대한생리학회지 : 제14권 제 1 호

hCG가 TeBG에 미치는 영향

서울대학교 의과대학 생리학교실

성 호 경·김 우 겸

=Abstract=

Effect of hCG on TeBG

Ho Kyung Sung and Woo Gyeum Kim

Department of Physiology, College of Medicine, Seoul National University

In the previous experiment, authors have shown that during the latter half of estrous cycle there was an increase in plasma testosterone level in the rats stimulated with hCG.

To determine the physiologic significance of elevated plasma testosterone, changes of the plasma concentrations of TeBG and testosterone following hCG stimulation were analyzed in the rats having a regular 5 day cycle.

The rats were divided into three groups; the control, the rats stimulated with single hCG on the day of proestrus and stimulated with hCG throughout the entire cycle.

Blood samples were obtained once a day for an estrous cycle and analyzed for the binding capacity of TeBG using ammonium sulphate precipitation method and testosterone concentration by means of radioimmunoassay.

Followings were the results;

1) There was no significant variation in the binding capacity of TeBG in peripheral blood during the estrous cycle of the control rats.

2) No cyclic variation in the binding capacity of TeBG was observed in the rats stimulated with single hCG on proestrus, although the levels tended to be higher in the rats with stimulation than in the control rats.

3) Continual stimulation of hCG produced a marked increase in the binding capacity of TeBG especially on the day of metaestrus.

4) The changes in the plasma level of testosterone followed the same basic pattern seen in the TeBG binding capacity.

5) From above results, the followings were suggested.

a. hCG related increase of the binding capacity of TeBG is probably secondary to a modest increase in estrogen as well.

b. hCG related increase of plasma testosterone in female rats is not entirely due to excess production rather in part due to decreased metabolism induced by the rise in TeBG.

c. It seems likely that most of elevated testosterone shown in the rat stimulated with hCG is bound to TeBG and only small portion is unbound form which influence cellular activity. It is rather possible that an increase in TeBG could augment estrogen activity.

* 이 논문은 1979년도 문교부 학술연구 조성비에 의하여 연구된 것임.

서 론

저자는 전실험(성호경등, 1979)에서 hCG에 의하여 초래되는 자궁운등성의 저하원인을 estrogen의 분비변동보다는 progesterone의 분비증가에 기인된 것이라고 보고한바 있다. 동실험에서 hCG를 투여받은 흰쥐는 난소주기 후반에서 progesterone분비의 심한 항진과 함께 estrogene의 분비도 소폭이나마 증가되었으며 예상외로 심한 testosterone의 분비 증가가 관찰된 바 있다.

무릇 성호르몬들은 분비후 혈행을 통한 운반 과정에서 각기 친화성이 큰 단백질들과 결합된 채로 존재하며 비결합 상태로 존재하는 분량은 5%미만에 불과하다(Anderson, 1974).

그중에서 estradiol은 일부분이 Testosterone Estradiol Binding Globulin(이하 TeBG라 칭함)과 결합하고 있으며 많은 부분은 CBG와 결합하고 있는데(Eik-Nes et al, 1954) 비하여 Testosterone은 상당량이 TeBG와 결합하고 있다(Galvao-Tellas, 1973). 이들 단백질과 결합된 상태로 존재하고 있는 호르몬들은 효과기에서의 작용능력이 거의 없기 때문에(Raynaud, 1973) 혈중농도와 함께 결합단백과의 결합상황의 검토가 필요하다(Harman & Danner, 1977).

따라서 hCG에 의한 Testosterone의 분비증가가 실제로 체내에 얼마나 영향을 미치겠는가를 파악함에는 TeBG와의 결합수준을 알 필요가 있다. 대체적으로 혈중 TeBG는 estrogen에 의하여 증가하며 testosterone에 의하여 감소된다(Marry, 1973).

그러나 저자의 전실험에서(성호경등, 1979) hCG 투여 동물에서 보인 혈중 estrogen과 testosterone농도는 정도의 차이가 있기는 하나 양자가 모두 증가되었으므로 혈장단백과의 결합정도, 나아가서는 실제적인 호르몬 작용능력을 판단함에는 TeBG의 증감상황을 알 필요가 있다.

