

## 濟州馬의 혈청 progesterone 및 estradiol-17 $\beta$ 의 妊娠診斷 利用에 關한 研究\*

崔 漢 鎬\*\* · 康 珉 秀\*\*\*

### <요 약>

암말 238두를 대상으로 번식과정에 있어서 혈장 progesterone과 estradiol-17 $\beta$ 의 수준변화를 분석하여 초음파진단 결과와 상관관계를 구명함으로써 개별농가에서 자연교배로 자체번식에 의해 교잡종의 번식을 행하고 있는 현 제주마 번식관리 체계하에서 실용적인 측면에서 효율적인 임신진단방향을 모색코자 실시한 시험결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 임신마에 있어서 혈청 progesterone 수준이 13.43ng/ml인 반면 비임신마에서는 3.83 ng/ml였다. estradiol-17 $\beta$  수준은 임신마에서 1.020.90pg/ml, 비임신마는 12.08pg/ml였다. 따라서 임신마와 비임신마간에는 고도의 유의차가 인정되었다.

2. 초음파진단 임신마는 progesterone 수준이 4.7ng/ml 이상에서 89.5%, 4.6ng/ml 이하가 10.5%인 반면 비임신마에서는 4.6ng/ml 이하가 63.5%, 4.7ng/ml 이상 36.5%였다.

Estradiol-17 $\beta$  수준은 임신마의 경우 160.9pg/ml 이상의 높은 농도를

\* 본 논문은 제주대학교 대학원 석사학위 논문임.

\*\* 제주대학교 동물자원과학과 대학원석사

\*\*\* 제주대학교 동물자원과학과 교수

나타 낸 반면 비임신마의 경우에는 90.9%가 10.6pg/ml 이하의 수치를 보였다.

3. 번식계절을 중심으로 4월~9월까지의 임신초기 말이 많은 기간에는 progesterone을 측정하여 10~3월까지의 임신말기 말이 많으므로 임신후기에 분비량이 많아지는 estradiol-17 $\beta$ 를 측정하므로써 임신진단의 정확도가 높아질 것으로 사료된다.

4. 제주마혈통등록친자 감별 체계의 미확립으로 인해 교배 및 임신시기 파악이 곤란한 실정으로써 조방적 사육과 순치 불량 등으로 인하여 초음파 기기에 의한 직장검사가 어려운 경우가 많다.

혈중 progeoterone 수준이 16.9ng/ml 이상에서는 100%의 임신 진단율을 보였다. Estradiol-17 $\beta$  수준은 160.9pg/ml 이상인 말에서 100%가 임신된 것으로 확인되었다.

따라서 혈중 성 steroid 호르몬 측정에 의한 임신진단 방법은 초음파 진단과 병행 실시한다면 검사시간과 인력 그리고 마필자체의 부상위험성 등을 줄일 수 있는 예비검사(screening test)로서 충분한 활용가치가 있을 것으로 사료된다.

## I. 緒 論

암말은 봄, 여름에만 난소가 기능적으로 활동하고, 이 기간 동안에만 여러 번의 발정을 되풀이하는 장일성 번식동물이며 이러한 난소기능 개시시기는 기후, 풍토, 지리적 위도의 차이와 사양조건에 따라 차이가 있다. 북극지방에 가까울수록 적도나 열대, 아열대에 속하는 지역에 비해 말은 짧은 번식기를 갖게 되는데, 이러한 특성은 많은 수의 말이 가축화 되면서 약간씩 소실되고 있는 것이 사실이다. 일반적으로 북반구에 속하는 제주마는 번식계절(난소의 활동이 극대화되는 시기)이 3월 하순에 시작하여 9월 상순~1월 상순에 끝나는 경우가 많다. 그러나 이른 봄이나 늦여름의 번식계절 이행시기에는 불규칙한 발정주기나 이상 발정이 많이 나타난다. 한편 일반적으로 대부분의 말의 번식에 적합한 계절로 4~7월을 보고하고 있다(Arthur, 1958 ; Hutton and Meacham, 1968)

한편, 제주마의 관해서는 일반 번식 상황을 조사한 결과 초발정 월령은 14.1개월이었고, 발정주기는 21.5일, 임신기간은 335.7일, 분만율은 69.0%로 나타났다(김 등, 1989).

강 등(1993)이 제주마의 땅아지 분만율 분포를 조사한바에 의하면 4월 분만이 44.2%로 가장 많았으며, 다음은 5월 30.9%, 3월이 11.8%로 3~5월 분만이 86.9%를 차지하며, 그 외의 월에 분만이 13.1%였다. 임신기간은 335.9일, 분만간격은 325.5일이었다.

이러한 번식기는 발정과 수태에 관계된 follicle stimulating hormone(FSH), luteinizing hormone(LH), pregnant mare serum gonadotropin(PMSG), thyroid stimulating hormone(TSH), equine chorionic gonadotropin(ECG), human chorionic gonadotropin(HCG), prostaglandin (PGF), progesterone, estrogen(estradiol-17 $\beta$ ) 등의 몇몇 생식관련 호르몬의 양적 변화를 관찰 할 수 있는데, 발정기의 follicular phase에서는 estradiol-17 $\beta$ 이 가장 주요한 스테로이드 호르몬으로써 분

비되어지고, 임신기간에는 progesterone이 가장 많이 분비되어 진다. 이러한 이유로 임신진단에 있어 가장 특이적으로 이용할 수 있는 호르몬이 스테로이드 호르몬인 progesterone과 estrogen이다. 암말의 경우 progesterone과 estrogen의 상승작용은 수컷 허용행위의 발현과는 무관하다.

Estradiol-17 $\beta$ 은 estrogen의 활성화물질이면서 progesterone과 함께 암컷이 성장함에 따라 생식기와 신체의 일부에 자성다운 변화를 일으키게 하는 난소에서 분비되는 대표적인 스테로이드 호르몬이다(Mcdowell et al., 1985).

Progesterone과 estradiol-17 $\beta$  이 두 호르몬은 prolactin, FSH, LH와 같은 몇몇 뇌하수체 호르몬의 분비를 조절하는 positive 및 negative feedback mechanism의 주요 구성물질이기도 하다(Stabenfeldt et al., 1975).

