

흰쥐의 임신초기 혈장내 Progesterone과 Estradiol 농도 및 자궁내막 조직의 핵내 Estradiol 수용체의 양적변화

이화여대 의과대학

* 인제의대 생물학과

** 연세대 의과대학

*** 서울대 자연대 동물학과

김성례 · 강성구* · 유경자** · 조완규***

= ABSTRACT =

Estrogen and Progesterone Levels in Peripheral Plasma and the Concentration of Nuclear Estradiol Receptor in Uterine Endometrium at the Early Pregnant Rats

Sung Rye Kim, *Sung Goo Kang, **Kyung Za Rhu, ***Wan Kyoo Cho

College of Medicine, Ewha Womans University

**Dept. of Biology, Inje Medical College*

***College of Medicine, Yonsei University*

****Dept. of Zoology, College of Natural Science, Seoul National University*

The purpose of the present study is to measure concentration of plasma estradiol and progesterone and to determine the concentration of the estradiol receptor in the uterine endometrium at the early pregnant rat.

The results obtained were as followings :

- 1) Plasma estradiol concentration showed the highest value on day 1 and the lowest on day 2, increasing again on day 3 and 4.
- 2) Concentration of plasma progesterone increased sharply on day 3, maintaining gradual increase thereafter. Rats ovariectomized on day 2, however maintained lower progesterone levels than those of day 1, throughout the preimplantation period.
- 3) The concentration of nuclear estradiol receptor seemed to be well correlated with the concentration of plasma estradiol throughout the preimplantation period.

Treatment of estradiol appeared to increase the concentration of estradiol receptor on day 3 and 6 in ovariectomized rats.

4) The differentiation of the uterine endometrial tissue seemed to be closely related to ovarian steroid hormones.

서 론

포유류의 자궁은 발정주기를 통하여 주기적으로 형태적¹⁾, 기능적으로²⁾ 분화하고 퇴화하며, 임신이 이루어질 경우에는 수정된 배낭을 받아들여 착상시키고 새로운 생명체로 분화해갈 수 있는 환경여건을 갖추기 위하여 자궁조직세포의 분화가 활발하게 일어나고 있다. 자궁내의 이와같은 변화는 난소호르몬에 의해 진척되고 있음이 알려져 있다^{3,4)}.

난소호르몬은 발정주기에 따라 또 착상전 임신기간중에 종류와 분비가 다양해 지며 이들의 세포내 생리적 작용은 inducer 혹은 repressor로 작용하고 있다는 것이 밝혀지고 있다⁵⁾.

초기임신기간 동안에 난소호르몬이 착상준비(decidualization)에 미치는 역할을 이해하기 위해 이 기간에 분비되는 estrogen과 progesterone의 분비량과 시기를 파악해야 되므로 이에 관한 연구가 행해지고 있다.

1963년 Shelesnyak⁶⁾등은 흰쥐의 초기 임신기간 동안 호르몬 분비양상에 관한 연구에서 임신제 4일 오후에 "estrogen surge"가 관찰되며 이것이 임신제 5일의 착상에 필수 요소가 된다고 하였고, 1971년 Shaikh⁷⁾는 임신제 3일 일찍 estrogen의 surge가 일어난다고 발표했는가 하면, 1972년 Nimrod⁸⁾은 임신제 2일 오후부터 3일오전에 이르기까지 estradiol이 높은 농도를 유지한다고 하였으며, 1975년 Watson⁹⁾등은 제 3일 밤에서 제 4일 새벽에 걸쳐 높은 농도를 이룬다고 보고 하였다. 그러므로 이들 호르몬이 자궁조직분화에 미치는 영향을 관찰하기 위하여서는 먼저 이들 호르몬의 분비양상을 파악해야 할 것으로 생각된다.

