

## 미성숙 Wistar 랫트에서 ANTORIN R-10이 난소형태, 난포발육 및 혈중 호르몬 농도에 미치는 영향

강은주 · 류재규 · 송혜진 · 송승희\* · 노규진 · 최상용<sup>1</sup>

경상대학교 수의과대학, 동물의학연구소

\*창원전문대학 애완동물관리과

### Effects of ANTORIN R-10 on Ovarian Morphology, Follicular Development and Serum Estradiol Level in Immature Wistar Rats

Eun-Ju Kang, Jae-Gyu Yoo, Hye-Jin Song, Seung-Hee Song\*, Gyu-Jin Rho and Sang-Yong Choe<sup>1</sup>

Institute of Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea.

\*Department. of Pet Management, Chanwon college, Chanwon, Korea.

**Abstract :** This study evaluated the effect of ANTORIN R-10 (pFSH), a commercially available follicle stimulating hormone on ovarian morphology, on follicular development and serum estradiol levels in rats. Immature female Wistar S/T rats (27 day old; 80-100 g B.wt) maintained under controlled environmental conditions (22±2°C; 50% humidity; 12 h light/12 h dark cycle) with free access to standard laboratory feed and tap water were utilized. Animals were allowed to acclimatize to the new environment for at least 2 weeks before being included in the experiment. Rats were randomly allotted to 5 groups (Control, SL 0.1AU, SH 0.2AU, TL 0.1AU and TH 0.2AU). ANTORIN R-10 was subcutaneously injected twice daily for 3 days. Twenty hours after hormone treatment, blood was collected to estimate the serum estradiol 17-β concentration. Immediately, all rats were sacrificed and the ovarian morphology, ovary weight and number of follicles were recorded. Ovaries were fixed for histomorphological examination. Higher standard and treatment groups were significantly increased on ovary weight and the number of follicles more than 1mm compared with lower standard and treatment. However, no difference revealed between standard and treatment groups. ANTORIN R-10 was similar effects of follicles development and maturation compared with House standard FSH.

**Key words :** ANTORINR-10, FSH, follicular development, rat.

## 서 론

Follicle stimulating hormone(FSH)은 분자량이 약 30,000 Da 정도의 당단백질로 사람과 소에서 발정유도, 동기화 및 과배란처리에 널리 이용되며, luteinizing Hormone(LH)과 공동작용으로 난포 및 난자성숙을 도모하고 성호르몬을 합성하게 한다. 난포막은 난포막세포(the cal cell)와 과립막세포(granulosa cell)로 구성되며, LH가 난포막세포를 자극하여 콜레스테롤(cholesterol)로부터 안드로젠(androgen)을 합성하게 한다(11,12). FSH가 투명층세포의 수용체를 자극하여 aromatase의 cytochrome P450의 발현을 증가시켜 aromatase가 과립막세포안으로 확산된 안드로젠을 에스트로젠(estrogen)으로 전환시킨다(9,18). 합성된 에스트로젠은 positive feedback mechanism에 의해서 과립막세포의 FSH 수용체와 과립막세포 수를 증가시키고(11,12,25), 또한 FSH와 협력하

여 과립막세포에 LH 수용체를 발현시킨다(10,27). 이러한 작용으로 난소가 발달하고 부피가 커져 무게가 증가하게 되는 것이다.

현재 동물임상에서 사용되고 있는 FSH제제들은 주로 양이나 돼지의 뇌하수체 follitropin 추출물을 정제한 것이며(2,8). 이 제제의 효과는 follitropin 추출물에 포함되어 있는 FSH와 LH의 비율에 의해 좌우되며 FSH의 양이 많을수록 더 좋은 효과를 나타낸다(5,6). 따라서 상업적으로 쓰이는 제제들의 효과는 뇌하수체 추출물을 정제한 FSH의 순도에 달려있다.

