

개에서 내시경을 이용한 발정주기 검사 및 인공수정 기법의 실험조사

신남식 · 문유식¹ · 최윤주 · 정동희 · 김용준* · 권오경**
용인에버랜드 동물원, 전북대 수의과대학*, 서울대 수의과대학**

Vaginal Endoscopy for Detecting Estrual Cycles and Developing Artificial Insemination Technique in the Bitch

Nam-Sik Shin, You-Sik Moon¹, Yoon-Ju Choi, Dong-Hee Chung,

Yong-Jun Kim* and Kweon-Oh Kyeong**

Yongin Everland Zoological Gardens,

College of Veterinary Medicine, Jeonbuk National University*,

College of Veterinary Medicine, Seoul National University**

ABSTRACT : The vaginal endoscopy was performed in two Labrador Retrievers from onset of vaginal bleeding until metestrus accompanying with vaginal smear and blood progesterone concentration to investigate estral changes, and the intrauterine infusion of radiopaque fluid using vaginal endoscope (rigid 25-degree endoscope, Karl Storz) was detected by radiography to determine if this technique is feasible for future artificial insemination in the dogs. During the proestrus vaginal mucous membrane folds were edematous and a large amount of clear red discharge was present. In the beginning of estrus, the mucous membrane folds were shrunk and some wrinkling of the surface of the mucous membrane folds was present and the amount of the red discharge was decreased. In the estrus there were obvious shrinkage, angulation of the membrane folds and decreasing of the discharge. In metestrus the vaginal folds started to round out and the surface appeared moist and sticky. The endoscope used for endoscopic monitoring of the vaginal mucosa was advanced until the external os of the cervix could be visualized. A plastic catheter, 8Fr gauge was manipulated into the cervical os and then advanced through into the uterus. The radiopaque fluid was injected into the uterus through the catheter and radiographs taken to detect the site of insemination using the endoscopic technique revealed the exact infusion of the fluid in the uterus, consequently to prove that this technique is usable for more successful artificial insemination in the bitch.

Key words : Vaginal endoscopy, vaginal smear

서 론

1969년 Seager²에 의해 개에서의 동결정액을 이용한 번식이 처음 보고된 이후 종견의 정액을 장기간 보존시키고 또한 멀리 떨어진 곳으로 정액을 보내어 사용하기 위한 목적으로 정액동결과 동결정액을 이용한 인공수정기법이 많은 연구가들에 의해 개발되어왔다.

그러나 개에서 자연교배로 90% 이상의 수태율을 보인 보고들이 많은데³ 비하여 동결정액을 이용한 인공수정에서는 간혹 80% 이상의 수태율⁴이 보고되긴

하였으나 상당수 보고에서 60% 이하의 수태율을 나타내었다¹. 그 이유는 해동된 동결정액은 신선정액에 비하여 활력, 생존시간, 그리고 생존율이 크게 떨어지기 때문이라고 한다⁴. 따라서 이와같은 동결정액의 유효 후 특성을 고려하면 동결정액을 이용한 인공수정에서는 정확한 인공수정시기의 판정과 가능한 수정부위와 가까운 곳에서의 정액주입이 수태의 중요 요소가 된다고 하였다¹. 이와같은 정액주입부위와 관련하여 특히 Wilson⁴은 개의 동결정액을 이용시에도 각각 유도내시경과 외과적 수술을 통해 80% 이상 수태율을 보고하였는데 외과적 수술은 수술의 부담과 시술횟수가 제한되는데 비해 내시경을 이용한 인공수정은 횡

¹Corresponding author.

수의 제한이 없고 또한 질내를 관찰하면서 인공수정의 시기결정에 활용할 수 있는 장점이 있다고 한다⁵.

이에 본 실험연구에서는 Wilson의 내시경을 이용한 인공수정기법을 활용하기 위한 전 단계로서 내시경 관찰을 통해 질의 해부학적 구조 및 발정주기에 따른 질벽의 외형변화를 내시경 관찰을 통해 조사하고자 하였고 또한 내시경과 카테타를 이용한 자궁내 정액 주입기법을 시도하여 보았다.