Estradiol-17 $\beta$  (estrogen)은 암말에게 번식과 관련하여 있어 질, 자궁, 난관 등의 기관발달과 난자의 수송 및 성숙, 태아의 착상, 임신관련 호르몬의 조절, 유선의 발달 등에 있어 가장 필수적인 호르몬이다. 이 이외에도 더 많은 번식 외의 기능이 있지만 가장 여성스러운 자태와 기능, 그 중에서도 성적 활동을 활발하게 하여 발정을 가져오게 한다고 요약할 수 있겠다.

난소와 황체에서 분비되는 가장 주요한 호르몬인 progesterone은 임신유지에 가장 큰 의의를 두고 있는 호르몬이라고 할 수 있다. 이는 정자가 들어와 수정이 이루어지고 수정란이 착상되어 성숙해 태아로써 분만될 때까지 임신과 관련된 제반의 기관들을 조절하는 호르몬이다. 이러한 스테로이드 호르몬 중 몇몇의 경우에 다른 활성 스테로이드로 변환되는데, 일례로 estradiol-17 $\beta$ 은 난소내의 granulosa cell에서 aromatase enzyme에 의해 androgen이 변형을 일으켜 생성된 것으로써 이는 다시 estrogen으로 변환된다. 그렇기 때문에 암컷의 경우에 estrogen의 대부

분이 여러 조직에서 변환된 것으로서 estrogen 분비의 주된 장기인 난소에서 만들어진 부분은 적다. 태아의 경우 배란 후 16일 이후부터 상당히 많이 증가된 양의 estradiol을 생산할 수 있게 된다(Flood et al., 1979).

암말에서 progesterone은 임신 후 90일에서 100일정도에 가장 높은 수치가 관찰되며 그 이후 150일에서 180일 전후가 될 때까지 점차 감소하다가 이 때부터 다시 4ng/ml 이하의 범위내에서 조금씩 증가하기 시작하여 분만 때까지 지속된다(Barnes et al., 1975). 이러한 이유로 150일 전후에서 progesterone의 양이 적은데서 기인한 유산이 많이 일어날 수도 있게 되는 것이다. 또한 첫 번째 관찰되는 progesterone의 양적 증가는 황체에서 분비되는 것이며, 두 번째로 관찰되는 progesterone의 양적 증가는 태반에 의한 것이기 때문에 암말에서 150일 이후에 난소적출술을 실시해도 임신의 유지에는 영향을 받지 않는 것은 이 때문이다(Smith, 1974). Estrogen은 점차 증가하여 임신 210일령에 최고치를 나타낸 후 감소하며 분만기에 급감한다(신가축번식사, 1996).

현재 조기 임신진단에 가장 널리 사용되고 있는 방법은 직장을 통한 초음파 진단인데, 초음파 진단을 이용해 임신 10~14일에 구형의 embryonic vesicle을 관찰할 수가 있고 임신 후 14일이 지나면 90%이상의 정확도를 보이게 된다(Palmer, 1980). 이 이외의 임신진단 방법으로는 촉진에 의한 임신진단 방법, 21일령의 마우스를 이용한 생체내 PMSG 투여 검사, 적혈구 응집 억제반응을 이용한 혈중 PMSG의 검사, 질 점막 조직검사법 등이 있다. 촉진에 의한 임신진단은 수정 후 40~50일 후면 직장검사를 통해 난소와 자궁을 촉진함으로써 정확하게 진단할 수가 있고, estrogen과 progesterone의 분비에 직접적으로 관여하는 혈중 PMSG의 검사는 신속성과 정확성을 내세울 수 있으나 35~40일령 정도까지의 암말에게만 사용할 수 있다는 한계가 있다. 초음파를 이용한 검사는 이 실험에서도 임신 여부를 결정하는 기준으로 사용되었는데, 오차율이 16%나 된다는 보고가 있다. 하지만 호르몬의 변화만으로는 쌍생

아의 진단이 어려우므로 항상 초음파 진단을 병행함으로써 쌍생아의 생산을 조기에 막을 수 있게 된다.

이와 같은 임신진단의 중요성으로는 임신이 되었을 경우 여러 가지 임상증상을 빠른 시일 내에 판단함으로써 분만예정일을 추정하여 사전에 분만대비를 할 수 있고, 임신마에 대한 적절한 사양관리도 할 수 있다. 한편, 불임 시에는 재수정 또는 불임마에 대한 적절한 처리를 하여 번식마의 번식효율을 높이는 데도 중요하다.

마필의 임신 진단법에는 크게 나누어 임상적 진단법(clinical diagnosis)과 실험실 진단법(laboratory diagnosis)이 있는데 그 중 어느 진단법을 이용할 것인가는 임신진단시기, 진단의 정확도 및 진단에 소요되는 경비와 시간 등에 따라 선택하게 된다.

현재, 제주마의 번식과 사육동향은 제주경마시행등으로 인하여 마필 수요의 증가 추세가 지속되고 있으며, 제주도내 전체 사육두수는 2001년 기준 6,600여두를 상회하고 있다.

제주경마장에 경주마로 등록을 희망하는 마필은 번식용으로 사용되어서는 안 되나 혈통등록사업이 이루어지지 않아서 번식경력을 구별할 수가 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 종래 많이 실시되고 있는 초음파 진단법과 본 연구의 성호르몬 수준과의 상관관계를 구명하여 초음파 진단에 의한 임신감정의 경우에는 비용이 많이 들고 검사 대상말의 부상 우려가 있으며 검사시간이 많이 소요되는 등 어려움이 인정되고 있어서 혈액 중 성호르몬 수준을 분석하므로써 손쉽게 조기에 임신 진단이 가능하게 되도록 말의 번식효율을 제고시킬 목적으로 실시하였다. 지금 까지 국내 외에서 발표된 임신마의 혈중 스테로이드 호르몬에 관한 연구성과를 기초로 경주에 출주하기 위하여 1998년 10월 부터 2000년 9월까지 2년간 제주 경마장에 입사한 임상적으로 이상이 없는 암말 238두를 대상으로 RIA방법에 의한 성 호르몬 분석을 실시하였으며 progesterone,

estradiol-17 $\beta$  수준 변화를 검토하여 임신진단 검사중 가장 확실한 방법인 초음파진단법으로 확진한 결과와의 상관관계를 구명함으로써 현 제주마 번식관리체계하에서 효율적이고 합리적인 임신 진단 기법을 제시하고자 한다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 公시동물

1998년 10월부터 2000년 9월까지 2년간 경주에 출주하기 위하여 제주 경마공원에 입사한 임상적으로 특히 내분비학적으로 이상이 관찰되지 않은 건강한 암말 238두를 이용하였다. 말의 체중은 440kg에서 490kg 범위 내에 있었으며, 연령은 2세에서 4.5세까지였다. 사양에 있어 특별한 환경을 조성해주지는 않았다.