한편 난소 호르몬이 어떻게 자궁조직세포내 대사작용을 유발시켜서 decidualization을 유발하는가를 규명하고자 최근에 난소호르몬의 작용기작에 관한 연구가 활발하다. 1972년 Jensen¹⁰⁾과 1974년 O'Malley¹¹⁾은 estrogen은 표적기관의 세포질과 핵질내의 특수단백질과 결합하는 능력이 있다고 하였다. 1967년 O'Malley¹²⁾를 위시해서 1976년 Gorski¹³⁾은 호르몬들이 자궁세포의 세포질내의 specific affinity를 가진 receptor와 결합하고 이것들은 핵내로 이동하여 specific gene의 transcription을 조정하고 유전자의

message가 mRNA에 의해 translate되어 단백질이 합성된다고 하였다.

그러므로 본인들은 착상전 초기임신 기간중 decidualization에 미치는 이들 호르몬의 작용기작을 규명하기 위한 연구의 일환으로 이들 호르몬의 양과 estrogen 수용체의 양적 변화를 관찰하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물

본 실험에 사용된 흰쥐는 서울대학교 동물사육실에서 사육된 생후 2~3개월 (200±20g)된 성숙한 Sprague-Dawley의 암컷이다. 실험에 사용하기 앞서, 일정한 조명장치 (14시간 조명 10시간소등)가 이루어진 곳에서 일정기간 적응시킨후, 생식능력이 있는 수컷과 교배를 시켰다.

2. 실험군

1) 정상임신군 : 수컷과 동서시킨 다음날 아침, 질부에서 정자가 관찰되면 이를 임신제 1일 (Day 1)로 하였으며, 본 실험에서는 임신제 1일부터 제 6일까지의 6군으로 나누었다.

2) 난소제거 임신군 : 임신제 2일에 난소를 제거하고 실험에 사용한 것들을 난소제거군으로 하였다.

3) 난소제거 호르몬 처리군.

- ① Estrogen 처리군 (E)
- ② Progesterone 처리군 (P)
- ③ 호르몬의 혼합 처리군 (E + P)
- ④ 용매 (Vehicle)를 처리한 실험군 (V)

3. 실험방법

1) 난소제거 : 임신제 2일에 sodium thiopental (Abbott)을 복강주사 (10mg)하여 마취시킨후, 배복측 부분 절개수술로 양쪽 난소를 제거하였다.

2) 난소호르몬 처리 : 임신제 2일에 난소제거후 17 β -estradiol (1 μ g, Sigma)과 Progesterone (2mg, Sigma)을 각각, 단독 혹은 혼합하여 단일 혹은 매 24시간 간격으로 3회 피하주사 하였다. 17 β -estradiol과 progesterone은 ethylalcohol로 용해시킨후 sesame oil에 녹였다. 대조군에는 용매인 oil만을 처리하였다.

3) 시료채취 : 매 실험군에 5마리의 동물을 이용하

였고 동일한 실험을 3회 반복하였다. 실험에 쓰일 재료는 다음과 같이 모았다. 각 실험군의 흰쥐는 ether로 마취하고

① 채혈 : 난소호르몬의 혈중농도를 측정하기 위하여 복부 중앙선을 따라 절개하여 심장을 노출시킨후 heparine으로 처리된 주사기로 3-5ml의 혈액을 채혈하고 이를 heparine으로 처리된 병에 개체별로 모은 다음, 500g에서 20분(4°C)간 원심분리시킨후, 상등액의 혈장을 측정할 때까지 -70°C에 보관하였다.

② 자궁적출 : 자궁내막조직의 난소호르몬 receptor의 농도를 측정 분석하기 위하여 whole uterus를 적출하여 ice-cold saline으로 적셔진 흡착지 위에서 여분의 지방, 혈액을 깨끗이 제거한 후, 자궁의 무게를 달고, 자궁내막을 flushing out시킨다음, -70°C에 보관하였다.