FSH는 반감기가 극히 짧고 비용이 고가라는 단점이 있지만, 상대적으로 작용기간이 길고 비용이 저렴한 gonadotropin 계열의 pregnant mare serum gonadotropin(PMSG) 보다 널리 사용되는 이유는 반복적으로 투여 했을 때도 일정한 과배란 반응을 보이기 때문이다. PMSG는 긴 반감기 때문에 배란 후에도 잔존하여 난포의 성숙을 유도함으로 에스트로젠이 기대 이상으로 증가하여 초기 배발달에 좋지 않은 영향(1,3,23)을 미칠 뿐 아니라 수정이 이루어지지 않을 경우

<sup>1</sup>Corresponding author.  
E-mail : sychoe@gsnu.ac.kr

배란지연이나 난포낭종의 발생 빈도가 높아진다(7,26). 이러한 이유로 항 PMSG를 사용함으로써 양질의 수정란 회수를 도모하였지만(24), PMSG의 반복적인 투여는 항 PMSG의 사용과 관계없이 불규칙한 과배란 반응을 보였다(15). 따라서 양질의 수정란을 생산하고 항체를 형성하지 않는 FSH제 재가 널리 이용되게 되었다.

현재 우리나라에서는 FSH제재로 FOLLTROPIN-V(Vetrepharm, Canada Inc)를 주로 사용하고 있으며, 작용기간을 연장시키고 단가를 줄이기 위하여 체내에서 흡수 지연을 유발하는 고분자 유기물질인 polyvinyl pyrrolidone(PVP)나 polyethylene glycol(PEG) 같은 물질을 동반 투여하는 시도도 이루어지고 있다(32,33). 또한 일본에서 상용되고 있는 ANTORIN R-10 (pFSH, Denka Chemical Co, Kawasaki Pharmaceutical, Japan)은 FOLLTROPIN-V에 비해 가격이 저렴하고, 일본 후우와 홀스타인(22)에서는 널리 사용되고 있으며, 한우에 적용했을 때도 FOLLTROPIN-V와 유사한 과배란 결과를 얻었다는 보고가 있다(30).

본 실험은 미성숙 Wistar rat을 이용하여 ANTORIN R-10을 난소의 형태, 난포의 발육정도 및 혈중 호르몬 농도변화 측면에서 house standard FSH(NO. 404031; Kawasaki Pharmaceutical, Tokyo, Japan)와 비교하여 효과를 관찰하였다.

## 재료 및 방법

### 실험동물

암컷 27일령 Wistar S/T 랫트(Japan SLC, Inc Inasa Production Facility) 50마리를 각 10마리 씩 5군으로 분류하였으며, 사료(AIN-76A Purified Rodent Diet, Fyets Inc.)와 물은 자유 급식시켰고, 실내온도는  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도는 약 50%, 접등은 12시간 간격으로 실시하였다. Bovine serum albumin(BSA, 0.1%, Sigma A-7888)이 함유된 생리식염수 희석액 3 ml에 human chorionic gonadotropin (hCG, CHORULONR Intervet) 40 IU를 첨가하여 표준용액 House standard (NO. 404031) 11.9 AU/Ampoule과 시료용액 ANTRIN® R-10 10 AU/ampoule을 각각 0.1 AU 저용량과 0.2 AU의 고용량을 준비하여  $4^\circ\text{C}$  냉장보관 후 0.5 ml씩 하루 2번 3일간 피하로 투여하였다. 마지막 호르몬 처치 20시간 후 경추탈골법으로 도살한 후, 복강을 절개하여 하행동맥에서 혈액을 채혈하고 양쪽 난소를 적출하였다.

### 난소중량과 난포 수 측정

적출한 양쪽 난소를 난소낭을 제외한 지방질 및 부착된 일부 조직을 제거한 후 전자저울로 질량을 측정함과 동시에 1 mm 이상의 난포는 랫트에서 성숙난포를 의미하므로 control 군을 제외한 4개의 처리군에서 각각 5개씩 그 수를 측정하였다.