이 논문은 hCG를 흰쥐에 투여하고 testosterone의 TeBG와의 결합용량을 관찰한 것으로써 hCG에 의하여 증가된 testoterone의 실제 작용능을 파악코자한 것이며 나아가서는 이차적으로 초래될 기타 성 호르몬들에 미칠 영향을 검토한 것이다.

실 험 방 법

실험동물

난소 주기일이 5일인 체중 200 gm 내외의 잡종 암흰쥐 36마리를 임의 선택하여 대조군, hCG 단일회 투여군 및 hCG 계속 투여군의 3군으로 나누었다.

질도말 표본에서 발정일을 가려내고 주기일이 5일인 것만을 골라내어 2주기 이상 일정한 주기일을 지닌 것만을 선택, 실험에 제공하였다.

실험방법

상기 동물들은 실험기간중 정상적인 식이로 사육하였으며 실험 기간중 일조기간은 주간 14시간 야간 10시간 내외이었다.

군마다 난소주기가 같은 흰쥐 2마리씩을 한동물을 속에서 사육하였으며 숫쥐와의 혼합사육은 이를 피하였다. 발정전일을 실험초일로 선정하였으며 채혈시간은 오전 10시로 고정하였다.

채혈은 내측안와 정맥총에 가는 유리세관을 찔러 흐르는 혈액 약 1~2 ml를 시험관에 받아 즉시로 원침하여 혈장을 분리하였으며 분리된 혈장은 Cap tube에 넣어 -20°C 냉동고에서 보관하였다. hCG 단일투여군의 hCG 주사는 발정전기일 오후 5시에 hCG 20 IU를 피하주사하였으며 계속 투여군은 발정전기일 부터 매일 오후 5시에 주사하였다.

TeBG 측정법

동결 보관한 혈장시료는 측정당일에 4~5°C 냉장고속에서 서서히 용해시켜 TeBG 및 testosterone농도 측정에 제공하였다.

TeBG의 측정은 Rosner(1972)의 방법을 이용하였는바 아래와 같다.

1. 10×75 mm의 유리 시험관군에 methanol에 용해되어 있는 S.A. 5700 cpm/ng의 Dihydrotestosterone(DHT) 1.2-^{3}H을 시험관에 넣고 즉시로 40°C에서 Vacuo로 용매를 제거하였다.

2. 각 혈청은 0.05 M sodium phosphate 완충액, pH 7.0을 이용, 20배로 희석하였으며 0.15 M 식염수로 맞추었다.

희석한 혈청을 상기 각 시험관에 가하고 Vortex 혼합기로 서서히 혼합시킨 다음 실온에서 15분동안 부치시켰다.

3. 시험관들은 다시 15분동안 어름통속에서 냉각시킨 다음 냉각 포화 ammonium sulphate 용액 0.5 ml를 다시 가하였다.

이때 ammonium sulphate가 균등히 섞이도록 시험관을 Vortex 혼합기에서 흔들면서 가하였다.

4. 각 시험관들은 10분동안 8,000 rpm로 원침시켰

고 상등액 0.5 ml 를 분리해 내었다.

5. 표준 시험관에는 비표지 DHT 120 ng 을 미리 가함으로써 혈중의 TeBG 를 완전히 DHT 와 결합시켰다.

6. 얻은 상등액 0.5 ml 들에 dioxan-base phospher system 을 가하여 scintillation mixture 를 만든다음 liquid scintillation spectrometer 에서 ^{3}H activity 를 측정하였다.

7. TeBG 의 결합용량 계산은 아래식과 같이하였다.

$$TeBG\,(ng) = \frac{\text{표준시험관의 cpm} - \text{시료시험관의 cpm}}{\text{DHT 의 S.A.}} \times \text{희석교정수} = \frac{\text{cpm}}{\text{cpm/ng}} = \text{ng}$$

혈장 Testosterone 농도 측정법

1. 용해된 혈장은 먼저 diethyle ther 로 추출하였다. 0.5 ml 의 혈장을 제 1 유리시험관에 넣고 3 ml 의 diethyl ether 를 가하여 마개를 막았다. 잘 흔든 다음 500 rpm 으로 2분간 원침한 다음 추출물을 제 2 의 유리관으로 옮기고 질소스팀 하에서 건조시켰다.