4) Estradiol과 Progesterone의 혈중농도 측정

① 혈장 Estradiol 측정 : estradiol의 농도는 polyethyleneglycol radioimmunoassay Kit(Hypolab, S.A., Switzerland)에 의하여 측정하였다.

유리 시험관(10×125mm)에 0.5ml의 혈장과 diethylether 5.0ml을 넣고 vortex mixer 위에서 2분간 격렬하게 섞고, 1,000g에서 5분간 원심분리하여 diethylether 층과 혈장층은 다른 유리 시험관에 옮겼다. 37°C water bath에서 질소 가스로 ether층을 증발시키고 난 후에 0.5ml의 assay buffer를 넣고 vortex mixer에서 격렬하게 섞음으로써 estradiol을 reconstitute시켰다.

다음 항원 항체를 반응시키기 위하여 사료의 estradiol 또는 estradiol standard 용액 (0-2,000 pg/ml) 0.1 ml에 ¹²⁵I-estradiol 및 estradiol 항원 0.1ml씩 넣고 잘 섞은 후, 4°C에서 3시간 동안 반응시켰다. 반응 후 유리 항원과 결합된 항원-항체를 분리시키기 위하여 carrier 0.1ml을 넣고 부드럽게 섞은 다음, 냉장보관된 PEG 용액 1.0ml씩 넣고 섞은 후 4°C에 방치시켰다.

다시 4°C에서 2,000g로 20분 원심분리한후, 상등액을 제거하고 침전물 (항원-항체결합)의 방사능을 자동 감마선 계측기 (Automatic Gamma Scintillation Counter, Abbott Diagnostic Co., U.S.A)로 측정하여 Standard curve를 작성한 후 estradiol의 혈중농도를 산출하였다.

② 혈장 Progesterone 측정 : Progesterone 농도는 solid phase radioimmunoassay Kit (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, U.S.A)에 의하여 측정하였다.

항원과 항체를 반응시키기 위하여 estradiol의 경우와는 달리 혈장에서 항원을 추출하지 않고 직접 혈장

을 사용하였다. Solid phase 방법에 의하면 progesterone 항체가 플라스틱 시험관에 공유결합하여 부착하고 있어서 이 시험관에 시료혈장 또는 Standard 용액 (0-40mg/ml) 100 μl와 ¹²⁵I-Progesterone 1.0ml을 넣고 부드럽게 섞은 후, 실온에서 3시간 동안 방치함으로써 항원항체의 반응을 유발하였다. 이때에 시료 혈장내의 progesterone과 ¹²⁵I-Progesterone은 시험관 내벽에 부착되어 있고 progesterone 특이 항체와 경쟁적으로 결합을 한다. total count와 nonspecific binding을 얻기 위하여는 항체가 부착되어 있지 않은 시험관을 사용 하였다.

반응후, 유리 항원과 항원-항체 결합체를 분리하기 위하여 반응액을 완전 제거한 후에 플라스틱 시험관에 부착되어 있는 항원-항체 결합체의 방사능을 자동 감마선 계측기에서 측정하였으며, standard curve를 작성하고, 시료내의 progesterone의 농도를 산출하였다.