### 조직학적 분석

난소중량 측정 후 10% 포르말린에 3일간 고정된 다음 수세, 탈수과정을 거쳐 파라핀을 침투(포매; embedding)시켰다.

회전식 박절기(Leica, Jung histo 802, Germany)를 이용하여 난소 조직을  $5 \mu\text{m}$  두께로 박절(sectioning)하고, slide glass에 부착한 후, 탈파라핀 과정을 거쳐 Hematoxylin-Eosin 염색을 하여, 재수화(rehydration)과정 후 mounting하여 광학현미경 (Nikon, ECLIPSE, TE300, Japan) 80배율에서 난포 및 난자의 형태를 관찰하였다.

### 방사선 면역분석(RIA)

채혈한 혈액을 원심하여 혈청을 분리한 다음 estradiol 17- $\beta$ 수치를 측정할 때까지  $-20^\circ\text{C}$ 에 보관하였다. Estradiol 17- $\beta$ 수치는 Intermedico DPC Coat-a-Count RIA kit(Intermedico/DPC, Los Angeles, CA, USA)를 이용하여 혈청내 항원이 kit 항원( $^{125}\text{I}$ -Estradiol)과 경쟁적으로 kit 항체(Rabbit Estradiol antibody)에 부착되면, Automatic Gamma Counter(1470 Wizard/PerkinElmer/Finland)로 kit 항원( $^{125}\text{I}$ -Estradiol)을 인식하여 측정하였다.

### 통계분석

ANTORIN R-10와 House standard FSH의 비교는 two-way ANOVA를 사용하였으며, 검사항목은  $\text{mean} \pm \text{SEM}$ 로 산출하였다. 평균치 차에 대한 검정은 t-test를 실시하였고 유의수준은  $P < 0.05$ 로 하였다.

## 결 과

### 난소중량

정상적인 30일령 암컷 Wistar S/T 랫트의 난소 중량은 control 군에서 보이는 바와 같이  $11.1 \pm 1.5 \text{ mg}$  인 반면 고용량군과 저용량군에서는 각각 고용량 표준군  $56.5 \pm 8.9 \text{ mg}$ , 고용량 시료군  $57.5 \pm 10.2 \text{ mg}$ , 저용량 표준군  $43.5 \pm 6.6 \text{ mg}$ , 저용량 시료군  $43.2 \pm 5.8 \text{ mg}$ 으로 측정되었다. 표준군과 시료군의 경우 고용량군과 저용량군 보다 난소중량은 유의적인 ( $P < 0.05$ ) 증가를 보였다. 고용량군에 대한 표준군과 시료군, 저용량군에 대한 표준군과 시료군 간에는 유의적 차이는 나타나지 않았다(Fig 1).

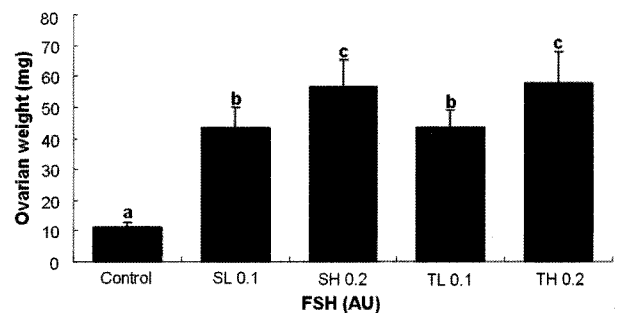


Fig 1. Effect of FSH (ANTRIN R10) on ovarian weight at 20 hours after final administration. Control, no treated; SL, Standard Lower; SH, Standard Higher; TL, Treatment Lower; TH, Treatment Higher.  $n = 10$ ,  $\text{mean} \pm \text{SEM}$ ,  $P < 0.05$