건조한 잔재물을 0.01 M 의 phosphate buffer, pH 7.5용액 1 ml 에 용해시킨 다음 이용액 0.5 ml 를 완충액 0.5 ml 에 혼합하였다. ether 에 의한 간섭을 고려해서 다른 유리관에 3 ml 의 ether 를 넣고 건조시킨다음 1 ml 의 완충액에 잔재물을 건조시켜 대조완충액으로 삼았다.

2. 방사면역측정 : 이태리 Biodata 사 제품의 testosterone 방사면역킷트를 이용, 시료내 testosterone 농도를 측정하였다. 이때 사용한 표지물은 Testosterone -3-TME-^{125}I 이었고 제 1 항체는 토끼에서 얻은 Anti-testosterone serum 이었으며 제 2 항체는 양에서 얻은 Anti-rabbit gammaglobulin serum 으로서 2중항체법을 이용하였다.

실 험 성 적

TeBG 결합용량에 관한 성적 ; 정상적인 난소주기를 이루고 있는 암쥐의 혈장내 TeBG 용량에 관한 성적을 제 1 표 및 제 1 도에 나타내었다. 발정 전기일의 혈장 TeBG 는 1.14±0.053(95%신뢰범위) μg/100 ml 이었고 발정일에는 1.16±0.059, 간기일에는 1.13±0.049 이었으며 휴정일에는 1.15±0.038 μg/100 ml 들로서 난소주기와는 관계없이 거의 일정한 수준을 유지하고 있었다.

발정전기일에 hCG 20 IU 를 근육주사한 흰쥐의 성적을 보면(제 2 표 및 제 1 도) 전기일에 1.20±0.057 μg/100 ml 로서 정상군에 비하여 다소 증가된 감을 주나 유의한 차이는 없었으며 발정일에는 1.22±0.053, 간기일에 1.21±0.041 및 휴정일에 1.20±0.032 μg/100 ml 들로서 모두 대조 흰쥐에 비하여 다소 높은치를 보이고 있으나 유의한 차이를 보이지는 않았으며, 주기간의 변동도 전혀 찾아 볼 수 없었다. 전기일부터 매일 hCG 를 투여한 군의 성적을 제 3 표 및 제 1 도에서 보인다. 전기일에는 1.20±0.113 μg/100 ml 로서 대조군이나 단 1회 투여군과 아무런 차이도 보이지 않았다. 발정일치는 1.25±0.048 μg/100 ml 로서 전기일이나 기타군에 비하여 다소 증가된 치를 보이고 있으나 추계학적 의미는 없었다. 그러나 간기일치는 1.26±0.048 μg/100 ml 로서 대조군 간기일치에 비하여 유의한 증가를 보이고 있었다. 휴정일치는 1.19±0.114 μg/100 ml 로서 다시 감소하여 기타군과의 사이에 차이를 인정할 수는 없었다.

혈장 Testosterone 농도에 관한 성적 : 대조군의 혈

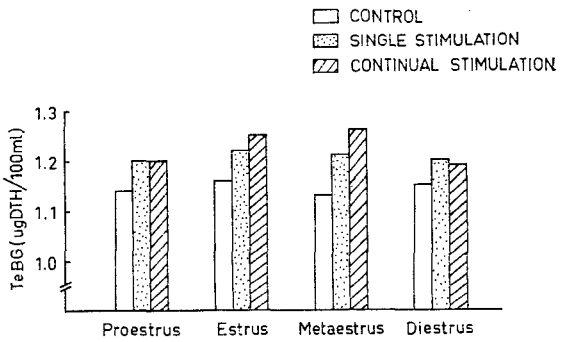

Fig. 1. Effect of hCG stimulation on plasma binding capacity of TeBG during estrous cycle.

