몬의 관계. 한국임상수의학회지 2000; 17: 225-233.
2. Bouchard GF, Solorzano N, Concannon PW, Youngquist RS, Bierschwal CJ. Determination of ovulation time in bitches based on teasing, vaginal cytology, and ELISA for progesterone. *Theriogenology* 1991; 35: 603-611.
3. Concannon PW, Hansel W, Visek WJ. The ovarian cycle of the bitch: Plasma estrogen, LH and progesterone. *Biol Reprod* 1975; 13: 112-121.
4. Concannon PW, Hansel W, McEntee K. Change in LH, progesterone and sexual behavior associated with preovulatory luteinization in the bitch. *Biol Reprod* 1977; 17: 604-613.
5. Concannon PW, Lein DH. Hormonal and clinical correlates of ovarian cycles, ovulation, pseudopregnancy, and pregnancy in dogs. In: *Current Veterinary Therapy*, 10th ed. Philadelphia: WB Saunders Co. 1983: 1269-1282.
6. Concannon PW, McCann JP, Temple M. Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. *J Reprod Fert (Suppl)* 1989; 39: 3-25.
7. Concannon PW. Biology of gonadotropin secretion in adult and prepubertal female dogs. *J Reprod Fert (Suppl)* 1993; 47: 3-27.
8. de Gier J, Kooistra HS, Djajadiningrat-Laanen SC, Dieleman SJ, Okkens AC. Temporal relations between plasma concentrations of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, estradiol-17 α , progesterone, prolactin, and α -melanocyte-stimulating hormone during the follicular, ovulatory, and early luteal phase in the bitch. *Theriogenology* 2006; 65: 1346-1359.
9. Feldman EC, Nelson RW. Ovarian cycle and vaginal cytology. In: *Canine and feline endocrinology and reproduction*, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Co. 1996: 526-546.
10. Grundy SA, Feldman E, Davidson A. Evaluation of infertility in the bitch. *Clin Tech Small Anim Pract* 2002; 17: 108-115.
11. Hase M, Hori T, Kawakami E, Tsutsui T. Plasma LH and progesterone levels before and after ovulation and observation of ovarian follicles by ultrasonographic diagnosis system in dogs. *J Vet Med Sci* 2000; 62: 243-248.
12. Jeffcoate IA, Lindsay FEF. Ovulation detection and timing of insemination based on hormone concentrations, vaginal cytology and the endoscopic appearance of the vagina in domestic bitches. *J Reprod Fert (Suppl)* 1989; 39: 277-288.
13. Johnston SD, Root Kustritz MV, Olson PNS. The canine estrus cycle. In: *Canine and Feline Theriogenology*, 1st ed. Philadelphia: Saunders. 2001: 16-31.
14. Kutzler MA, Mohammed HO, Lamb SV, Meyers-Wallen VN. Accuracy of canine parturition date prediction from the initial rise in preovulatory progesterone concentration. *Theriogenology* 2003; 60: 1187-1196.
15. Okkens AC, Hekerman TWM, De Vogel JWA, van Haften B. Influence of litter size and breed on variation in length of gestation in the dog. *Vet Quart* 1993; 13: 160-161.
16. Onclin K, Murphy B, Verstegen JP. Comparison of estradiol, LH and FSH patterns in pregnant and nonpregnant beagle bitches. *Theriogenology* 2002; 52: 1957-1972.
17. Renton JP, Boyd JS, Harvey MJA, Ferguson JM, Nickson DA, Eckersall PD. Comparison of endocrine changes and ultrasound as means of identifying ovulation in the bitch. *Res Vet Sci* 1992; 53: 74-79.
18. Rota A, Veronesi MC, Volpe S, Riccard A, Battocchio M. Estradiol-17 β , progesterone and testosterone plasma concentrations during estrus in the bitch. *Vet Res Com (Supply)* 2007; 31: 197-199.
19. Tsutsui T. Gamete physiology and timing of ovulation and fertilization in dogs. *J Reprod Fert (Suppl)* 1989; 39: 269-275.
20. Tsutsui T, Hari T, Kirihara Nobuyuki, Kawakami E, Concannon PW. Relation between mating or ovulation and the duration of gestation in dogs. *Theriogenology* 2006; 66: 1706-1708.
21. Tsutsui T, Stewart DR. Determination of the source of relaxin immunoreactivity during pregnancy in the dog. *J Vet Med Sci* 1991; 53: 1025-1029.
22. Wallace SS, Mahaffer MB, Miller DM, Thompson FN, Chakraborty PK. Ultrasonographic appearance of the ovaries of dogs during the follicular and luteal phases of the estrous cycle. *Am J Vet Res* 1992; 53: 209-215.
23. Wildt DE, Chakraborty PK, Panko WB, Seager SWJ. Relationship of reproductive behavior, serum luteinizing hormone, and time of ovulation in the bitch. *Biol Reprod* 1978; 18: 561-570.
24. Wright PJ. Practical aspects of the estimation of the time of ovulation and of insemination in the bitch. *Aust Vet J* 1991; 68: 10-13.