**난포수**

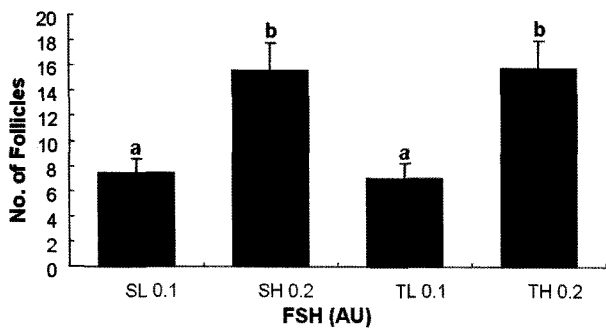
본 논문에 결과가 언급되지 않았지만 가시난포의 직경은 control의 경우 약 2~3 mm, 고용량군은 약 6 mm, 저용량군은 약 5 mm로 측정되었다. 또한 1 mm이상의 난포 수는 고용량 표준군에서 15.6±2.2개, 시료군 15.8±2.2개, 저용량 표준군에서 7.4±1.1개, 시료군 7±1.2개 였지만, control군에서는 1 mm이상의 난포는 확인할 수 없었다(Fig 2). 그러나 각군에서 난소 당 전체적인 가시난포의 수는 비슷한 양상을 보였다. 표준군과 시료군 사이에 난포 수에 대한 유의적 차이 ( $P<0.05$ )는 없었고, 고용량군과 저용량군 사이에는 난포수에 대하여 유의적인 차이 ( $P<0.05$ )를 보였다. 그러나 저용량군에서 난포강이 형성되지 않은 증식된 난포가 많았으며 특히, 저용량 시료군에서 더 많이 나타났다.

**조직학적 분석**

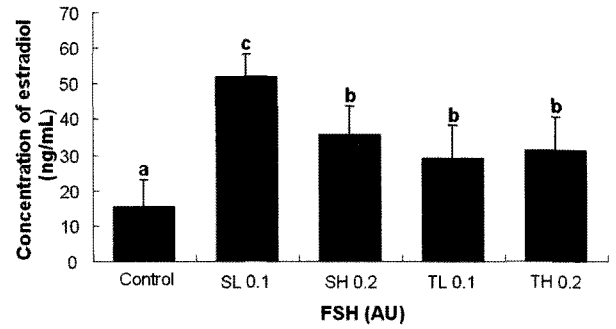
난소 중량과 난포 직경의 결과치와 유사하게 난포의 조직학적인 모양도 control에 비해 각군이 약 5배 정도의 표면적 증가를 보였다. Control의 경우는 대부분이 1차 2차 난포였고, 드물게 0.6 mm 정도의 난포가 확인되었다. 표준 저용량군에서 Graafian follicle이 관찰되었고, 난포강을 형성하지 않고 증식된 과립막세포(granulosa cell)로 채워진 난포들을 다수 볼 수 있었다. 저용량 시료군의 경우 Graafian follicle은 거의 볼 수 없었으며, 난포강을 형성하는 중이거나 표준 저용량군처럼 증식한 과립막세포로 채워진 큰 난포를 확인할 수 있었다. 고용량 표준군과 시료에서는 비슷하게 난소 외곽 쪽으로 Graafian follicle들이 다수 있고, 그 안쪽으로도 난포강은 형성하지 않았지만 과립막세포의 증식 난포를 볼 수 있었다. 표준 고용량군에서 가장 큰 난포강을 형성하였다. 하지만 거의 대부분의 난포에서 배란점은 확인되지 않았다(Fig 3).