### 2. 실험 방법

#### 1) 시료의 채취

시료의 난소 호르몬 분석을 위하여 제주 경마공원에 입사하는 당일 말의 안정상태에서 Plain Tube를 이용 말의 경정맥에서 혈액 10cc를 채혈한 후 2000rpm에서 10분간 원심분리 과정을 거쳐 혈청을 분리하고 steroid hormone 분석시까지 냉동 보관하였다.

#### 2) Steroid 호르몬 분석

혈청에서 progesterone과 estradiol-17 $\beta$  농도 측정은 방사성 면역 정

량법(RIA법)을 이용하였다.

### (1) 혈청 Progesterone 분석

혈청 progesterone의 측정에는 Solid Phase  $^{125}\text{I}$ iodine RIA인 Coat-A-Count progesterone 을 사용하였다. 0, 0.1, 0.5, 2, 10, 20 그리고 40ng/ml 씩의 부착되어 있는 시험관(progesterone Ab-coated Tube)에 각각 100 $\mu$ l 분주후 모든 Tube에 1000l의  $^{125}\text{I}$  progesterone를 첨가한 후 분주한 시료를 Vortex mixer로 잘 섞이도록 하였다. 이러한 과정이 끝난 Tube는 37°C의 Incubator에서 60분 반응시킨 후 실온에서 10분간 반응하고 나서 상층액을 흡입해서 버리고 침전물의 방사능량을 감마선 계측기(Gammer Counter)를 이용하여 측정하였다.

### (2) 혈청 estradiol-17 $\beta$ 분석

혈청 estradiol-17 $\beta$ 의 측정에는 Solid Phase  $^{125}\text{I}$ iodine RIA인 Coat-A-Count estradiol-17 $\beta$  을 사용하였다. 0, 20, 50, 150, 500, 1800 그리고 3600pg/ml 씩의 estradiol-17 $\beta$ 이 들어있는 표준액과 검체의 혈청을 estradiol에 대한 항체가 부착되어 있는 시험관 (progesterone Ab-coated Tube)에 각각 100 $\mu$ l 분주후 모든 Tube에 1000l의  $^{125}\text{I}$  estradiol를 첨가한 후 분주한 시료를 Vortex mixer로 잘 섞이도록 하였다. 이러한 과정이 끝난 Tube는 37°C의 Incubator에서 60분 반응시킨 후 실온에서 10분간 반응하고 나서 상층액을 흡입해서 버리고 침전물의 방사능량을 감마선계측기(Gammer Counter)를 이용하여 측정하였다.

### 3) 임신 검사

이 실험에서 사용된 초음파 검사의 원리는 탐촉자(probe)내에 압전효과를 갖는 크리스탈이 배열되어 있고 이 크리스탈에 전압을 가하면 기계적인 변형을 일으켜 특정적 고주파가 발생되는데 이러한 고주파가 조



직 속에 들어가 조직의 종류에 따라 달라지는 음파통과 저항도를 화상 출력하여 에코의 진폭을 화면에 밝기의 강약으로 나타내는 B-mode 출력방식이다.

7.5MHz 일자형 탐촉자를 가진 초음파 진단기(ALROKA, JAPAN)를 이용하여 직장을 통하여 검사하였다. 깊이는 20cm로 하여 진단 하였으며, 이로써 구형의 embryonic vesicle의 유무로써 임신여부를 판단하였다(Pipers et al., 1984).

#### 4) 통계 분석

실험의 유의성 검정을 위하여 일반적인 통계 분석 방법인 ANOVA, t-test를 이용하였다. 분석은 컴퓨터를 이용하여 각 처리구를 통계적인 방법으로 처리하여 임신마와 비 임신마의 차이를 비교 분석하였다

### III. 結果 및 考察

혈장 progesterone과 estradiol-17 $\beta$  수준을 초음파 임신검사와 비교한 결과는 Table 1 에서 제시된 바와 같다.

임신마(19두)와 비임신마(115두)의 평균 progesterone 수준은 각각 13.43ng/ml, 3.83ng/ml이다. 한편 estradiol-17 $\beta$  수준은 임신마(5두)에서는 1020.90pg/ml, 비임신마(99두)는 12.08pg/ml이다.

Table 1에 나타나 있듯이 progesterone의 경우엔 평균 호르몬의 수치가 4배 가까이 임신마에서 높게 나타났고, estradiol-17 $\beta$ 의 경우엔 100배 가까이 차이가 나는 것으로 나타나 난소 호르몬에 따라 임신마와 비임신마간에는 고도의 유의차가 있었다(P < 0.001).

**Table 1. Comparison of pregnancy diagnosis between hormone analysis and ultrasonography**

Result of ultrasonography	Progesterone(ng/ml)		estradiol-17 $\beta$ (pg/ml)	
	No.	Mean $\pm$ S.E	No.	Mean $\pm$ S.E
Pregnancy	19	13.43 $\pm$ 1.67a	5	1020.90 $\pm$ 309.85
Non-pregnancy	115	3.83 $\pm$ 0.39b	99	12.08 $\pm$ 0.77
Total	134		104	

\* P &lt; 0.001

임신진단에 응용하고자 혈장 progesterone 수준과 초음파검사와 비교한 결과는 Table 2에 나타낸 바와 같다. 최근 널리 이용되고 있는 초음파 검사는 임신진단에 많은 도움을 주고 있는 응용가치가 높은 장비로 체내의 호르몬 변화와 비교하여 임신진단의 정확성을 기할 수 있는 좋은 기초가 된다. 호르몬 분석결과와 초음파 진단결과를 비교해 보았을 때 임신마에 있어서 progesterone수준이 4.7 ng/ml 이상이 89.5%(17두), 4.6ng/ml 이하가 10.5%(2두)인 반면 비임신마에서는 4.6ng/ml 이하가 63.5%(73두), 4.7ng/ml 이상 36.5%(44두)였다.