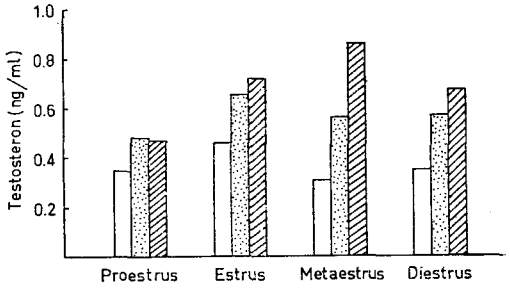

Fig. 2. Effect of hCG stmuilation on plasma testosterone concentration during estrous cycle.

Table 1. Plasma TeBG Binding Capacity and Testosterone Concentration during the Estrous Cycle of Normal Cycling Rat

	Proestrus	Estrus	Metaestrus	Diestrus
TeBG (μg/100 ml)	1.14(10)±0.053	1.16(10)±0.059	1.13(10)±0.049	1.15(10)±0.038
Testosterone (ng/ml)	0.35(8)±0.157	0.46(8)±0.123	0.31(9)±0.116	0.35(7)±0.183

Note: Values are mean±95% confidence interval
Numbers of parenthesis are the number of samples measured.

Table 2. Plasma TeBG Binding Capacity and Testosterone Concentration during the Estrous Cycle of the Rat with Single hCG Stimulation

	Proestrus	Estrus	Metaestrus	Diestrus
TeBG	1.20(10)±0.057	1.22(10)±0.053	1.21(10)±0.041	1.20(10)±0.032
Testosterone	0.48(9)±0.167	0.65(7)±0.337	0.56(9)±0.250	0.57(10)±0.125

Table 3. Plasma TeBG Binding Capacity and Testosterone Concentration during the Estrous Cycle of the Rat with Continuous hCG Stimulation

	Proestrus	Estrus	Metaestrus	Diestrus
TeBG	1.20(10)±0.113	1.25(10)±0.048	1.26*(10)±0.048	1.19(10)±0.114
Testosterone	0.47(8)±0.157	0.72(8)±0.453	0.86*(10)#±0.250	0.67(3)±0.590

*: Values significantly higher ($p<0.05$, respectively) than the values of control rats,
#: than the value of proestrus.

장 testosterone 농도는(제 1 표 및 제 2 도) 전기일에 0.35±0.157 ng/ml, 발정일에 0.46±0.123. 간기일에 0.31±0.116, 휴정일에 0.35±0.183 ng/ml 들로서 주기간 변동을 인정할 수 없었다. 전기일에 hCG를 단 1 회 투여한군의 성적은(제 2 표 및 제 2 도) 전기일에 0.48±0.167, 발정일에 0.65±0.337, 간기일에 0.56±0.250 및 휴정일에 0.57±0.125 ng/ml 들로서 대조군에 비하여 다소 증가된 감을 주나 유의한 변동을 볼수는 없었고 주기간 차이도 인정할 수 없었다. 전기일부터 매일 hCG를 계속 투여한 군의 성적을 보면(제 3 표 및 제 2 도) 전기일에 0.47±0.157 ng/ml 로서 기타군과 유사하였으나 발정일에는 0.72±0.453 ng/ml 까지 증가경향을 띄우다가 간기일에는 0.86±0.250 ng/ml 로서 이 치는 대조군의 간기일치나 동군의 전기일치에 비하여 현저히 증가된 것으로써(모두 $p<.05$) hCG의 계속 투여가 간기일의 testosterone 증가를 일으킴을 알 수 있었다. 그러나 휴정일치는 0.67±0.590 ng/ml 로서 아직 높은 치를 보이고 있으나 시료건수가 적어서 ($N=3$) 변동의 유의성은 찾아볼 수가 없었다.