5) 자궁내막조직내의 estradiol 수용체 농도 측정 : 한 개체당 1.5ml의 TED buffer (containing 10 mM Tris-HCl, 15mM EDTA, 1mM Dithiotreitol, PH 7.4)속에서 냉동에 보관해 두었던 자궁에서 내막조직만을 모은 후, glass blender(pyrex)로 homogenate를 만들고 1,000g으로 15분 원심분리시켜 침전된 핵질을 얻었다. 위의 실험은 모두 4°C에서 행하였다. 분리해낸 핵질부분을 TED buffer로 2번 씻은후, DNA exchange 방법으로 핵질내의 수용체 양을 측정하였다. total binding protein 농도는 핵질과 10nM [^{2,4,6,7-³H}] estradiol (specific activity : 85 Ci/m mole, Amersham)을 넣고 incubation 하였고, nonspecific binding sites는 핵질과 10mM ³H-estradiol과 함께 2 μM unlabeled diethylstilbestrol을 넣고 incubation 하였다. incubation은 37°C에서 30분 행하였고 incubation이 끝난후, cold TED buffer로 3번 씻은후 conc, ethanol 1ml을 넣고 30°C에서 30분 incubation하였다. Ethanol에 녹은 ³H-estradiol은 5ml의 scintillation cocktail (Triton-X 100, 333,3ml; Toluene, 666,6ml; popop, 0,3g; ppo, 0,7g) 과 섞어서 β-scintillation counter (Packard)를 이용하여 그의 방사능을 측정하였다. 이때 count efficiency는 26%이었다. specific binding protein의 농도는 total binding protein의 농도에서 non-specific binding protein의 것을 빼어서 그 값을 얻었다. DNA의 정량은 Burton(1956)의 방법을 따랐으며 standard로는 calf thymus DNA를 사용하였다.

결과와 논의

1) Estradiol과 Progesterone의 혈중 농도 :

Table 1. Peripheral plasma estradiol and progesterone titers (Mean \pm S.E.) during preimplantation stage of the pregnant rats

Hormone	Group	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6
E. pg/ml	Intact	157.30 \pm 36.08	78.95 \pm 30.47	101.05 \pm 11.91	103.00 \pm 68.6	81.80 \pm 10.43	92.15 \pm 48.65
	Ovx			47.26 \pm 8.39	57.90 \pm 10.15	54.53 \pm 10.11	48.30 \pm 9.56
P. ng/ml	Intact	12.84 \pm 2.89	17.94 \pm 1.51	89.47 \pm 20.06	107.26 \pm 13.29	130.44 \pm 12.26	141.75 \pm 11.4
	Ovx			7.64 \pm 1.69	8.42 \pm 5.39	5.04 \pm 2.31	6.45 \pm 1.41

The data were obtained by experiments with 5 rats in each group for twice replications.

E : estradiol

P : progesterone

Ovx : ovariectomized group.