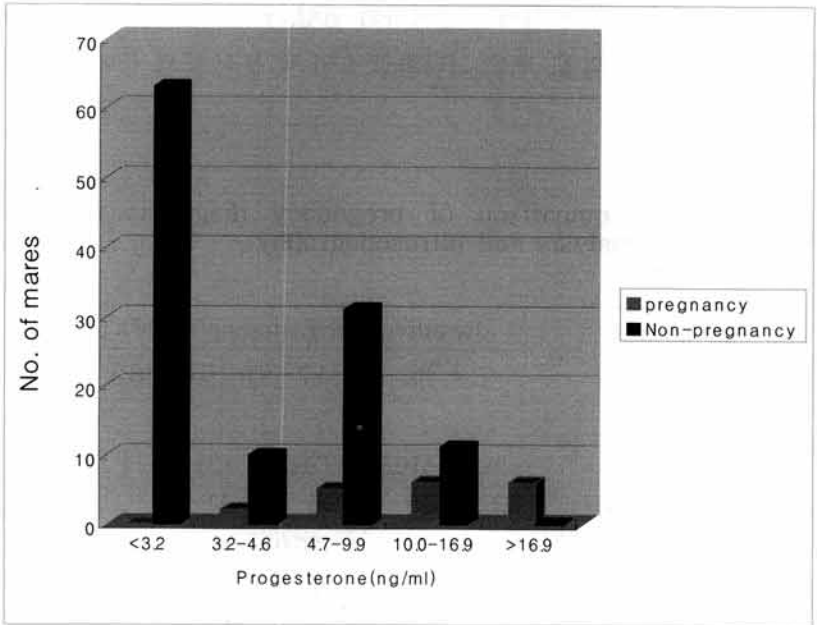


Figure 1. Comparison of progesterone concentrations in pregnant and non-pregnant mare

임신마로 판정된 암말에서 19두중 12마리(63.2%)가 10ng/ml 이상의 농도를 보였던 반면 비임신마의 경우는 115두중 63두(54.8%)가 3.2ng/ml에도 못 미치는 결과를 나타내어 임신마와 비임신마간의 호르몬 수준의 양적차이가 크다는 것을 알 수 있었다.

이 결과는 초음파 임신판정 결과와 호르몬 수준변화가 일치하여 긴밀한 상관관계를 갖고 있는 것으로 국내 계절번식 임신마의 호르몬 수준변화가 임신과 밀접한 관계가 있음을 나타낸 것이라 하겠다.

한편, 국내에서는 김 과 장(1990)이 임신마에 있어서 progesterone 수준이 1.9ng/ml 이상이 80%(12두), 1.8ng/ml 이하가 20%인 반면, 비임신마에서는 0.9ng/ml 이하가 80%(12두), 1.0ng/ml 이상 20%(3두)로 발표하였다.

본 연구 결과와의 큰 차이는 공시마의 연령, 임신기간, 난포의 발육상태, 황체의 형성과 퇴행, 계절, 기타환경 요인 및 분석 방법 등에 기인된 것으로 생각된다.

**Table 2. Comparison of pregnancy diagnosis between progesterone analysis and ultrasonography**

Result of ultrasonography	No.	Result of progesterone(ng/ml) test*				
		<3.2	3.2~4.6	4.7~9.9	10.0~16.9	>16.9
Pregnancy (%)	19	-	2 (10.5)	5 (26.3)	6 (31.6)	6 (31.6)
Non-pregnancy (%)	115	63 (54.8)	10 (8.7)	31 (26.9)	11 (9.6)	-
Total	134	63	12	36	17	6

\*Limitation of hormone level was determined on the basis of 95% confidence interval

Progesterone의 양은 estradiol-17 $\beta$  만큼의 현격한 차이를 보이지는 않았지만 충분히 유의성 있는 결과를 보여 주었고, 이는 객관적인 양을 고려할 때 estradiol-17 $\beta$ 에 비해 상당히 많은 양이기 때문에 많은 수치상의 차이는 나타나지 않은 것으로 여겨진다. 또한 암말에게서 progesterone의 분석만으로 임신을 진단하는 것은 비 암말에게서 일어날 수 있는 persistent luteal phase syndrom을 임신으로 오진할 수 있을 가능성이 있다(Neely et al., 1979 ; Stabenfeldt et al., 1974). 이는 PGF<sub>2</sub>의 분비장애로 인해 황체의 활동이 유지되어 생기는 것으로 정상 황체기의 progesterone 수치가 5~8ng/ml인데 반해 이러한 병적 상태가 되면 처음에는 비슷하게 유지되다가 차차 시간이 지나면서 2~3ng/ml 정도로 다소 낮아지게 된다.

이로 인한 오진은 수정 후 20~40일 사이에 나타날 가능성이 가장 많은데, 이러한 증상이 나타날 수 있는 확률은 15~20%나 된다고 보고 되고 있다. 그렇기 때문에 암말에서 progesterone의 수치만으로 임신 여부를 진단하는 것은 약간의 무리가 따른다고 하겠다. 따라서 progesterone과 estradiol-17 $\beta$  이 두가지 호르몬의 측정을 항상 병행하여야 확실한 진단의 도구로써 활용이 가능함을 이 실험을 통해 알 수가 있었다.

Progesterone의 경우 혈중 농도가 배란 후 6일에서 14일 후에 8~15ng/ml에 이르러 최고치를 나타내지만 그 후에 30에서 35일에 이르기 까지 점차 감소하다가 35일이 지나면서 임신이 이루어진 말에 대해선 다시 증가하기 시작하여 임신 150일이 될 때까지 8~25ng/ml 정도의 농도를 유지하게 되는데, 이는 첫 번째 황체의 분비작용이 시점이 35일이라는 것을 보여주고, 이것은 PMSG의 작용이라고 밝혀져 있다(Bergfelt et al., 1989). 하지만 발정이 끝난 후 16~17일 후에 측정된 혈 중 progesterone의 양으로 거의 정확도가 100%에 달하는 임신진단을 할 수가 있다는 연구결과도 보고되어져 있다(Hunt et al., 1978) 이는 또한 20일 동안 5일마다 혈액을 채취, 분석하여 정상적으로 활동을 하는 난소를 가지고 있으면서 불규칙한 발정을 갖거나 아예 발정의 징후가 나타나지 않는 암말에 대해 정확한 발정기를 찾아내는 데에도 쓰여질 수 있기에 진단의 목적 뿐만 아니라 암말의 관리에 있어서 아주 필수적인 과정이라고 할 수 있겠다. 만일 채혈이 불가능한 상태라면 유즙 내의 progesterone의 양을 측정해도 무방하다.