**혈청 내 estradiol 17-β 농도검사**

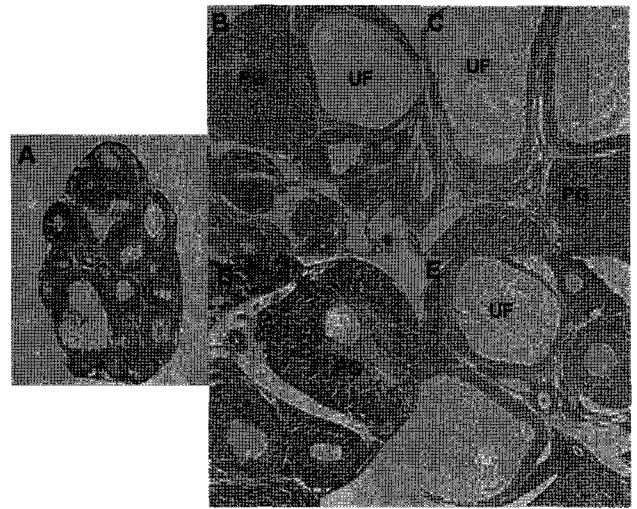
마지막 약물처리 20시간 후 채혈한 혈청 내의 estradiol 17-β의 농도는 control군은 15.5±7.5 pg/ml, 고용량 표준군은 35.5±8.3 pg/ml, 시료군은 31.0±9.7 pg/ml, 저용량 표준군은



**Fig 2.** Effect of FSH (ANTRIN R10) on number of follicles more than 1 mm. SL, Standard Lower; SH, Standard Higher; TL, Treatment Lower; TH, Treatment Higher. n = 5, mean ± SEM,  $P<0.05$



**Fig 3.** Effect of FSH (ANTRIN R10) on serum estradiol 17-β level at 20 hours after final administration. Control, no treated; SL, Standard Lower; SH, Standard Higher; TL, Treatment Lower; TH, Treatment Higher. n = 10, mean ± SEM,  $P<0.05$ .



**Fig 4.** Histological morphology of ovaries in different treatment groups. A: non-treated group. B: Standard Lower group, C: Standard Higher group, D: Treatment Lower group, E: Treatment Higher group. n = 4, mean ± SEM,  $P<0.05$ . SL, SH and TH contain unruptured large follicles (UP). Especially SH and TH are more than SL. Others follicles contain proliferated granulosa cells (PG). TL is not large follicles. Ovaries took the photograph at the same magnification (80).

57.7±10.7 pg/ml, 시료군은 29.0±9.4 pg/ml로 측정되었다. 표준군과 시료군은 estradiol 17-β의 농도는 control군에 비하여 유의적( $P<0.05$ ) 증가를 보였지만, 저용량 표준군을 제외한 나머지 군에서는 유의적인 차이( $P<0.05$ )를 보이지 않았다(Fig 4).

**고 찰**

본 실험은 미성숙 랫트에 ANTORIN-R10을 투여 후 난포 발육 정도, 혈중 호르몬 농도 및 난소형태의 변화를 House standard FSH(NO. 404031)와 비교하여 상대적 역할을 예측하고 그 효과를 관찰하였다. Wistar 랫트의 경우 미성숙 상태에서 FSH를 투여했을 때 난소 및 난포가 성숙할 뿐 아니

라 외부의 환경변화에도 일정한 수준의 발정주기를 가지는 것으로 잘 알려져 있다. 특히 혈중 호르몬 농도 조사를 위해서는 Wistar outbred, Sprague-Dawley(8) 랫트가 유효하게 사용되며, Wistar outbred 중에는 Wistar-imamichi, Wistar S/T 랫트가 대표적이다(20,31).

본 실험에서 ANTORINR-10 및 House Standard FSH의 희석액으로 BSA가 첨가된 생리식염수를 사용한 이유는 BSA가 호르몬과 결합하여 생리활성을 서서히 일으키기 때문이다(7). 생체 내에서 알부민이 약제와 결합하여 혈액내의 용해된 약제와 균형을 이루며 작용기간을 연장시킨다는 것은 잘 알려진 사실이다(28), 또한 난소의 발달은 FSH 단독 투여보다 hCG를 병용함으로써 더 효과적으로 난포를 발육시킬 수 있다(16,17,29), 하지만 본 실험에서는 난소의 무게를 측정해야 함으로 hCG를 정상적인 수준으로 투여 할 경우 'LH surge'에 따른 배란이 이루어지기 때문에 이를 방지하기 위해 저농도의 hCG(약6.5 IU)를 병용 투여하였다(13).