재료 및 방법

실험동물

실험동물은 20개월령의 골든레트리버 암컷 1두 및 11개월령의 라브라도 레트리버 암컷 1두로서, 2두 모두 동일 사육장에서 사육되어왔으며 골든레트리버는 두번째 발정기에 내시경을 이용한 질벽외형검사에 사용되었고 라브라도 레트리버는 첫번째 발정기에 내시경과 카테타를 이용한 자궁의 조영촬영에 사용되었다.

발정주기에 따른 질벽 외형변화 관찰

발정주기에 따른 질벽 외형변화의 관찰은 질도말검사와 및 혈중 프로 제스테론(progesterone) 농도검사를 함께 실시하여 이들 검사들의 결과와 비교조사하였다.

질도말검사(Vaginal Smear): 외음부 출혈이 발생된 후 발정후기까지 48시간 간격으로 질도말 사를 실시하였다. 발정후기의 판정은 질도말법에 의해 판정하였다. 생리식염수로 적신 20 cm 길이의 면봉을 질벽 배측을 따라 접근 가능한 최대의 깊이로 삽입한 후 질상피세포를 채취하였고 Quick Staining 방법으로 슬라이드를 염색하여 100와 400배의 배율로 관찰하였다. 판독은 Olson에 의한 분류법*을 사용하였다.

혈중 프로제스테론 농도검사: 프로제스테론의 혈중 농도검사를 위해 상업화 되어 있는 검사용kit (Target, Metallics, USA) (Fig 1)를 사용하였다. 검사는 외음부 출혈이 관찰된 후 6일째부터 48시간 간격으로 발정후기까지 실시되었다.

내시경을 통한 질벽의 외형관찰

사용된 내시경 장치는(Fig 2) rigid cysto-urethroscope (Karl Storz, Germany)였으며 flexible fiberglass cable을 통해 빛이 전달되는 할로겐 광원 장치를 이용하였다. 내시경의 길이는 30 cm, 경사시각은 25°이었으며 두께가 23Fr gage인 stainless steel sheath를 함께 사용하였다. 실험동물은 보조자에 의해 검사대 위에 기립자세로 고정 시킨 상태에서 검사되었으며 외음부

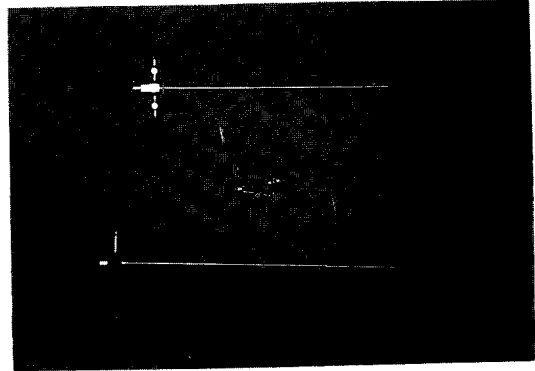


Fig 1. Cysto-urethroscope (Karl Storz, Germany).

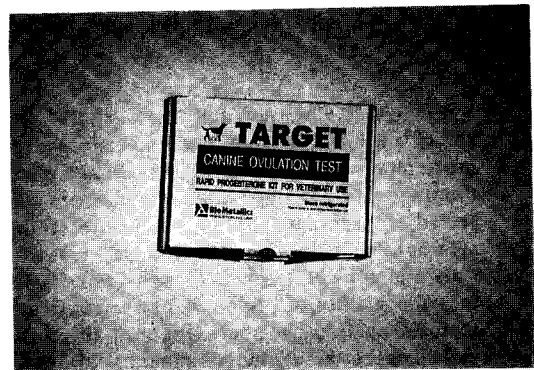


Fig 2. Blood progesterone level test kit.