Table 3에서 보는 바와같이 estradiol-17 $\beta$ 의 경우에는 임신마의 경우 5두 모두가 160.9pg/ml 이상의 높은 농도를 나타낸 반면, 비임신마의 경우엔 99두중 90두(90.9%)가 10.6pg/ml 이하의 수치를 나타내어 임신마와 비임신마간의 호르몬 차이가 현격함을 알 수 있었다.

이를 토대로 검토하여 보면 혈청내에 estradiol-17 $\beta$  변화는 직접적으로 임신마의 판정에 결정적인 단서가 됨을 알 수 있었다.

이에 대하여 Sato 등(1977)은 estradiol-17 $\beta$  수준이 임신 5개월부터 증가하여 496.5~1826.5pg/ml 였다고 보고하여 본 시험 결과와 비슷하였으며, 반면 Kienholz 등(1986)은 임신 3개월령의 estradiol-17 $\beta$  수준은 800~4000 pg/ml로서 본 시험 결과와 차이가 인정되었다.

**Table 3. Comparison of pregnancy diagnosis between estradiol-17 $\beta$  analysis and ultrasonography**

Result of ultrasonography	No.	Result of estradiol-17 $\beta$ (pg/ml) test*				
		<10.6	10.6~13.6	13.7~160.8	160.9~1881.0	>1881.0
Pregnancy (%)	5	-	-	-	4 (80.0)	1 (20.0)
Non-pregnancy (%)	99	90 (90.9)	-	9 (9.1)	-	-
Total	104	90	-	9	4	1

\*Limitation of hormone level was determined on the basis of 95% confidence

Estradiol-17 $\beta$ 은 분석결과 임신마에서 불임마에 비해 약 20배 이상의 매우 높은 양이 분비되는 것으로 관찰되었다. 이는 비록 말의 태아가 임신 후 7일부터 estrogen을 합성 할 수 있긴 하지만 estrogen의 혈중 농도는 임신 후 30일 동안은 비임신마의 발정 휴지기와 별반 차이가 없고, 임신 후 35일에서 40일이 되면 endometrial cup에서 분비되는 PMSG의 작용에 의한 estrogen의 합성증가로 인해 혈중 estrogen 농도가 증가된다(Heap et al., 1982 ; Zavy et al., 1984 ; Dales et al., 1990). Estrogen의 분석에 따르면 임신한 말의 경우 임신 85일부터 total estrogen(unconjugated + conjugated)의 양은 상당히 높아지기 시작하여 비임마의 발정기 때 보이는 최대치보다도 훨씬 높은 양이 관찰되기 때문에 이는 직장을 통한 축진에 의한 진단으로는 확진이 힘들 경우 매우 확실한 근거를 제시할 수 있다

(Terqui and Palmer, 1979). 이렇게 농도가 상승된 estrogen의 혈중 농도가 가장 높은 시기는 임신 후 7~8개월 후인 것으로 밝혀져 있다(Nett et al., 1975). 이러한 이유로 이에 대한 호르몬 측정은 꾸준히 진행되어야 하며, 항상 호르몬 측정 뿐만 아니라 초음파나 행동의 변화를 면밀히 관찰해야 할 필요가 있다. 브라질에서의 한 연구를 보면 임신 후 30일 이내에 혈중 progesterone의 수치가 너무 높게 되면 태아가 흡수되어 버리는 확률이 높다는 보고가 있다(Lopes et al., 1993). 이때 estrogen의 수치는 임신을 유지하고 있는 말에서 그렇지 않은 말보다 더 높았다.

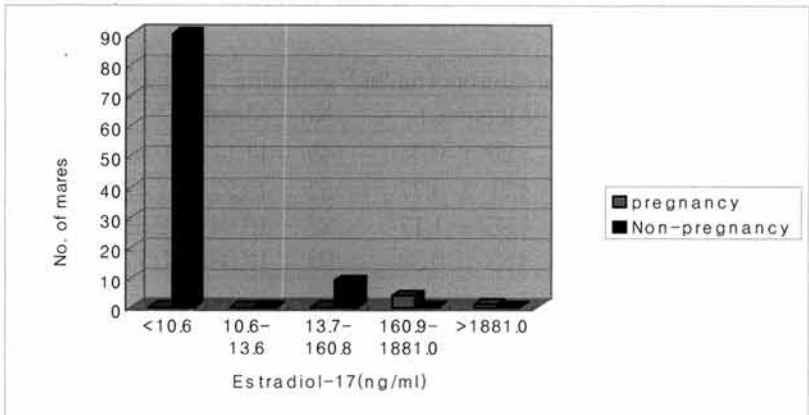


Figure 2. Comparison of estradiol-17 $\beta$  concentrations in pregnant and non-pregnant mare

따라서 progesterone과 estradiol-17 $\beta$  이 두 호르몬 수치의 측정은 임신의 진단 뿐만 아니라 산과학적, 내분비적 질병의 여부, 태아의 상태 관찰 등을 위해 정기적인 검사에 유용하게 쓰여질 수 있으며, 이를 좀 더 상용화하는 방법에 대한 연구가 더욱 진행되어야 할 것이다.

비임신마의 연령별 혈청내 progesterone과 estradiol-17 $\beta$  수준변화를

비교해 보면 Table 4와 같다.

Progesterone 수준변화는 2 세마(64두)에 3.20ng/ml로 낮은 수준이던 것이 3세(38두), 4세 이상(13두)에서는 각각 4.71ng/ml, 4.35ng/ml로 상승하였다. 3세마의 경우에 황체호르몬의 수치가 가장 높게 나타났으나 연령별 유의차는 인정되지 않았다.

Estradiol-17 $\beta$  수준도 4세마, 3세마, 2세마 순으로 약간 높은 수준이었으나, 역시 유의 차는 없었다.