고 찰

난소에서 분비되는 성호르몬들은 estrogen과 progesterone이 추축을 이루는 것이나 testosterone분비도 적지않게 관찰되며 androstenedione의 형태로 분비된 남성호르몬은 혈중에서 testosterone으로 이행된다 (Mikhah, 1970, Vermeulen, 1976). 그밖에 부신피질에서도 androgens의 분비는 있으므로 여성에서도 혈중에 testosterone이 상당량 존재하고 있다. 여성에서의 testosterone 자체의 활동은 그리 큰 것이 못되나 기타 성호르몬분비에 간섭할 수 있으며 말초조직에서 estrogen으로의 이행도 있으므로(Mowszowicz, et al, 1970) 경하게 간과할 수 만은 없다. 그러나 testosterone의 작용은 testosterone 자체 보다는 Dihydro testosterone(이하 DHT라 칭함)이 더욱 큰 작용효과를 지니는데 estrogen이나 보다 크게는 progesterone에 의하여 5α-reductase의 생성이 저하되므로(Wilson, 1975) 여성 호르몬이 존재하는한 DHT 생성 분율이 낮

아 실제 남성호르몬으로서의 작용능력은 그리 큰 것이 못된다. 더구나 혈중에 존재하는 testosterone 은 대부분이 TeBG 와 결합하고 있고(Burk, 1972) 이들 TeBG 와 결합하고 있는 testosterone 은 활성이 없는데 TeBG 는 estrogen 에 의하여 간에서의 유리가 증가되므로 (Murray, 1973) estrogen 이 많은 상태에서의 testosterone 작용은 미미한 수준에 있다고 볼 수 있다. 그러나 TeBG 와 결합하고 있는 testostrone 은 활성이 없는것 이외에 testosterone 자체의 대사율도 감소되어 혈중농도는 계속 높은 상태를 유지하고 있기 때문에 (Saez, et al, 1972) TeBG 의 결합능이 높은 상태에서 실제 testosterone 의 작용능력은 낮으나 혈중농도는 높다. 실제로 임신 때에 TeBG 가 5~10배로 증가하며 (Corval, 1971) 이때 testosterone 농도도 2~4배 (Rivarola, et al, 1968) 또는 그 이상으로 증가 되지만 (Murphy, 1971) testosterone 의 활성이 항진되었다는 증후는 없다.

저자의 전실험에서 hCG 를 투여받은 흰쥐의 배란후 혈중 testosterone 농도는 progesterone 과 함께 심한 증가를 보였고 estrogen 의 분비증가는 그 폭이 좁았다(성호경등, 1979).

TeBG 생성은 estrogen 투여에 의하여 증가되며 testosterone 투여에 의하여 감소되므로(Murphy, 1973) hCG 투여후의 혈중 성호르몬 변동 상황으로 보아 TeBG 의 동태가 주목되었다. 본 실험에서 hCG 를 투여받은 흰쥐의 TeBG 는 현저히 증가되었으며 이는 testosterone 농도의 증가현상과 유사하였다.

