

## 초음파상을 이용한 제주마의 난소, 난포 및 황체의 크기 측정

유재규 · 강민수<sup>1</sup> · 손우진 · 윤영민 · 이주명 · 강태영<sup>†</sup>  
제주대학교 수의학과

## Measurement of Size of Ovaries, Follicles, and Corpus Lutea by Ultrasonography with Jeju Horse

J. G. Yoo, M. S. Kang<sup>1</sup>, W. J. Son, Y. M. Yun, J. M. Lee and T. Y. Kang<sup>†</sup>

Department of Veterinary Medicine, Cheju National University

### SUMMARY

The purpose of the present study was to set up basic information of size and status of ovaries by using ultrasonography to retrieve *in vivo* matured oocytes with ovum pick-up method. Ovaries were collected from the abattoir in Jeju in May and June which is breeding season. When the size of ovaries on ultrasonography was compared with real size measured by caliper, no significant difference was shown ( $p < 0.05$ ). The number of preovulatory follicles ( $> 21$  mm) was investigated with ultrasonography and naked eyes. Ultrasonography group had 0.83 preovulatory follicles per ovary and naked-eye group had 0.75 preovulatory follicle per ovary and their average size was 2.86 cm and 2.34 cm, respectively. The average number of follicle was 4.25 with ultrasonography and 4.38 with naked eyes. There was no significant difference considering the size of follicle and number of follicle between ultrasonography and actual size except for the size of preovulatory follicle, suggesting that information of ultrasonography is able to use for OPU or other reproductive technology of mare.

(Key words : Jeju horse, ultrasonography, follicle, OPU)

### 서 론

수정란 이식 기술은 우수한 품질의 산자를 증가시키기 위해서 소에서 널리 적용되고 있는 기술이다. 근래에 많은 수의 체외 생산된 수정란이 소에 이식되고 있지만, 초음파를 이용하여 살아있는 동물의 체내에서 성숙된 난자를 채취하는 기술(Ovum Pick Up, OPU)을 이용하여 생산된 수정란의 이식 또한 널리 이용되고 있다(Van der Shans 등, 1991; Pieterse 등, 1988). 또한, OPU는 그 자체로도 난소낭종이 있는 불임동물에 있어서 치료용으로도 사용이 될 수 있다.

반면에 말은 다른 반추 동물에 비해 그 해부학적 및 생리학적 특성 때문에 난자의 채취는 아주 복잡하다고 할 수 있다(Hinrichs 등, 1998). 이에 미성숙 난자의 채취는 소에서와 마찬가지로 질을 통해서 실행되지만, 난자의 회수율을 높이기 위해서 보다 많은 양의 용액을 이용한 난포관류가 필요로 한다. 난자의 회수율은 약 18~35%를 보이고 있으며(Bruck 등, 1997), 배란 직전의 난포를 채취했을 때보다 높은 회수율을

보였다고 보고되고 있다(Palmer 등, 1991). 이와 같은 OPU 기술은 진단학적 초음파 기구가 사용되기 시작하였고, 이 기술을 사용하여 직장을 통해 대동물의 생식기 관찰에 대한 연구 또한 동시에 시작되었다.

체내 성숙 난자를 채취하는 방법에는 난소 채취 후 채취 방법(Vogelsang 등, 1987), 옆구리 쪽 피하를 관통하여 채취하는 방법(Hinrichs, 1991; Mckinnon 등, 1988; Hinrichs와 Kenney, 1987; Vogelsang 등, 1987), 질을 통하여 초음파를 이용해서 채취하는 방법(Bracher 등, 1993; Carnevale과 Ginther, 1992) 등이 있다. 그 중에서 질을 통해서 초음파 유도 난포란 채취 방법이 가장 최근에 널리 사용되고 있다.

본 연구는 제주마에서 초음파 유도 난포란 채취 기술을 기초 단계로서 도축장 유래 제주마의 난소를 이용하여 초음파 상에 난소, 난포 및 황체의 크기를 초음파 기구를 이용하여 실제 크기와 초음파상을 비교하고자 하였고, 실제 육안적으로 알 수 있는 난포수와 탐촉자를 통한 난포수를 비교하여 난포란 채취에 기본적인 자료로 이용하고자 하였다.