난소의 중량과 난포 수는 ANTORIN R-10를 투여한 저용량 시료군(43.19 mg, 7개)와 고용량 시료군(57.44 mg, 15.8개)이 control군(11.12 mg, 0개)보다 증가하였고, 고용량 시료군(57.44 mg, 15.8개)과 저용량 시료군(43.19 mg, 7개)은 고용량 표준군(56.46 mg, 15.6개)과 저용량 표준군(43.45 mg, 7.4개)과 비교하여 했을 때 유의적 차이가 없었다. 하지만 난소 중량과 난포 수를 저용량군과 고용량군으로 분류했을 경우 고용량군이 유의적으로 증가했음을 볼 수 있었다. 이 결과는 이들 지표로 FSH의 역할을 간접적으로 측정할 수 있음을 시사한다. 실제로 FSH나 항FSH의 효과를 확인하기 위해 난소중량과 난포 수를 측정하는 것은 많은 연구에서 수행되고 있다(4,21).

혈청 내 estradiol 17- $\beta$ 의 농도와 조직학적 소견은 고용량군에서는 표준군(35.5 $\pm$ 8.3 pg/ml)과 시료군(31.0 $\pm$ 9.7 pg/ml) 사이에 유의적인 차이가 인정되지 않았다. 하지만 저용량 시료군의 경우 표준군(57.7 $\pm$ 10.7 pg/ml)과 시료군(29.0 $\pm$ 9.4 pg/ml)에 비하여 유의적으로 낮게 측정되었다. 조직학적 소견에서도 고용량군에서는 비슷한 양상을 보였다. 하지만 저용량군에서는 난포강의 형성과 granulose cell의 증식 등 난포 발육이 표준군에 비해 시료군이 저조함을 보여 주었다. FSH의 작용으로 투명층세포가 증식하게 되면 이곳에서 에스트로겐이 분비된다. 저용량 표준군의 경우 조직학적 소견인 granulosa cells의 증식 정도와 난포강의 크기가 최고치에 있었으나, 저용량 시료군의 경우 투명층의 증식 정도나 난포강의 크기가 저용량 표준군에 비해 낮았다. 따라서 같은 저용량군이지만 유사한 결과를 보였던 난소중량이나 난포 수와 달리 낮은 estradiol 17- $\beta$ 수치가 측정된 것이다. 한편 표준군에서 보여주는 것처럼 고용량군에서 저용량군보다 estradiol 17- $\beta$ 이 낮게 측정된 것은 Graafian follicle 형성 후 난포 내 억제 인자에 의해 estradiol 17- $\beta$ 생성이 억제된 것으로 보인다(14). 정상적인 랫트에서도 발정주기 동안 estradiol 17- $\beta$ 의 변화를 보았을 때 LH surge가 일어나기 전에 estradiol 17- $\beta$ 농도가 감소함을 볼 수 있다(19). 결국 ANTORIN R-

10이 저용량군에서는 표준 저용량군보다 난포에 낮게 작용하였지만 고용량군에서는 표준 고용량군과 유사하게 난포에 작용했음을 알 수 있었다. 이 결과는 ANTORIN R-10를 난포를 자극하여 배란을 유도할 만큼의 양을 투여할 경우 표준 FSH과 유사한 효과를 나타낼 수 있음을 시사한다.

## 결론

FSH는 수의임상에서 소의 발정유도와 과배란 유도에 사용되는 대표적인 물질이다. 하지만 반감기가 짧고, 고가라서 과배란을 유지하는데 노력과 비용이 많이 들어가는 것이 현실이다. 비용절감의 차원에서 호르몬의 체내흡수의 지연을 유발하는 물질을 병용 투여하는 시도들이 있기는 하지만 근본적인 해결책은 아니다. ANTORINR-10은 기존 FSH제제보다 저가이며 현재 일본에서 사용되고 있고, 일본 화우 뿐만 아니라 한우나 홀스타인에도 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 하지만 아직까지 한국에서는 널리 사용되고 있지 않은 것이 현실이다.