출혈이 발견된 후부터 발정후기 까지 48시간 간격으로 검사되었다. 내시경이 삽입되던 외음부 주변을 베타딘스폰지로 소독한 후 외음부로 자궁경 입구까지 서서히 내시경을 진입시키고 나서 내시경을 통해 질벽의 형태, 점막의 색상, 질내 삼출물의 변화를 관찰하였다.

자궁 방사선 조영촬영

내시경을 사용한 인공수정에서 정액이 자궁내에 주입되는가를 확인하기 위한 방법으로 정액 대신 조영제를 주입하여 방사선촬영으로 확인해 보았다. X-ray 촬영 테이블 위에 실험동물을 기립상태로 고정 한 후, 내시경을 질내로 삽입하여 자궁경 입구의 위치를 확인하고,

폴리프로필렌카테타(8Fr, 60 cm)를 내시경의 삽입장치를 통해 질내로 삽입하여 확인된 자궁경 입구를 통해 자궁내로 카테타를 삽입하였다. 그리고나서 조영제(Renografin-60) 5 ml를 카테타를 통해 자궁내로 주입하였으며 주입완료된 실험동물을 측면 방사선 촬

영하였다.

결과 및 고찰

발정주기에 따른 질벽 외형변화, 질도말검사 및 혈중프로제스테론 농도 검사

발정전기의 변화: 암개의 발정전기의 변화로서 Shillie⁸는 estrogen의 혈중농도가 증가되면서 혈액성 질삼출물이 발생되고 음문이 확장되어지며 질도말표본에서 백혈구가 사라지고 적혈구가 다량 나타나며 비각화세포의 비율은 작아지고 각화세포의 수가 증가하게 된다고 하였다. 또한 Shillie⁸는 발정전기에 질점막이 비후되어 질강을 채운다고 하였다. 이 실험을 통해 관찰된 발정전기 초기(외음부 출혈발생 후 2일째)의 질점막 형태는 매끄럽고 밝으며 질벽이 종창되어 질내강을 대부분 차지하고 다량의 혈액성 삼출물이 나타났다(Fig 3). 한편, 질점막상피세포의 도말표본에선 백혈구가 발견되지않고 상당수의 적혈구가 관찰되었으며 상피세포는 대부분 비각화세포였다. 발정전기 중기(외음부 출혈 발생후 6일째)에서 주름의 형체가 질벽에 생성되었으나 질점막의 밝기와 삼출물의 양에는 변화가 없었고 종창된 질벽이 계속 질강 내부를 차지하고 있었다(Fig 4). 질점막상피세포의 도말표본에서는 약 25%의 상피세포가 각화되어 있었으며 적혈구가 다량 관찰되었다. 한편 혈중 프로제스테론 농도는 0 ng 이하이었다.

발정전기 중기(외음부 출혈 발생후 8일째)에는 질벽 종창의 정도가 약해지면서 질강에 공간이 발생되었으

며 질벽의 주름 형태가 이전보다 분명하게 나타났고 삼출물도 상당히 감소되었다(Fig 4). 질점막상피세포 도말표본에서는 약 80%의 세포가 각화되어 있었으며 적혈구의 수가 상당히 감소되었고 혈중 프로제스테론 농도는 0 ng 이하이었다.

발정기의 변화로 외음부 출혈이 발생된 후 10일째 혈중 프로제스테론 농도는 0 ng 이상으로 증가되었으며 질도말검사표본에서 90% 이상의 세포가 각화되어 있었다(Fig 9). 이때 내시경을 통해 관찰된 질벽의 형태는 주름 모양이 분명해지면서 주름의 끝부분에 약

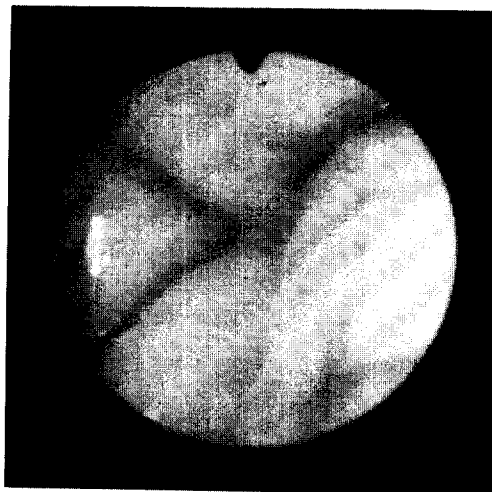


Fig 4. Mid proestrus; some wrinkling of the mucous membrane folds of the vagina is present.