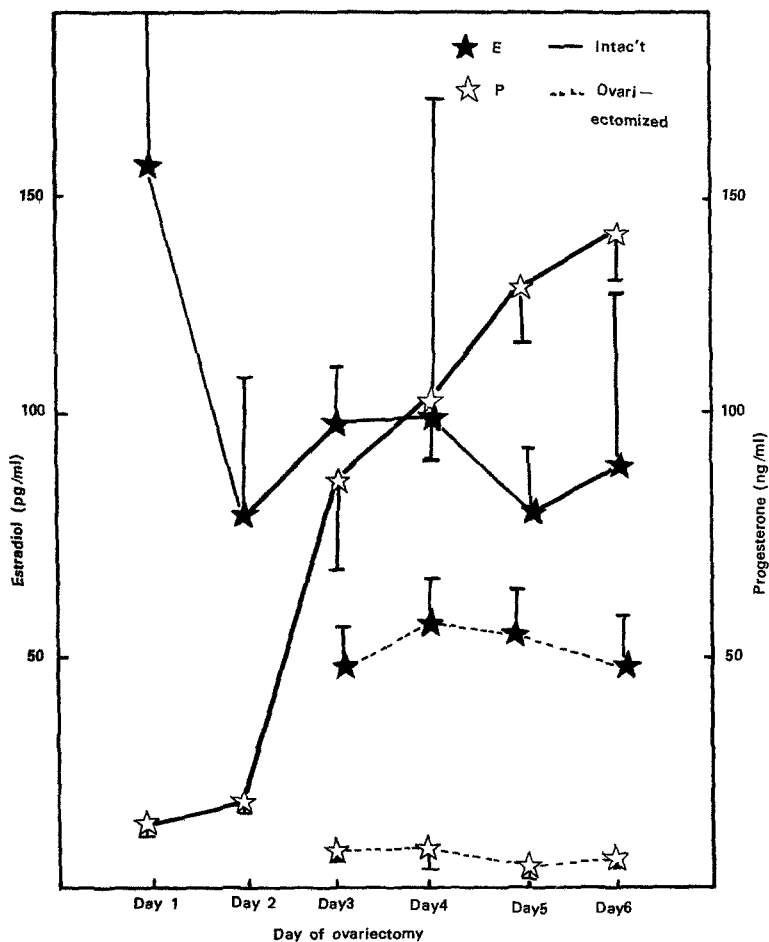


Fig. 1. Concentration of 17 β -estradiol and progesterone in the plasma during early pregnant rats.

임신 초기 기간중 난소스테로이드 호르몬의 혈중 농도를 표 1 과 그림 1 에 표시 하였다.

Estradiol 농도는 정상임신군에서는 배란직후, 즉 임신제 1 일에 최고치 (157 pg) 를, 제 2 일에는 최저치 (79 pg) 를 보이고, 임신 3 일 (101 pg), 4 일 (103 pg) 에는 증가하다가, 임신 5 일 (82 pg), 6 일 (92 pg) 에는 다시 감소하고 있다. 임신제 2 일에 난소제거한 실험 군에서는 임신제 3 일 (난소제거후 1 일) 에는 정상임신군에 비해 반감 (47 pg) 되고 있어 유의한 차이 ($P < 0.001$) 를 나타내며, 난소제거군에서는 임신제 6 일까지 이 양에 큰 변동이 없다.

반면 progesterone의 혈중농도는 정상 임신군에서는 뚜렷하게 임신제 3 일 (89 ng) 에서 부터 증가하기 시작하여 계속 증가추세를 보여주고 있어 임신제 6 일에는 142 ng 을 나타낸다. 그러나 난소제거군에서는 정상 임신군보다 현저하게 감소하여 임신제 1 일 보다도 낮은 농도를 나타내며, 정상임신군과 유의한 차이 ($P < 0.001$) 를 보여준다.

임신제 1 일에 estradiol 농도가 최고치를 나타내는 것은 발정전기에서 발정기까지 최고치에 이르렀던 estradiol 이 배란직후까지 유지되는 것을 나타내주는 결과라고 생각된다. 임신제 3 일 이후 progesterone 은 계속 증가하면서 estradiol 은 임신제 3, 4 일에 조금 높아지고 다시 저 level 을 유지하는데 이러한 현상은 1963년 Mayer¹⁴⁾와 1968년 Smith와 Biggers¹⁵⁾가 luteal phase 에는 progesterone 이 자궁으로 하여금 착상을 위한 준비를 하도록 자극을 주며, 임신을 유지하도록 하고 또 한 이시기에는 미량으로 분비되는 estrogen 도 착상을 유도하는 역할을 한다고 발표한 결과와 일치된다.

이러한 결과들로 미루어 볼때 자궁조직은 follicular phase 에 estrogen 의 작용이 먼저 있은후 luteal phase

에 progesterone 과 estrogen 에 의하여 stromal cell 의 성장과 proliferation 이 일어나는 것임을 알 수 있다. 이러한 결과는 1974년 Tachi¹⁶⁾가 난소를 제거한 흰쥐에 estrogen 을 처리하면 자궁내강 상피세포에 유사분열이 일어나며, estrogen 과 progesterone 을 함께 처리해야 기질세포층에 유사분열이 일어난다고 발표한 결과와 일치된다.

임신제 3 일에 본인등¹⁷⁾은 자궁내막조직에서 phosphatase 활성이 증가하며 난소제거군에서는 활성이 감소되는 것을 관찰한 바 있으며, Yochim¹⁸⁾은 임신제 3 일은 energy metabolism 이 왕성하고 ATP, RNA, protein 합성이 증가된다고 발표하였다. 이 시기에 estradiol, progesterone 이 다 증가하여, 난소 제거군에서는 이 두호르몬이 현저하게 감소하는 것은 이 두호르몬이 자궁조직분화에 미치는 영향을 추측할 수 있는 결과라고 사료된다.