이러한 결과는 testosterone 분비 증가가 TeBG 생성을 감소하는 사실(Murphy, 1973)과는 상반되는 모순을 안고있다. 그러나 저자의 전실험에서 hCG 투여후의 난소호르몬 분비는 testosterone 이외에 소폭이나마 estrogen 의 분비도 증가되었던 만큼 hCG 투여로 TeBG 를 증가시키는 요인과 감소시키는 요인이 모두 항진된 것이다. 특히 estrogen 의 투여는 소량으로도 TeBG 의 현저한 상승을 초래하므로(Murphy, 1973) 비록 estrogen 의 분비가 소폭이고 testosterone 의 분비가 크게 증가되었다고 하더라도 TeBG 증감에 미치는 영향은 estrogen 의 영향을 보다 크게 받는 것으로 간주된다. 한편 TeBG 가 testosterone 에 의하여 감소된다고 하지만 TeBG 와 testosterone 이 모두 함께 증가되는 경우도 자주있고(Bartsch et al, 1977) TeBG 와 결합한 testosterone 은 대사성제거율이 낮은 만큼 (Saez, et al, 1972). 단순히 testosterone 농도만으로 TeBG 를 평가할 수 만은 없으며 TeBG 증가에 의해서 이차적으로 testosterone 대사가 감소되어 불활성 testosterone 이 증가된 것으로도 생각할 수 있다. 따라서 hCG 투여로 혈장 testosterone 분비와 함께 TeBG 도 증가되었던 것은 소량의 estrogen 분비 증가가 대량의 testosterone 분비 보다도 더 크게 작용한 것으로 생각되며 한편으로는 TeBG 와 결합한 testosterone 의 대사가 감소되어 혈중농도 상승에 기여한 것으로도 생각할 수 있다. 이와같은 TeBG 의 증가는 testosterone 분비가 비록 증가되었다고 하더라도 testosterone 의 TeBG 와의 결합능은 여성에서도 estrogen 보다 훨씬 큰 까닭에 (Strickland, et al, 1973) 혈중의 testosterone 은 대부분이 TeBG 와 결합되었을 것임에 실제 testosterone 의 활성은 거의 증가가 없다고 보는것이 보다 타당할 것 같다. Testosterone 은 시상하부에서 aromatization 또는 hydroxylation 등으로 estrogen 으로 전환되므로 (Naftolin et al, 1975) 뇌하수체—estrogen 사이의 되먹이기 기전에 간여할 수 있다. 그러나 TeBG 와 결합한 testosterone 은 estrogen 으로의 전환이 불가능하므로 시상하부—뇌하수체에서의 되먹이기 기전에도 작용할 수 없게 될 것이다. 결국 뇌하수체에서의 L.H.분비를 감소시킬 능력이 없다. 오히려 TeBG 는 estrogen 작용의 증폭기의 구실을 하므로 (Burke & Anderson, 1972) estrogen 활성을 증가시킬 가능성조차 있다고 보여진다. 따라서 저자의 전실험에서 hCG 투여로 예기치 않게 testosterone 의 분비가 비록 증가는 되었을지라도 실제로 testosterone 의 작용이 항진된 것으로 볼 수는 없다고 사료되며 오히려 estrogen 의 분비증가가 소폭에 그치고 있었으나 혈중 TeBG 치를 증가시켜 시간적 경과후에는 estrogen 작용을 항진시킴으로써 이미 발생된 progesterone 분비증가에 의한 자궁수축성 저하작용의 회복에 기여할 것으로 생각된다.

결 론

hCG 에 의한 testosterone 분비증가가 estrogen 의 활동과 나아가서는 자궁수축성에 미칠 영향을 TeBG 의 측정을 통해서 검토하였다. 5일 난소주기의 암흰쥐를 대상으로 발정전일에 hCG 를 단 1회 투여한 흰쥐와 hCG 를 1주기간 계속 투여한 흰쥐의 혈중 TeBG 용량과 혈장 testosterone 농도를 측정하고 대조흰쥐치와 비교하여 아래와 같은 성적을 얻었다.

1. 정상흰쥐의 혈장 TeBG 용량은 주기일에 따라 아무런 변동도 보이지 않았다.

2. hCG 를 단일회 투여받은 흰쥐의 혈장 TeBG 용량

은 전반적으로 대조군에 비하여 증가되었으나 주기일에 따른 차이는 인정되지 않았다.

3. hCG를 계속 투여받은 흰쥐의 혈장 TeBG 농도는 특히 간기일에 현저히 상승되었다.

4. 각군의 혈장 testosterone 농도의 변동은 혈장 TeBG 용량의 변동과 거의 유사하였다.

5. 이상의 성적을 토대로 아래사항들을 논급하였다. a) hCG 투여후에 보이는 혈장 TeBG의 상승은 동시에 증가된 estrogen에 의한 것이며 b) 혈장 testosterone 농도의 상승은 증가된 TeBG에 의하여 testosterone의 대사율이 감소된데에 기인한 것으로 간주되며 c) hCG 투여후 비록 혈장 testosterone 농도가 증가하였지만 대부분의 testosterone은 TeBG와 결합함으로써 실제 testosterone의 활동이 증가되었다고 생각할 수는 없으며 오히려 estrogen 활성이 증폭될 가능성이 있다고 고찰되었다.