본 실험을 통해 ANTORINR-10이 house standard FSH과 비교하여 난소중량, 난포수, 혈청 내 estradiol 농도, 조직학적 형태에서 비슷한 효과를 나타내었다. 단지 저용량군에서 표준군에 비하여 시료군이 낮은 estradiol 수치를 나타내었지만 과배란에 이용되는 농도는 고용량군과 효과가 비슷하여 대동물 임상에 적용하는 것에는 크게 영향을 미치지 않을 것으로 보인다. 또한 기존실험이 ANTORIN-R10를 소에 직접 투여하여 과배란정도나 혈중호르몬의 변화 등 임상적인 측면을 관찰한 것에 비해 간접적이긴 하지만 호르몬 효과를 확인 하는데 널리 사용되고 있는 Wistar rat를 이용하여 난소의 형태 및 난포의 발달정도를 조직학적 측면에서 관찰했다는 것에 의의가 있다.

## 참고 문헌

1. Alfurajji M, Atkinson T, Broadbent P, Hutchinson J. Superovulation in cattle using PMSG-monoclonal antibodies. *Ainm Reprod Sci* 1993; 33: 99-109.
2. Betteridge K. Techniques and results in cattle: superovulation. In: *Embryo Transfer in Farm Animals*. Ottawa Canada: Department of Agriculture. 1977: 1-9.
3. Boland MP, Crosby TF, Gordon I. Morphological normality of cattle embryos following superovulation using PMSG. *Theriogenology* 1978; 10: 175-180.
4. Caron P, Bliethe D, Nisula BC. Inactivation of Follicle-Stimulating Hormone by a factor in bovine serum albumin preparation. *Biol Reprod* 1986; 35: 717-723.
5. Chupin D. Different effect of LH on FSH-induced superovulation in two breeds of cattle. *Theriogenology* 1985; 23: 184.
6. Chupin D, Combarnous Y, Procurer R. Antagonistic effect of LH on FSH-induced superovulation in cattle. *Theriogenology* 1984; 21: 229.
7. Demoustier M, Becker JF, Van Der Zwalmen P, Closset J,