**Table 4. Plasma concentrations of progesterone and estradiol-17 $\beta$  levels in non-pregnant fillies**

	Progesterone(ng/ml)		estradiol-17 $\beta$ (pg/ml)	
	No.	Mean $\pm$ S.E	No.	Mean $\pm$ S.E
2 years	64	3.20 $\pm$ 0.45	45	11.11 $\pm$ 0.63
3 years	38	4.71 $\pm$ 0.77	32	12.37 $\pm$ 1.42
Over 4 years	13	4.35 $\pm$ 1.17	22	13.64 $\pm$ 2.51
Total	115	3.83 $\pm$ 0.39	99	12.08 $\pm$ 0.77

비임신 제주마의 월별 혈장 progesterone 과 estradiol-17 $\beta$  수준변화는 Table 5에서 보는 바와 같다. 월별로 비임신마의 progesterone 수준은 4월에 2.20ng/ml, 5월, 4.51ng/ml, 6월 4.98ng/ml, 그리고 7월에는 3.93ng/ml로 떨어졌다가 8월에는 4.41 ng/ml로 상승하다가 9월 3.19 ng/ml로 다시 떨어졌다.

Estradiol-17 $\beta$  수준은 10~12월 각각 10.85pg/ml, 12.0pg/ml, 10.71pg/ml와 1월~3월 각각 12.25pg/ml, 13.13pg/ml, 13.0pg/ml로 대동소이한 수치 변화를 보여주었다. 국내 특히 제주에서 김 과 장(1990)은 비임신마의 progesterone 수준은 봄에 3.41 ng/ml이던 것이 여름과 가을에 6.83



ng/ml로 약간 상승하다가 겨울로 들어가면서 1.11 ng/ml로 떨어진다고 하였으며, estradiol-17 $\beta$  수준은 가을철에 99.42 pg/ml 겨울철에 74.1pg/ml로 발표하였는데, estradiol-17 $\beta$  수준은 본 시험의 결과와 차이를 보여주었으나 progesterone은 유사한 경향이였다.

**Table 5. Plasma concentrations of progesterone and estradiol-17 $\beta$  levels of non-pregnant fillies during the experimental period**

Month	Progesterone(ng/ml) Mean $\pm$ S.E	estradiol-17 $\beta$ (pg/ml) Mean $\pm$ S.E
1	NT	12.25 $\pm$ 2.00
2	NT	13.13 $\pm$ 2.54
3	NT	13.00 $\pm$ 2.10
4	2.20 $\pm$ 0.60	NT
5	4.51 $\pm$ 1.03	NT
6	4.98 $\pm$ 0.93	NT
7	3.93 $\pm$ 0.93	NT
8	4.41 $\pm$ 1.18	NT
9	3.19 $\pm$ 1.03	NT
10	NT	10.85 $\pm$ 0.85
11	NT	12.00 $\pm$ 2.00
12	NT	10.71 $\pm$ 0.71
Total	115	99

\*\*NT : Not tested

번식형질은 경주마뿐만 아니라 레저 스포츠에 이용되는 말의 생산에 가장 중요한 요건 중의 하나이다. 특히 국내에서는 말의 사육이 제한적으로 이루어지고 있고 그 숫자 또한 적기 때문에 말의 번식에 대한 이해가 다른 학문에 비하여 이해가 부족한 실정이다.

계절 번식을 하는 말은 번식기인 4월에서 7월경에 발정이 일어나게 되면 여러 가지 행동의 변화와 외형적인 신체의 변화 등이 일어나게 된다. 이러한 제반의 변화는 여러 가지 호르몬의 변화에 기인하게 되는데 그 중에서도 암컷의 발정과 임신에 직접적으로 관여하게 되는 호르몬에는 progesterone과 estradiol-17 $\beta$ 가 있다. 이들은 암말에서 발정기 이후 임신이 이루어지게 되면 체내에서 이들 호르몬이 상당한 만큼의 양적 변화를 보이게 된다.

이러한 양적 변화를 Radioimmunoassay법을 이용해 측정을 하게 되면 임신이 된 암말과 임신이 안된 암말간의 차이를 관찰할 수 있게 되는데, 이러한 양적 변화를 초음파 임신진단의 소견과 비교해 본 결과, 임신이 이루어진 암말에서 상당한 양적 증가를 관찰할 수 있었다.

말에 있어 progesterone의 양은 임신의 경과에 따라 가변적인데다가 병적 변화와 혼동을 야기할 수 있으나, 실제 본 실험에서도 일단의 유의성을 보이고 있으며 estradiol-17 $\beta$ 의 경우에는 거의 100배에 가까운 양적 차이를 보여 임신진단의 지표로써 충분히 활용할 만한 가치가 있음이 밝혀졌다. 이로서 혈청내 호르몬의 양적인 변화와 초음파진단이 병행될 경우 임신진단의 효율을 제고할 수 있을 것으로 사료된다.

#### <參考文獻>

- Arthur, G. H. 1958. An analysis of the reproductive function of mares based on postmortem examination. *Veterinary Record* 70, 682-686
- Barnes, R. J., Nethanielsz, P. W., Rossdale, P. D., Comlne, R. S. and Silver, M. 1975. Plasma progestagens and oestrogens in fetus

- and mother in late pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 23 : 617-623
- Bergfelt, D. R., Pierson, R. A. and Ginther, O. J. 1989. Resurgence of the primary corpus luteum during pregnancy in the mare. *Animal Reproduction Science* 21, 261-270.
- Bosu, W. T. K., Turner, L., and Franks, T. 1984. Estrone sulphate and progesterone concentrations in the peripheral blood of pregnant mares : Clinical implications. *Proceedings of the international congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination*, P.78.
- Daels, P. F., et al. 1991. The corpus luteum : Source of oestrogen during early pregnancy in the mare. *J. Reprod. Fertil Supply.*, 44 : 501-508
- Daels, P. F., Shideler, S., Laslry, B., Hughesm J. P. and Stabenfeldt, G. H. 1990. The source of oestrogen in early pregnancy in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility* 90, 55-61
- Darenius, K., at al. 1982. PMSG, progesterone and oestrone sulphate during normal pregnancy and early fetal death. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 32 : 625-626
- Evans, K. L. et al. 1984. pregnancy diagnosis in the domestic horse through direct urinary estrone conjugate analysis. *Theriogenology*, 22 : 615-620
- Flood, R. F., Betteridge, K. J. and Irvine, D. S. 1979. Oestrogens and androgens in blastocoelic fluid and culture of cells from equine conceptuses of 10 to 22 days gestation. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 27,413-420.
- Gidley-Baird, A.A, and o' Neil, C. 1982. Early pregnancy detection in the mare. *Equine Vet. Data*, 3 : 42
- Ginther. O. J., 1985. Embryonic loss in mares : Incidence. times of occurrence and hormonal involvement. *Theriogenology*. 23 : 77-89
- Hammond, J. 1960. *Farm Animals*. Edward Arnold, London, 322PP