Fig 3. Early proestrus; edematous stage where vaginal mucous membrane folds fill the vaginal lumen.

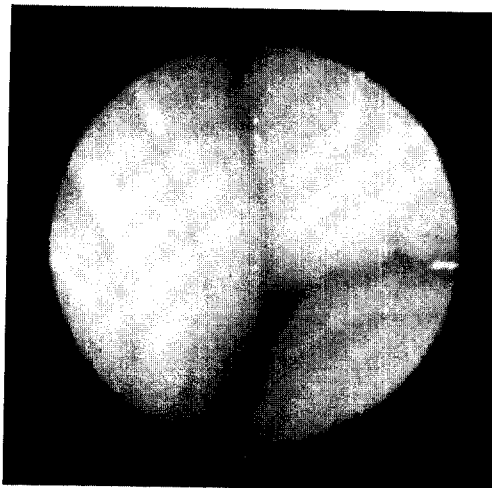


Fig 5. Late proestrus; initial shrinkage of mucous membrane folds is present.

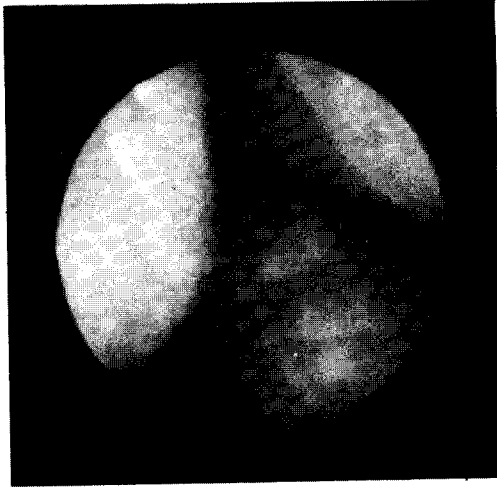


Fig 6. Early estrus; there is obvious shrinkage of the mucous membrane folds of the vagina and initial impression of angulation of the folds is apparent.

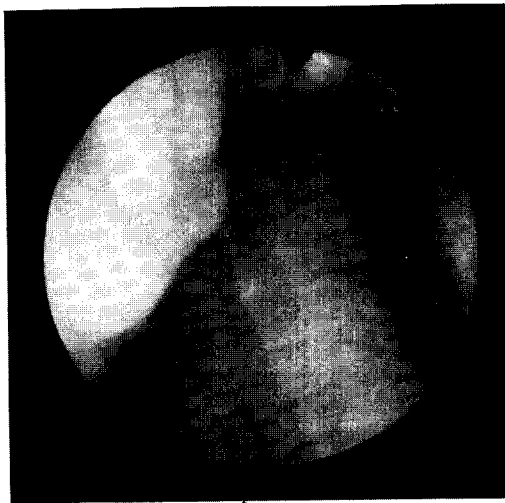


Fig 7. Mid estrus; shrinkage and angulation of the vaginal folds becoming progressive.