- Gillard JL, Ectors F. Determination of porcine plasma follitropin levels during superovulation treatment in cows. *Theriogenology* 1998; 30: 379-386.
8. Elsdon R, Nelson L, Sedel G. Superovulating cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare's serum gonadotropin. *Theriogenology* 1978; 9: 17-26.
  9. Erickson GF, Magoffin DA, Dyer CA, Hofeditz C. The ovarian androgen producing cells: a review of structure/function relationships. *Endocr Rev* 1985; 6: 371-399.
  10. Farookhi R, Desjardins J. Luteinizing hormone receptor induction in dispersed granulosa cells requires estrogen. *Mol Cell Endocrinol* 1986; 47: 13-24.
  11. Fevold HL. Synergism of follicle stimulating and luteinizing hormones in producing estrogen secretion. *Endocrinology* 1941; 28: 33-36.
  12. Greep RO, Van Dyke, HD, Chow BF. Gonadotropin of swine pituitary: various biological effects of purified thykentrin (FSH) and pure matakentrin (ICSH). *Endocrinology* 1942; 30: 635-649.
  13. Hillier SG. Ovarian stimulation with recombinant gonadotropin: LH as an adjunct to FSH: LH as an adjust to FSH. In: Jacobs, H.S., 6th ed. Carnforth: Parthenon publishing Group. 1993: 39-47.
  14. Hillier SG, Miro F. Inhibin, activin and follistatin. Potential roles in ovarian physiology. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 687: 29-38.
  15. Jainudeen MR, Hafez ES, Gollnick PD, Moustafa LA. Antigonadotropins in the serum of cows following repeated therapeutic pregnant mare serum injections. *Am J Vet Res* 1966; 27: 669-675.
  16. Karnitis VJ, Townson DH, Friedman CI, Danforth DR. Recombinant human follicle-stimulating hormone stimulates multiple follicular growth, but minimal estrogen production in gonadotropin-releasing hormone antagonist-treated monkeys: examining the role of luteinizing hormone in follicular development and steroidogenesis. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 91-97.
  17. Kenigsberg D, Littman BA, Williams RF, Hodgen GD. Medical hypophysectomy: II. Variability of ovarian response to gonadotropin therapy. *Fertil Steril* 1984; 42: 116-126.
  18. Magoffin DA, Kurtz KM, Erickson GF. Insulin-like growth factor-I selectively stimulates cholesterol side-chain cleavage expression in ovarian theca-interstitial cells. *Mol Endocrinol* 1990; 4: 489-496.
  19. Neill JD. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. 3 th ed. USA: Elsevier. 2006: 2334.
  20. Popova E, Bader M, Krivokharchenko A. Strain differences in superovulatory response, embryo development and efficiency of transgenic rat production. *Transgenic Res* 2005; 14: 729-738.
  21. Roby KF. Alterations in follicle development, steroidogenesis, and gonadotropin receptor binding in a model of ovulatory blockade. *Endocrinology* 2001; 142: 2328-2335.
  22. Sato T, Akada K, Uchiyama Y, Kimura Y, Ujiwara N, Sato Y, Umeda M, Furukawa T. The Effect of pretreatment with different doses of GnRH to synchronize follicular wave on superstimulation of follicular growth in dairy cattle. *J Reprod Dev* 2005; 51: 573-578.
  23. Saumande J, Chupin D. Production of PMSG antiserum in cattle: Assay of inhibitory activity and use in superovulated heifers. *Theriogenology* 1981; 15: 108.
  24. Saumande J, Procureur R, Chupin D. Effect of injection time of antiPMSG antiserum on ovulation rate and quality of embryos in superovulated cows. *Theriogenology* 1984; 21: 727-731.
  25. Tonetta SA, diZerega GS. Intraovarian regulation of follicular maturation. *Endocr Rev* 1989; 10: 205-229.
  26. Walsh J, Mantovani R, Duby R, Overstrom E, Dobrinsky J, Enright W, Roche J, Boland M. The effects of once or twice daily injections of p-FSH on superovulatory response in heifers. *Theriogenology* 1993; 40: 313-321.
  27. Wang XN, Greenwald GS. Hypophysectomy of the cyclic mouse. Effects on folliculogenesis, oocyte growth, and follicle-stimulating hormone and human chorionic gonadotropin receptors. *Biol Reprod* 1993; 48: 585-594.
  28. Wong F. Drug insight: the role of albumin in the management of chronic liver disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2007; 4: 43-51.
  29. Zelinski-Wooten MB, Hutchison JS, Hess DL, Wolf DP, Stouffer RL. Follicle stimulating hormone alone supports follicle growth and oocyte development in gonadotropin-releasing hormone antagonist-treated monkeys. *Hum Reprod* 1995; 10: 1658-1666.
  30. 손동수, 한만희, 최창용, 최선희, 조상래, 김현중, 류일선, 최성복, 이승수, 김영근, 김삼기, 김상희, 신권희, 김일화. 우수 한우의 수정란 생산 및 이식. *한국수정란이식학회* 2006; 21: 147-156.
  31. 이영순. *실험동물의학*. 서울: 서울대학교출판부. 2001: 160-164.
  32. 최수호, 박용수, 신상희, 강삼순, 조상래, 이영락, 노규진, 최상용. FSH 투여방법에 따른 소 과배란 유기 및 수정란 이식 효율. *한국수정란 이식학회* 2002; 17: 66-77.
  33. 한국수정란이식학회, 농촌진흥청 축산기술연구소. *소의 최신 번식기술*. 서울: 월드 사이언스. 2005: 142-143.