- Heap, R. B., Hamon, M. and Allen, W. R. 1982. Studies on oestrogen synthesis by the preimplantation equine conceptus. *Journal of Reproduction and Fertility Supplm* 27:395-401.
- Heap, R. B., Gwyn, M., Laing, J. A., et al. 1973. Pregnancy diagnosis in cow : Changes in milk progesterone concentration during the oestrous cycle and pregnancy measured by a rapid radioimmunoassay. *Journal of the Agricultural Science*, 81 : 151-157, 1973
- Hershman, L., and Douglas, R. H. 1979. The critical period for the maternal recognition of prefnancy in pony mares. *J Reprod. Fertil. Suppl.*, 27 : 395-401
- Holtan D. W, Nett, T. M, and Estergreen. V. L. 1975. plasma progestagens in pregnant mares. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 23 : 419-424
- Hunt, B., Lein, D. H. and Foote, R. H. 1978. Monitoring of plasma and milk progesterone for evaluation of post-partum estrous cycle and early pregnancy diagnosis in mares. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 172, 1298-1302.
- Hutton, C. A. and Meacham, T. N. 1968. Reprod ,uctive efficiency on fourteen horse farms. *Journal of American Science* 27, 434-438
- Hughes, J. P., Stabenfeldt, G. H., and Evans, J. W. : Clinical and endocrine aspents of the estrous cycle of the mare *Proc.Am. Assoc.Equine Pract.*, 119-148, 1972
- Hyland, J. H. : Reproductive endocrinology : Its role in fertility and infertility in the horse. *Br. Vet J.*, 146 : 1-16, 1990
- Jeffcott, L. B., et al. 1987. change in maternal hormone concentrations associated with induction of fetal death at day 45 of gestation in mares. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 35 : 461-467
- Kindahl, H., Knudson, O., Madej, A., and Edqvist, L. E. 1982. progesterone, prostaglandin F<sub>2</sub>, PMSG and oestrone sulphate during early pregnancy in the mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 3

2 : 353-359

- Kienholz, M., G. Glockmer and S. Heidemann. 1986. Importance of estradiol-17 $\beta$  for fertility in mares. *Anim. Breed. Abstrs.*, 54(7) 541.
- Kooistra, L., and Ginther, O. J. 1976. Termination of pseudo-pregnancy by administration of prostaglandin F2 and termination of early pregnancy by administration of prostaglandin F2 or colchicine or by removal of embryo in mares. *Am.J. Vet.Res.*, 37 : 35-39
- Lopes, M. D., Papa, F. O., Prestes, N. C., Bicudo, S. D. and Meira, C. 1993. Early embryo mortality in horses. I. Hormonal and ultrasonic aspects. *Proceedings of the 5th International Symposium on Animal Reproduction(Portugal) 2*, 341-346.
- McDonald, L. E. . LEA & FEBIGER. 1989. *Veterinary Endocrinology and Reproduction Philadelphia, London 344PP, 423PP, 425PP*
- McDowell, K. J. Sharp. D. C. Peck. L. S. and cheves, L. L. 1985. Effect of restricted conceptus mobility on maternal recognition of pregnancy in mares. *Equine Vet. J. Suppl.*, 3 : 23-24
- Moss, G. E., Estergreen, V. L., Becker, S. R., and Grant B. D. 1979. The source of the 5-pregnanes that occur during gestation in mares. *J.Reprod.Fertil.Suppl.*, 27 : 511-519
- Neely, D. P., Kindahl, H., Stabenfeldt, G. H., et al. 1979. Prostaglandin release patterns in the mare : Physiological, pathophysiological, and therapeutic response. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 27 : 181-189.
- Nett, T. M., Holtan, D. W, and Estergreen, V. L. 1975. Oestrogens, L. H, PMSG and prolactin in serum of pregnant mares. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 23, 457-462
- Nett, T. M, Holtan, D. W., and Egtergreen, V. L. 1975. Oestrogens, LH, PMSG and prolactin in serum of pregnant mares. *J. Reprod. Fertil . Suppl.*, 23 : 457-462

- Nishikawa, Y. 1959. Studies on reproduction in horses. Japan Racing Association. Shiba Tamuracho Minatoku, Tokyo. 31-49.
- Oguri, N, and Tsutsumi, Y. 1974. Non-surgical egg transfer in mares. *J. Reprod. Fertil.*, 41 : 313-320
- Palmer E , Draincourt M. 1980. Use of ultrasonic echography in equine gynecology. *Theriogenology* 13 : 203~216.
- Pipers F. S, Zent W, Holder R, Asbury A. 1984. Ultrasonography as an adjunct to pregnancy assessments in the mare. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. Feb 1:184(3) : 328-34.
- Pierson, R. A., and Ginther, O. J. 1985. ultrasonic evaluation of the corpus luteum of the mare. *Theriogenology*. 23 : 795-806
- Rantanen, N , Forbeck, R , DuMond, S. 1982. Early pregnancy diagnosis in the mare using transrectal ultrasound scanning techniques : A preliminary report *Equine Veterinary Science* 2 : 27~29.
- Rolfe, B. E. 1982. Detection of fetal wastage. *Fertil. steril*, 37 : 655-660
- Sato, K., M. Miyake, N. Tsunoda, T. Yoshikawa and A. Kanbegawa 1977a.  
Concentration of serum progesterone and cortisol during the oestrus cycle and early pregnancy in the mare. *Jap.J.Zootech. Sci.*, : 721-723
- Sato, K., M. Miyake, T. Yoshikawa and A. Kanbegawa 1977b.  
Studies on serum oestrogen and pregnanrone levels during the oestrus cycle and the early pregnancy in mare. *Equi. Vet,J.*, 9 : 57-60.
- Sato, K. : Releationship between progesterone and Oestrogens in serum for early pregnancy diagnosis in mares. *Zuchthygiene*, 12 : 165-171, 1977.
- Sharp, D. C. 1980. Factors associated with the maternal recognition of pregnancy in mares. In *veterinary Clinics of North Americ*