\* 본 연구는 농업진흥청 농업특정연구과제(과제번호 20070201033023)의 지원으로 수행되었음.

<sup>1</sup> 제주대학교 생물산업학부(Major of Animal Science and Biotechnology, Cheju National University)

<sup>†</sup> Correspondence : E-mail : tykang87@cheju.ac.kr

재료 및 방법

1. 난소 수송 및 채취

난소는 제주지역 축산물 공판장에서 도축되는 제주말로부터 채취하여 penicillin G(100 IU/ml)와 streptomycin(100 µg/ml)이 첨가된 식염수에 담긴 상태로 보온병의 온도를 30~33°C로 유지하여 본 연구실에 즉시 이동시킨 후 사용하였다.

2. 초음파 측정

본 실험에서는 Tringa Linear VET(ESAOTE Pie Medical) 초음파로 직장용 탐촉자(Trans-rectal probe, the dual frequency 5/7.5 MHz)를 생리식염수속에서 난소와 난소 내 난포와 황체의 크기를 측정하였다.

3. 난소 및 난포의 측정

생리식염수 속에 직장용 탐촉자로 난소와 난포 및 황체를 측정 후 물기를 제거하고 외과용 가위와 포셉을 이용하여 외피를 깔끔하게 제거한 후, caliper를 이용하여 정확한 난소의 길이와 너비를 측정하여 초음파상에 측정된 크기와 비교하였고, 측정 시 발정기와 황체기에 해당되는 난소에서 관찰되는 난포와 황체의 직경 크기를 측정 비교하였다. 그리고 초음파상과 caliper 측정에 따른 크기에 따라 난소를 5~10, 11~20 및 21 mm 초과와 같이 3단계로 분류하였다.

4. 통계 처리

본 연구에서 얻어진 실험 결과의 통계 처리는 난소의 크기, 난포와 황체의 크기는 Mean±SD로 나타내었다. 실제 크기와 초음파상의 수치는 one-way analysis of variance(ANOVA)를 이용하여 분석하였으며,  $p < 0.05$ 일 때 유의적 차이를 인정하였다.

결 과

1. 난소의 초음파상

제주마의 난소에는 초음파상으로 난소 당 0.83개가 크기가 2 cm 이상의 난포를 가지고 있었다. 초음파상에서 난포액으로 차 있는 난포는 검은색을 띠었으며, 그 크기가 작은 것은 작은 원형의 반점으로 보였고, 크기가 클수록 주변의 난소실질과의 구분이 뚜렷했다(Fig. 1B). 황체는 초음파상에서 난포처럼 뚜렷하게 난소실질과 구분이 되지 않지만, 회색조의 에코상을 보였고, 그 크기가 클수록 주변과 구분이 잘 되었다(Fig. 1A).

2. 난소의 크기 비교

제주마의 난소의 실제 크기를 표피를 제거한 후 caliper로 측정하였을 때, 평균 길이가 4.79 cm, 너비는 3.46 cm로 나타났다. 직장용 탐촉자를 이용하여 초음파상에 나타난 난소의 길이는 5.11 cm, 너비는 3.76 cm로 실제 크기와 유의적 차이 ( $p <$