간의 각 모양이 형성되어 있었다(Fig 6). 외음부 출혈이 발생된 후 12일째에 질점막의 주름에 각이 뚜렷하게 형성되면서 질내 삼출물이 거의 나타나지 않았고(Fig 7) 혈중 프로제스테론 농도는 5 ng과 7 ng의 중간을 나타내었으며 외음부 출혈 발생후 13일째에 혈중 프로제스테론 농도는 7 ng으로 나타났다. 외음부 출혈 발생후 15일째에 질상피세포 도말검사서 호중구와 각화되지 않은 상피세포들이 관찰되었으며(Fig 10) 질벽의 주름은 각모양이 줄어들면서 곡선형

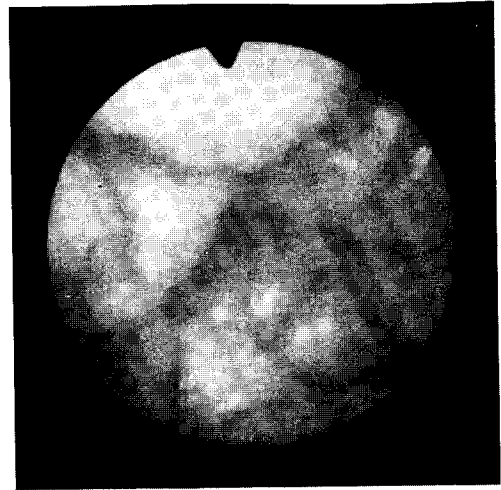


Fig 8. Late estrus; the vaginal folds are starting to 'round out'-the vaginal folds are low with a round profile.

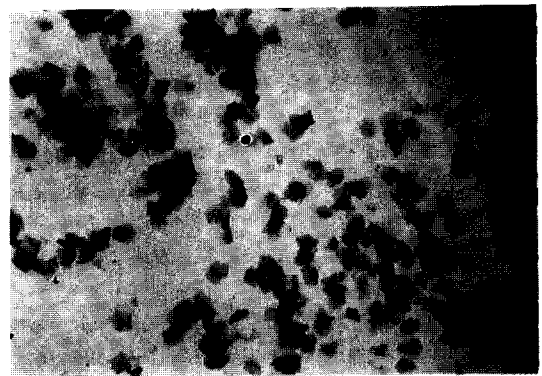


Fig 9. Vaginal smear from a bitch in estrus.



Fig 10. Vaginal smear from a bitch in early metestrus.

의 주름이 다시 관찰되었고 삼출물이 다소 생성되어 있었다(Fig 8).

혈중 프로게스테론 농도는 LH surge와 동시에 증가되기 시작한다고 하며⁹ 따라서 본 관찰조사에서 LH surge가 발생된 시점은 외음부 출혈이 발생된 후 9일째 혹은 10일째로 추정할 수가 있고 이때부터 발정기가 시작되었다고 할수 있다. 또한 외음부 출혈이 발생된 후 15일째에 질도말검사상에서 호중구와 각화되지 않은 질상피세포가 관찰되었으므로 이전에 발정말기가 시작되었음을 짐작할 수 있다. 따라서 이 실험에 이용된 라브라도 레트리버는 출혈 후 10일째부터 13일 사이가 발정기로 생각되었으며 이 기간동안 질점막의 상태는 질벽의 팽창이 상당히 줄어들었고 각진 형태의 질벽 주름이 많으며 질 삼출물도 거의 발견되지 않았다.

자궁의 방사선 조영촬영

질은 자궁에서 요도개구부까지 위치하는데 자궁과의 연결부는 자궁경과 접하여 자궁경 입구(external cervical os)가 위치하며 median dorsal fold와 lesser dorsal longitudinal fold 사이에서 발견할수가 있다. 자궁경은 분만직후나 개방성 자궁축농증을 제외하고는 카테타 삽입이 거의 불가능하다고 하였으나⁹ Anderson (1975)은 복강을 촉진하여 자궁경을 잡고 카테타를삽입하는 Norwegian technique 기법을 개발하였고¹⁰ 이 실험에서는 Wilson⁴에 의해 소개된 내시경을 이용한 인공수정기법의 실용 가능성을 확인해 보았다. (Fig 11)은 조영제를 카테터를 통해 주입하고 난후 내시경을 질내에 삽입한 상태에서 측면 촬영한 것으로 자궁내에 있는 소량의 조영제와 자궁경에서 질내로 퍼져 있는 조영제가 관찰되었다. (Fig 12)는 조영제 주입 후 10분이 경과된 상태에서 측면 촬영한것으로 자궁내의 조영제와 자궁경입구에서 질내에 위치한 조



Fig 12. Radiography of the uterus 10 minutes after injecting radiopaque fluids.