2) 자궁내막조직세포의 핵내 estradiol receptor 농도 :

자궁내막조직의 분화와 관련된 난소호르몬의 작용기작을 밝힐 한가지 방법으로 초기 임신기간 분화중에 있는 자궁내막조직세포내의 호르몬 receptor protein 양을 측정하였다. 정상임신군과 각 실험군에서의 estradiol 의 핵내 수용체의 양을 측정한 결과를 표 2 에 실었다. 그리고 정상 임신군의 수용체 양을 estradiol 혈중농도와 비교한 것을 그림 2 에 나타내었다.

정상임신군에서 핵내 수용체 양을 측정한 것을 보면 임신제 1 일에는 0.88 fmole 로 높다 임신제 2 에는 0.34 fmole 로 감소하며, 임신제 3 일에는 0.63 f mole 로 다시 증가하고, 임신제 4 일에는 0.46 f mole 로, 임신제 5 일, 6 일에는 0.27, 0.24 f mole 로 계속 감소하고 있다.

이러한 핵내 수용체 양은 혈중 estradiol 양의 증감현

Table 2. The concentration (Mean±S.E) of nuclear estradiol receptor in the rat uterine endometrium of pregnant rats treated with ovarian steroids.

Group	Nuclear estradiol receptor (f mole/μg DNA)					
	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6
Intact	0.88±0.08	0.34±0.04	0.63±0.20	0.46±0.13	0.27±0.17	0.24±0.08
Ovariectomized						
: None	—	—	0.29±0.01	—	—	0.29±0.09
: Estradiol	—	—	0.42±0.02	—	—	0.43±0.28
: Progesterone	—	—	0.32±0.05	—	—	0.18±0.07
: Estradiol and progesterone	—	—	0.41±0.17	—	—	0.40±0.08

The data were obtained by experiments with 5 rats in each group for twice replications.