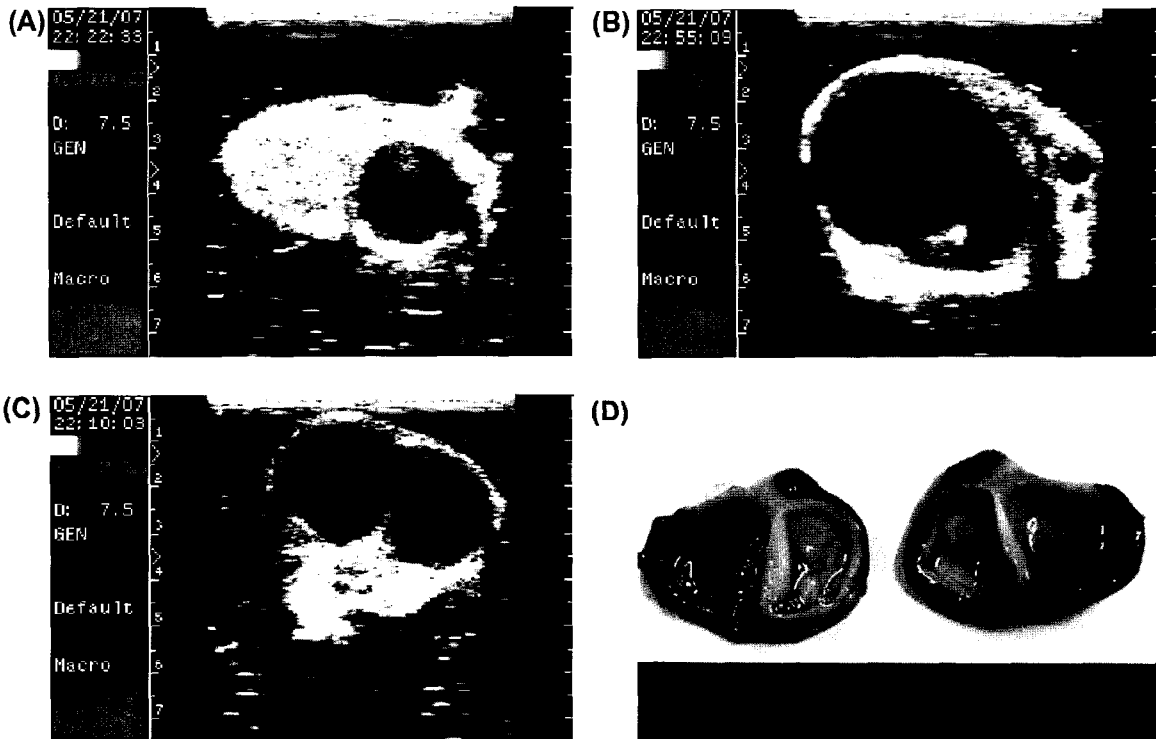


Fig. 1. An ultrasonogram of equine ovaries under saline using a rectal probe.

0.05)는 없었으나 약간 크게 나타났다 (Table 1).

### 3. 난포의 크기와 황체의 크기

발정기의 난소에서 보이는 배란 직전의 난포의 직경은 caliper로 측정하였을 때 평균 2.34 cm이고, 초음파상으로는 2.86 cm로 나타났으며, 황체기의 난소에 있는 황체의 크기는 caliper로 측정하였을 때 2.05 cm, 초음파상으로 측정하였을 때는 2.58 cm로 나타났다.

### 4. 난포 수의 비교

24개의 도축장 유래 제주마의 난소를 이용하여 난소내 난포의 크기를 caliper와 초음파를 이용하여 각각 작은 난포(5~10 mm), 중간 난포(11~20 mm), 큰 난포(> 20 mm)로 나누어 구분하여 비교하였다. 난소의 표피를 제거한 후 실제 눈으로 관찰하였을 때, 24개의 난소에 총 105개의 난포가 관찰되었고, 초음파상으로는 102개가 관찰되어 난소당 평균 각각 4.38, 4.25개로 나타났다. 작은 난포는 눈으로는 56개로 난소 한 개당 평균 2.33개, 초음파상으로는 총 50개 평균 2.08개로 나타

났다. 중간 난포는 눈으로는 총 31개로 난소 한 개당 평균 1.29개, 초음파상으로는 총 32개, 평균 1.33개로 나타났으며, 큰 난포는 눈으로는 18개로 난소 한 개당 평균 0.75개, 초음파상으로는 총 20개 평균 0.83개로 나타났다.