영제가 명확히 관찰되었다. 이 실험에서는 자궁내 조영이 명확하지 못하였는데 이는 실험동물이 대형견종이었지만 첫 발정상태로 자궁내 공간이 적어 조영제 주입시 많은 저항이 있었던 바 이와 같은 자궁의 압력에 의해 이 조영제가 충분히 주입되지 못한 것이 그 원인으로 생각된다.

결 론

발정견에서 내시경을 사용하여 발정시의 질내의 형태변화를 관찰하였으며 자궁내 정액을 주입하는 인공수정 기법의 실용 가능성을 확인해 보았다. 발정전기에서 질점막은 팽창되어 질내강을 거의 차지하고 있었고 질내에 많은 양의 혈액성 삼출물이 존재하였다. 발정기에 근접하면서 팽창의 정도가 작아지고 질벽의 주름이 분명해졌으며 주름에 각모양이 형성되었고 삼출물이 감소되었다. 발정후기에서는 주름의 각모양이 사라지면서 부드러운 형태가 되었으며 소량의 삼출물이 다시 발생되었다.

내시경으로 자궁경 입구를 찾아 카테타를 자궁에 삽입하여 카테타를 통해 조영제를 주입하고 방사선 촬영으로 자궁내 조영제 주입을 확인하였으며 이를 통해 내시경을 이용한 자궁내 정액주입의 인공수정이 가능함을 확인할 수 있었다.

참고문헌

1. Concannon PW, Battiata M. Canine semen freezing and artificial insemination. *Curren Veterinary Thera-*

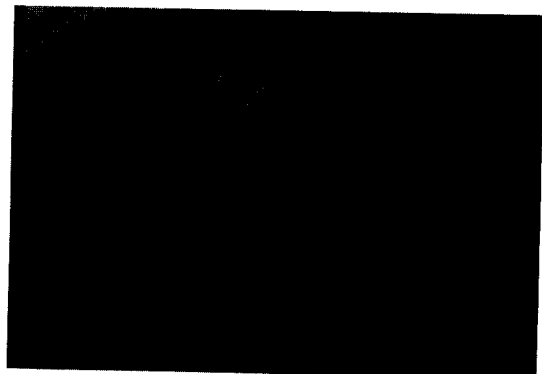


Fig 11. Radiography of uterus immediately after injecting radiopaque fluid.

- phy X. W. B. Saunders, Philadelphia, 1989; p1253.
2. Seager S, Fletcher W. Collecting, storage and insemination of canine semen. *Laboratory Animal Science*, 1972;22 pp177-179.
 3. Catharina Linde-Forsberg. Achieving canine pregnancy by using frozen or chilled semen. *Veterinary Clinics of North America*, 1991;21(3) pp467-470
 4. Wilson MS. Artificial insemination in the bitch, using frozen semen, 1992; 32-56
 5. Schille VM. Management of reproductive disorders in the bitches and queen. *Current Veterinary Therapy IX*, W. B. Saunders, Philadelphia, 1986; pp1225-1229
 6. Farstad W. Bitch fertility after natural mating and after artificial insemination with fresh or frozen semen, *Journal of Small Animal Practice*, 1984;25: pp211-217
 7. Lindsay FEF, Concannon PW. Normal Canine vaginotomy in small animal reproduction and infertility. Lea & febiger, Philadelphia, pp112-120
 8. Shillie VM. Reproductive physiology and endocrinology of the female and male. *Textbook of Veterinary Internal Medicine 3rd ed.*, California, p 1799
 9. Johnston SD. Canine reproduction. University of Minnesota, 1989; pp25-30
 10. Anderson K. Insemination with frozen semen based on a new insemination technique. 1976; p185