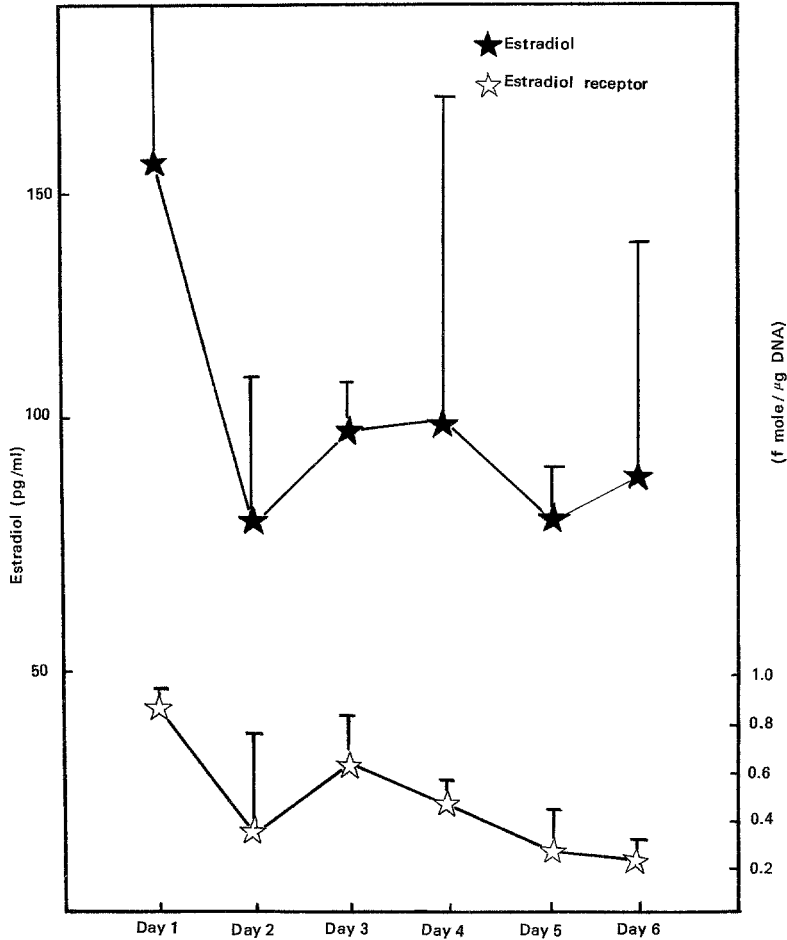


Fig. 2. Concentration of nuclear estrogen receptor and plasma estradiol during early pregnant rats.

상과 상응하고 있는 것을 볼 수 있다 (그림 2) .

각 실험군의 핵내 수용체 농도는 정상임신제 3일에서는 0.63 f mole인데 난소제거군에서는 0.29 f mole 로 감소하고 있으며 estradiol처리군에서는 0.42 f mole로 증가하나, progesterone 처리군에서는 0.32 f mole 로 감소하고 있다. 두 호르몬 동시 처리군에서는 0.41 f mole로 estradiol만 처리한 실험군과 같은 값을 나타내고 있다.

한편 임신제 6일군에서는 정상임신군에서는 0.24 f mole로 감소하고 있어 난소 호르몬의 감소량과 일치하고 있다. 각 실험군의 수용체 농도는 임신제 3일군과 거의 같은 값을 나타내고 있다.

Estrogen만 주사하였을때와 estrogen과 progesterone을 함께 주사하였을때, estradiolreceptor 양은 거의

같으며, phosphatase활성도 관찰¹⁷⁾에서 두 호르몬을 함께 처리하였을때 효소활성도가 더 높아진 것을 볼 때, Stone(1978, 79)¹⁹⁾²⁰⁾이 progesterone은 estrogen에 대한 자궁의 여러반응을 간섭하지 않으며 오히려 estrogen만을 주사 받았을 때보다 더 효과적이 되는 경우가 있다고 발표한 결과와 일치한다.

결 론

흰쥐의 임신 초기의 혈장내의 난소 호르몬과 자궁내막조직세포의 핵내 수용체의 농도 관찰 결과는 다음과 같았다.

1) 혈중 estradiol의 농도는 임신제 1에 최고치를 나타내다가 제 2일에 감소하며 제 3,4일에 증가하나 난

소제거군에서는 역시 현저하게 감소하였다.

2) 혈중 progesterone의 농도는 임신제 3일에 증가하기 시작하여 계속 증가하나 난소제거군에서는 임신제 1일보다 낮은 농도를 계속유지하였다.

3) 초기 임신기간중 자궁내막조직세포내의 핵내 estradiol수용체 농도의 증감은 혈중 estradiol농도의 증감현상과 상응하고 있었다.

4) Estradiol의 분비양상과 자궁조직세포의 nuclear estradiol receptor양은 상응하는 관계를 가지며 자궁조직분화가 왕성한 임신제 3일에 가장높은 것은 자궁조직분화에 영향을 미치는 이 호르몬은 조직세포의 수용체에 의하여 자궁조직세포에 들어가 세포내 대사작용을 유발시키는 것으로 생각된다.