## 고 찰

인공수정과 함께 수정란 이식(Embryo transfer, ET) 기술은 말 번식 분야에서 번식 보조 기술로 원칙적으로 사용된다(Hinrichs, 1991). 이 기술을 통해서 유전적으로 우수한 말로부터 많은 수의 산자를 생산할 수 있고, 배아 동결 그리고 불임에도 적용할 수 있다(Sertich, 1989; Squires 등, 1999). 배란 관련 불임마의 성공적인 대책 범으로는 체내 성숙된 난을 채취하여 수정된 암말의 난관에 이식하는 방법(Carnevale과 Ginther, 1993; Hinrichs 등, 1999) 또는, 체외수정이 쉽지 않기 때문에, 세포질 내 정자 주입법(Intracytoplasmic sperm injection, ICSI)을 이용하여 수정된 배아를 난관 내 이식하는 방법(Hinrichs, 1998; Squires, 1996) 등이 사용되고 있다.

초음파를 이용하여 배란 직전의 난포에서 난자를 채취(aspiration)하는 것은 말의 난자 이식(oocyte transfer)기술에 중요한 기술로서, 현재 말에서 적용 중에 있는 기법이다. 진단 초음파는 말, 소에서 번식 기관을 관찰하는데 효과적인 방법으로, 특히 수정란 이식 산업에 널리 적용되고 있다. 초음파 기술은 살아있는 동물의 내부 장기를 아주 빠르고 비침투적으로 관찰할 수 있는 장점을 가지고 있다. 특히, 소, 말과 같은 동물에서 난소의 난포 발달 주기, 황체의 크기 변화 그리고 태아와 자궁의 변화 양상을 초음파를 통해서 관찰할 수 있다(Pierson 등, 1988). 초음파상에서 난포는 난포액이 있어, 초음파상에 검게 나타나면서 주변의 난소실질과 잘 비교가 되며, 황체는 기질과 달리 뚜렷한 경계를 보인다(Pierson 등, 1988). 본 연구에서도 말의 난포는 초음파상에서 원형 또는 타원형을 보였으며, 뚜렷한 경계선을 보이는 검정색의 무에코상을 보였지만, 황체는 그 경계를 관찰하기 어려웠으나, 주의 깊은 관찰 시에 그 경계를 확인할 수 있었다. 크기가 큰 성숙 황체는 크고 원형이며 초음파상으로 비교적 균등한 구조를 보였

Table 1. Comparison of size of ovary between sonogram and actual size

Methods of measurement	No. of ovaries	Ovary	
		Length (cm)	Width (cm)
Actual size	24	4.79±0.97	3.46±0.67
Rectal probe	24	5.11±1.05	3.76±0.73

Table 2. Measurement of diameter of preovulatory follicles and corpus lutea with rectal probe

Methods of measurement	No. of ovaries	Follicle (cm)	Corpus luteum (cm)
Actual size	24	2.34±0.79	2.05±0.25
Rectal probe	24	2.86±0.81	2.58±0.31

Table 3. Comparison of follicle numbers in ovaries between sonogram and naked eyes

Methods of observation		Diameter of follicles			Total follicles
		5~10 mm	11~20 mm	> 21 mm	
Naked eyes	Total No. of follicles	56	31	18	105
	Mean No. of follicles/ovary	2.33±2.01	1.29±0.98	0.75±0.31	4.38
Sonograms	Total No. of follicles	50	32	20	102
	Mean No. of follicles/ovary	2.08±1.59	1.33±1.01	0.83±0.52	4.25

으며, 뚜렷하게 구분되는 회색의 영상을 보여 난소의 실질과 구분할 수 있었다.

본 연구는 초음파 유도 난포란 채취를 위한 기본 기술과 자료를 습득하기 위하여 수행되었다. 먼저 난소의 크기를 실제 크기와 초음파상의 크기를 비교 조사하였을 때 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그리고, 본 실험은 말의 번식 시즌인 5, 6월에 실시되었는데, 초음파상으로는 말 한 마리당 평균 1.66개, 육안으로 평균 1.5개의 배란 직전의 난포를 관찰할 수 있었으며, 난소마다 초음파상으로 평균 4.25개, 육안으로 평균 4.38개의 난포를 보여, 초음파상이 육안으로 직접 관찰하였을 때와 유의적으로 차이를 보이지 않았다. 이 결과로 보아, 직장용 탐촉자를 이용한 초음파상의 크기가 실제로 적용할 수 있음을 알 수 있었다.