참 고 문 헌

1) 성호경, 조석신, 고주환, 안승운, 남기용 : *HCG가 자궁운동성에 미치는 영향. II. 흰쥐 발정 주기간의 혈장 성호르몬 농도에 미치는 영향.* 서울의대학술지 *20(1):27, 1979.*

2) Anderson, D.A.: *Sex hormone binding globulin. Clinical Endocrinol. 3:69, 1974.*

3) Bartsch, W.,H.J. Horst, H. Becher, and G. Mehse: *Sex hormone binding globulin binding capacity, testosterone, 5 -dihydrotestosterone oestradiol and prolactin in plasma of patients with prostatic carcinoma under various types of hormonal treatment. Acta Endocrinol. 85:650, 1977.*

4) Burke, C.W. and D.C. Andersen: *Sex hormormone-binding globulin is an oestrogen amplifier. Nature 240:38, 1972.*

5) Corvol, P.L., A. Chrambach, D. Rodbard, and C.W. Bardin: *Physical properties and binding capacity of testosterone and estradiol binding globulin in human plasma, determined by polyacrylamide gel electrophoresis. J. Biol. Chem. 246:3435, 1971.*

6) Eik-Nes, K.,J.A., Schellman, J.A., Lumry, R. Lumry and L.T. Samuels: *Binding of steroids to protein. I. Solubility determinations. J. Biol. Chem. 206:411, 1954.*

7) Galvao-Telles, A., D.C. Anderson, C.W. Burk, J.C. Marshall, C.S. Corker, R.L. Bown, and M.L. Clark: *Biologically active androgens and oestradiol in men with chronic liver disease. Lancet i: 173, 1973.*

8) Harman, S.M. and R.L. Danner: *Rapid measurement of an index of testosterone binding to serum binding globulin using ion exchange columns. J. Clin. Endocrinol. Metab. 45:753, 1977.*

9) Mikhah, G.: *Hormone secretion by the human ovaries. Gynecol. Invest. 1:5, 1970.*

10) Mowszowicz, I., D.Kahn and F. Dray: *Influence of testosterone binding to serum proteins on aromatization by enzymes of human placental microsomes. J. Clin. Endocrinol. and Metab. 31:584, 1970.*

11) Murphy, M.A.F.: *Androgen fractionation in normal, pregnant and hirsute women, program of the 53rd Endocrine Society Meeting, Abstract 202, 1971.*

12) Marry, M.A.F., D.C. Anderson, J.H.J.Bancroft, T.G. Tennet and R.J. Carr: *Sex hormone binding globulin, LH and testosterone in man: effect of oestrogen and cyproterone acetate. J. Endocrinology. 1973.*

13) Naftolin, F., K.J. Ryan, I.J. Davies, V.V. Reddy, F. Flores, Z, Petro, M. Kuhm, R.J. White, Y. Takooka and L. Wolin: *The formation of estogen by central neuroendocrine tissues. Recent Prog. Horm. Res. 31:295, 1975.*

14) Raynaud, J.P.: *Influence of rat estradiol binding plasma protein(EBP) on uterotrophic activity. Steroids 21:249, 1973.*

15) Rivarola, M.A., M.C. Forest and C.J. Migeon: *Testosterone, androstenedione and dehydroepiandrosterone in plasma during pregnancy and at delivery: concentration and protein binding. J. Clin. Endocrinol. and Metab. 28:34, 1968.*

16) Rosner, W: *A simplified method for the quantitative determination of testosterone-estradiol-binding globulin activity in human plasma. J. Clin. Endocrinol. and Metab. 34:983,* 1972.

17) Saez, J.M., M.G. Forest, A.M. Morera, and J.

Bertrand: *Metabolic clearance rate and blood production rate of testosterone and dihydrotestosterone in normal subjects, during pregnancy, and in hyperthyroidism. J. Clin. Invest. 51:1226, 1972.*

18) Strickland, A.L., M. Apland and J. *Bruton: Determination of serum testosterone and androstandiol by competitive protein binding. Steroids 21:27, 1973.*

19) Vermeulen, A.: *The hormonal activity of the postmenopausal ovary. J. Clin. Endocrinol. Metab. 42:247, 1976.*

20) Wilson, J.D:. *Metabolism of testicular androgens, Ch. 25 in Handbook of Physiology, Section 7, Endocrinology, Vol. 5, Male Reproductive System, ed. Greep, R.O. & Astwood, E.B. pp 491-508, 1975, Washington D.C: American Physiological Society.*