- a : Large Animal practice. Edited by J.P. Hughes Philadelphia, W.B. Saunders, pp. 277-289
- Sharp, D. C., and McDowell, K. J. 1985. Critical events surrounding the maternal recognition of pregnancy in mares. *Equine Vet. J. suppl.*, 3 : 19-22,
- Sist, M. D, Williams, J. F. and Geary, A. M. 1987. pregnancy diagnosis in the mare by immunoassay of estrone sulfate in serum and milk. *J Equine Vet, Sci.*, 7 : 20-23
- Smith I. D. 1974. Progesterone concentrations in the peripheral plasma of the mare during pregnancy. *Research of Veterinary Science. Jan*;16(1) : 114-6.
- Squires, E. L. and Ginther, O. J. 1975. collection technique and progesterone concentration of ovarian and uterine venous blood in mares. *J.Anim. sci.*, 40 : 275-281
- Stabenfeldt, G. H., Hughes, J. P., Evans, J. W., et al. 1974. Spontaneous prolongation of luteal activity in the mare. *Equine Vet. J.*, 6 : 158-163
- Stabenfeldt, G. H., Hughes, J. P., Evans, J. W., and Geschwind, I. I. 1975. Unique aspects of the reproductive cycle of the mare. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 23 : 155-160
- Stabenfeldt, G. H., and Hughes, J. P. 1980. Diagnostic endocrinology of the horse. In *Symposium on Equine reproduction, Vet.clin.North Am. : Large Anim. Pract.*, 2 : 291-302
- Terqui, M., and Palmer, E. 1979. Oestrogen patterns during early pregnancy in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 27 : 441-446
- Townson, D. H., Pierson, R. A., and Ginther, O. J. 1989. characterization of plasma progesterone concentrations for two distinct luteal morphologies in mares. *Theriogenology*, 32 : 197-204
- Villahoz, M. D. Squires, E. L., Von. J. L. and Shideler. R. 1984. Some observations on early embryonic death in mares. *J.Equine*

Vet. Science :

- Woods, G. L., Baker, C. B, Hillman, G. B. and Schlafer, D. H, 1985.  
Recent studies relating to early embryonic death in the mare.  
Equine Vet. J.Suppl., 3 : 104-107
- Zavy, M. T., Vernon, M. W., Sharp, D. C. and Bazer, F. W. 1984.  
Endocrine aspects of early pregnancy in pony mares : a  
comparison of uterine luminal and peripheral plasma levels of  
steroids during the estrous cycle and early pregnancy.  
Endocrinology 115. 214-218
- 강민수, 1998. 제주말연구. 선진인쇄사. pp. 223-249
- 강민수, 1999. 제주조랑말, 제주대학교 출판부. pp.79-89
- 강민수, 양영훈, 정창조 1996 제주마 혈통정립을 위한 표준 체형 분석,  
제주마 기준설정 및 유전자분석, 제주대학교, pp.13-19.
- 강민수, 김문철, 강태숙, 이현중, 정창조. 1985. 제주마의 혈통정립 및  
보존에 관한 연구. 제주대학교 농과대학부설 축산문제연구소.  
pp.103-128
- 강민수, 김문철, 강태숙, 이현중, 정창조. 1989. 제주재래마 혈통정립  
및 혈통등록을 위한 조사연구. 제주대학교 농과대학부설 축산문  
제연구소. PP.72-77
- 강민수, 김문철, 강태숙, 이현중, 정창조. 1990. 제주재래마 혈통정립  
및 혈통등록을 위한 조사연구Ⅱ. PP.73-75.
- 고대환. 1996. 신가축번식학.선진문화사. PP.223-251
- 박항균. 1993. 가축번식학. PP.298-328
- 손제영. 1996. 가축생리학.선진문화사. PP.446-457
- 정길생. 1995. 가축번식생리학.선진문화사. PP.329-363
- 장덕지. 1990. 제주재래마의 번식과정에 있어서 혈장 Progesterone 및  
estradiol-17 $\beta$  수준 변화에 관한 연구. 박사학위논문(제주대학교)



# Studies on the use of plasma progesterone and estradiol-17 $\beta$ concentrations for the pregnancy diagnosis in Cheju mares

Cho, Han-ho & Kang, Min-soo

Department of animal biotechnology, Cheju National University

## <Abstracts>

Through comparing the concentration change of plasma progesterone and estradiol-17 $\beta$  with the results of clinic ultrasonic diagnosis during the reproduction period of 238 mares in Cheju-island, where individual farmers breed their crossbreed by natural mating and their own breeding, this study has been carried out to find efficient methods of pregnancy diagnosis on mare in practical aspects, summary of this study is as follows;

1. Pregnant mares show average 13.43ng/ml of progesterone level and non-pregnant mares, 3.83ng/ml. In estradiol-17 $\beta$  concentration, pregnant mares show average 1,020.90pg/ml and non-pregnant mares, 12.08pg/ml. Therefore the results between pregnant and non-pregnant mares are highly correlative.

2. In clinic ultrasonic diagnosis, 89.5% pregnant mares show over 4.7ng/ml of progesterone level, 10.5% pregnant mares, less 4.6ng/ml. On the other hand, 63.5% non-pregnant mares show less 4.6ng/ml of progesterone level, 36.5% non-pregnant mares, over 4.7ng/ml. In addition, pregnant mares show over 160.9pg/ml of estradiol-17 $\beta$  level

and 90.9% non-pregnant mares, less 10.6pg/ml.

3. During breeding seasons, normally April - September, the concentration of progesterone can show early pregnancy status on Cheju mares. And on the period of October - next March, the test of estradiol-17 $\beta$ , which is in high level at the latter pregnancy period, can increase the accuracy of pregnancy diagnosis on Cheju mares in latter pregnancy.

4. The insufficient registry of blood-line and parentage test system of Cheju mares makes it difficult find the proper mating time and pregnant seasons. And the ultrasonic test of rectal intestine on Cheju mares is mostly difficult due to grazing system on the pasture and incomplete taming.

In this study, Cheju mares with over 16.9ng/ml of progesterone level or 160.9pg/ml of estradiol-17 $\beta$  level were confirmed 100% pregnant. Therefore, the pregnancy test method by the level of sex steroid hormone in mare plasma with the proper ultrasonic test shall be sufficiently an efficient screening test to save testing time and manpower, lessen the risk of injury on the mares themselves.

Key word : Cheju mares, progesterone, estradiol-17 $\beta$ , pregnancy.