## 적 요

본 연구는 도축된 제주마의 난소를 이용하여 초음파 유도 난포란 채취 기술을 확립하고자 난소, 난포 및 황체의 크기를 초음파상과 육안적 측정치를 비교하고자 하였다. 초음파상 측정치와 caliper를 이용한 실제 크기의 측정치 비교에서는 통계학적 차이는 보이지 않았다. 배란 직전의 난포를 조사한 결과, 초음파상에서 관찰한 것은 난소 한 개 당 평균 0.83개와 평균 크기는 2.86 cm였으며, 육안으로 관찰된 것은 난소 한 개 당 평균 0.75개와 평균 크기는 2.34 cm였다. 난소 한 개 당 평균 난포 수는 초음파상에서는 4.25개와 육안에서는 4.38개였다. 제주마 난소의 난포 크기 및 수를 초음파상과 육안으로 조사하였던 바, 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 이러한 결과로 차후 초음파를 이용한 OPU와 말에서 번식 기술과 관련된 연구에 기초 정보가 제공되리라 사려된다.

## 참고문헌

- Bracher V, Parlevliet JM, Pieterse MC, Vos PL, Wiemer P, Taverne MA and Colenbrander B. 1993. Transvaginal ultrasound-guided twin reduction in the mare. *Vet. Rec.*, 133: 478-479.
- Bruck I, Synnstedt B and Greve T. 1997. Repeated transvaginal oocyte aspiration in unstimulated and FSH-treated mares. *Theriogenology*, 47:1157-1167.
- Carnevale EM and Ginther OJ. 1992. Relationships of age to uterine function and reproductive efficiency in mares. *Theriogenology*, 37:1101-1115.
- Carnevale, EM and Ginther OJ. 1993. Use of a linear ultrasonic transducer for the transvaginal aspiration and transfer of oocytes in the mare. *J. Equine Vet. Sci.*, 13:331-333.
- Hinrichs K and Kenney RM. 1987. Effect of timing of progesterone administration on pregnancy rate after embryo transfer in ovariectomized mares. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 35: 439-443.
- Hinrichs K, Matthews GL, Freeman DA and Torello EM. 1998. Oocyte transfer in mares. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 212: 982-986.
- Hinrichs K, Provost PJ and Torello EM. 1999. Birth of a foal after oocyte transfer to a nonovulating, hormone-treated recipient mare. *Theriogenology*, 51:1251-1258.
- Hinrichs K. 1991. The relationship of follicle atresia to follicle size, oocyte recovery rate on aspiration, and oocyte morphology in the mare. *Theriogenology*, 36:157-168.
- Hinrichs K. 1998. Production of embryos by assisted reproduction in the horse. *Theriogenology*, 49:13-21.
- McKinnon AO, Squires EL, Harrison LA, Blach EL and Shideler RK. 1988. Ultrasonographic studies on the reproductive tract of mares after parturition: effect of involution and uterine fluid on pregnancy rates in mares with normal and delayed first postpartum ovulatory cycles. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 192:350-353.
- Palmer E, Bezaud J, Magistrini M and Duchamp G. 1991. *In vitro* fertilisation in the horse. A retrospective study. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 44:375-384.
- Pierson RA, Kastelic JP and Ginther OJ. 1988. Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horses. *Theriogenology*, 29:3-20.
- Pieterse MC, Kappen KA, Kruij TA and Taverne MA. 1988. Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology*, 30:751-762.
- Sertich PL. 1989. Transcervical embryo transfer in performance mares. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 195:940-944.
- Squires EL, McCue PM and Vanderwall D. 1999. The current status of equine embryo transfer. *Theriogenology*, 51: 91-104.
- Squires EL. 1996. Maturation and fertilization of equine oocytes. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.*, 12:31-45.
- Van der Shans A, van der Westerlaken LAJ, de Witt AAC, Eyestone WH and De Boer HA. 1991. Ultrasound-guided transvaginal collection of oocytes in the cow. *Theriogenology*, 35:288.
- Vogelsang MM, Kraemer DC, Potter GD and Stott GG. 1987. Fine structure of the follicular oocyte of the horse. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 35:157-167.