REFERENCES

- 1) Long, J.A., and H.M. Evans : The oestrous cycle in the rat and its associated phenomena. Mem. Univ. Calif. 1922 ; 6 : 1-148.
- 2) Lobel, B.L., Tic, L., and M.C. Shelesnyak : Studies on the mechanism of nidation. Histochemical analysis of decidualization in the rat. Acta. endocrinol. 1965 ; 50 : 517-559.
- 3) Yochim, J.M., and V.J. DeFeo : Hormonal control of the onset magnitude and duration of uterine sensitivity in the rat by steroid hormones of the ovary. Endocrinology, 1963 ; 72 : 317-326.
- 4) Cook, B., and R.H.F. Hunter : Systemic and local hormonal requirements for implantation in domestic animals. J. Reprod. Fert. 1978 ; 54 : 471-482.
- 5) Jacob, F., and J. Monod : On the regulation of gene activity. Cojld Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 1961 ; 26 : 193-209.
- 6) Shelesnyak, M.C., P.F. Kraicer, and Zeilmaker, G.H. : Studies on the mechanisms of decidualization. 1. The estrogen surge of pseudo-pregnancy and progravity and its role in the process of decidualization. Acta Endocrinol. 1963 ; 42 : 225-235.
- 7) Shaikh, A.A. : Estrone and estradiol levels in the ovarian venous blood from rats during the estrous cycle and pregnancy. Biol. Reprod. 1971 ; 5 : 297-307.
- 8) Nimrod, A., S. Ladany, and H.R. Lindner : Perinidatory ovarian oestrogen secretion in the pregnant rat characterized by gas chromatography with electron capture detection. J. Endocrinol. 1972 ; 53 : 249-260.
- 9) Watson, J., F.B. Anderson, M. Alam, J.E. O'Grady, and P.J. Heald : Plasma hormones and pituitary luteinizing hormone in the rat during the early stages of pregnancy and after post-coital treatment with Tamoxifen(L.C.I. 46, 474) J. Endocrinol. 1975 ; 65 : 7-17.
- 10) Jensen, E.V., and E.R. Desombre ; Mechanism of action of the female sex hormones. Annual Rev. Biochem. 1972 ; 41 : 203-230.
- 11) O'Malley, B.W., A.R. Meons, S.H. Socher, T. C. Spelsberg, F. Chytil, J.P. Comstock, and W.M. Mitchell : Hormonal control of oviduct growth and differentiation. In : "Macromolecules in growth and development" (E.D. Hay, T.J. King and J. Papaconstantinou. eds.), 1974 ; 53-80 Academic Press, N.Y.
- 12) O'Malley, B.W. : In vitro hormonal induction of a specific protein (advidin) in chick oviduct. Biochemistry, 1967 ; 6 : 2546-2551.
- 13) Gorski, J., and F. Gannon : Current models of steroid hormone action. A critique, Ann. Rev. physiol. 1976 ; 38 : 425-450.
- 14) Mayer, G. : Delayed nidation in rats : a method of exploring the mechanisms of ovo-implantation. In : Delayed Implantation. Ed. A. C. Enders, Univ. of Chicago Press. 1963 ; pp. 213-228.
- 15) Smith, D.M. and J.D. Biggers : The oestrogen requirement for implantation and the effect of its dose on the implantation response in the mouse. J. Endocrinol. 1968 ; 41(1) : 1-9.
- 16) Tachi, C., S. Tachi, and H.R. Lindner : Effects of ovarian hormones upon nucleolar ultrastructure in endometrial stromal cells of the rat Biol. Reprod. 1974 ; 10 : 404-413.
- 17) Kim, M.K., S.R. Kim and W.K. Cho. : Changes in phosphatase activity of phosphatase in the endometrium of the rat uterus during early pregnancy. Kor. J. Fertil. Steril. 1981 ; 8 : 1-11.
- 18) Yochim, J.M. : Development of the progestational uterus : metabolic aspects. Biol. Reprod

- 1975 ; 12 : 106-133.
- 19) Stone, G.M. Jennifer Wild and B.G. Miller :
The uterine endometrium and Isthmic oviduct
of the Ewe : Does progesterone act as an an-
tiestrogen? Biol. Reprod., 1979 ; 21 : 273 -280 .
- 20) Surani, M.A.H. : Hormonal regulation of pro-
teins in the uterine secretion of ovariectomized
rats and the implications for implantation and
embryonic diapause. J. Reprod. Fert. 1975 ; 43
: 411-417.
-