

인간체외수정시술시 다낭성난포종 난포액이 정자의 운동성에 미치는 영향

중앙대학교 의과대학 산부인과학교실

김연희 · 이상훈 · 허 민

The Effect of Polycystic Ovarian Follicular Fluid on Sperm Motility in Human in vitro Fertilization

Yeon Hee Kim, Sang Hoon Lee, Min Hur

*Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine,
Chung-Ang University, Seoul, Korea*

Objective: The purpose of this study was to evaluate the effect of polycystic ovarian follicular fluid on sperm motility in human in vitro fertilization (IVF).

Methods: From May, 1998 to July, 1999, 55 patients who complained of infertility were involved in this study. We obtained ovarian follicular fluids from the patients by ultrasono-guided aspiration. Subjects were divided into two groups. 20 patients who had polycystic ovarian disease were belong to study group, and 25 patients who had normal ovarian follicular fluid were belong to control group. The follicular fluid dilution was done with Ham's fluid as 10%, 20%, 50%, 100%. The sperm motility was analyzed by CASA at 6hr and 12hr after incubation in follicular fluids.

Results: The levels of average path velocity (VAP) in all concentration fluid didn't show significant difference between study and control group. The other parameters including curvilinear velocity (VCL), amplitude of lateral head displacement (ALH), and linerity (LIN) were didn't show any significant difference between both groups.

Conclusion: PCOD fluid had seemed to have an adverse effect on the sperm biological function. But, this study showed that PCOD fluid had no different effect on sperm motility with normal follicular fluid.

Key Words: PCOD, Follicular fluid, Sperm motility

다낭성난소질환이란 배란장애를 초래하는 불임의 주요한 원인이며 만성적인 내분비적 이상에 의해 특징적으로 황체화호르몬 (luteinizing hormone, LH)과 각종 안드로젠이 증가하는 질환으로서 생식기 여성의 내분비질환중 가장 발생빈도가 높을 것으로 생각되는 질환이다.^{1,2} 이 질환의 내분비학적 특징으로는 성선자극호르몬의 이상

분비, 여성호르몬의 무주기적 분비 및 남성호르몬의 과잉분비 등 세가지로 요약되나,^{3,4} 이들의 기전은 뚜렷하지 않은 실정이다. 이러한 내분비학적 상황들이 서로 작용하여 시상하부-뇌하수체-난소 또는 부신 등에서 여러 가지 호르몬이 분비되어 복합적으로 배란 기구를 억제 또는 손상함으로써 희발배란, 무배란, 이상월경, 무월경, 불임

등이 초래되는 것으로 알려져 있다. 다낭성난소에서 배란 기구를 억제하는 호르몬으로는 증가된 황체화호르몬과 상대적으로 억제된 난포자극호르몬 (FSH), androstenedione, 남성호르몬 (testosterone), dehydroepiandrosterone sulphate^{5,6}와 prolactin^{7,8} 등이 있다.

불임환자의 체외수정시 정자의 운동성, 그중 과활성화운동은 수정능을 결정짓는데 중요한 인자로 작용한다고 알려져 있다.⁹ 수정능력과 관계있는 정자의 과활성화운동은 Yanagimachi (1969)¹⁰에 의해 처음 보고 되었으며 정자의 운동형태가 매우 활동적이고 굴곡이 심한 곡선운동의 특성을 보이는데 이런 정자의 과활성화운동은 정자의 이동과 정자의 난구와 투영대의 통과를 촉진시켜 수정율을 증가시켜 주는, 임신과 관계있는 정자의 운동양상이다.^{11,12} 정자의 과활성화운동을 자극하는 인자에는 여러 가지 물질이 있는데 pyruvate,¹³ cysteine,¹⁴ taurine,¹⁴ prolactin,¹⁴ serum¹⁵ 등 생리적물질들과 caffeine,¹⁴ dibutylrly cyclic adenosine monophosphate,¹⁴ calcium ionophore, 삼투압의 증가,¹⁶ 중성도의 (pH) 증가¹⁶ 등 화학적 인자들이 포함된다. 인간의 난포액이 정자의 과활성화운동의 강력한 자극제로 작용한다는 연구들이 있어 왔다.^{17,18} 배란후 난자는 난포액을 포함한 상태로 수정이 일어나는 난관의 팽대부로 이동하게 되는데, 난포액이 정자의 침체화 (capitation)와 acrosome 반응을 촉진시켜 과활성화운동을 증가시킨다는 것이다.

다낭성난소질환의 난소는 정상난소에 비해 충분한 에스트로젠을 생성할 과립막세포가 부족하고, 반면 기질세포는 비대화되어 계속적으로 안드로젠을 생성하게 된다. 결국, 다낭성난소질환의 난포액에는 고농도의 안드로젠과 극히 적은 양의 에스트로젠을 함유하게 되어 정상난소와 차이를 보이게 된다.¹⁹ 그러므로 정상 난포액이 정자의 수정능에 미치는 위와 같은 좋은 영향이 다낭성난소질환의 경우 어떻게 달라지는지 알아보려고 하였으나, 이에 대하여는 별다른 연구발표가 없었다.

본 연구에서는 정자자동분석기 (computer assisted sperm analyzer, CASA)를 이용하여 정상난소를 가진 불임여성과 다낭성난소질환을 가진 불임여성의 난포액이 정자의 운동성과 운동매개변수들의 변화를 비교 관찰하여 다낭성난소질환을 가진 여성의 난포액이 정자의 운동성에 어떤 영향을 미치는지 알아보려고 하였다.

연구대상 및 방법

본 교실에서는 1998년 5월부터 1999년 6월까지 체외수정시술을 실시하는 불임여성중 다낭성난소질환을 가진 여성 20명을 실험군으로 하고, 정상난소를 갖고 있지만 난관이상으로 불임인 여성 25명을 대조군으로 하여 난포액을 채취하였다. 다낭성난소질환으로 진단된 환자들은 모두 무월경이거나 희발월경의 상태였으며, 황체호르몬 소퇴성 출혈이 있었고, 혈중 prolactin은 정상이었고, 혈중 LH/FSH의 비는 2 이상이었다. 그리고 초음파 검사상 다낭성난소의 소견이 관찰되었다.

실험군과 대조군 모두 과배란유도후 난포액을 질척초음파유도하에 채취하였다. 채취된 난포액을 Ham's 용액에 혼합하여, 각각 10%, 20%, 50%, 100%의 난포액을 만들었다. 이렇게 희석된 난포액에 정자를 넣어 각각 6시간, 그리고 12시간을 배양하고 난후 정자의 운동특성을 정자자동분석기를 이용하여 관찰하였다. 사용된 정자는 냉동보관되어 있던 정상 범주 (WHO criteria, 1987)에 포함된 검체, 즉 80×10^6 sperm/ml 이상, 30분간 50% 이상의 전진운동성, 50% 이상의 정상형태인 검체를 사용하였다.

정자자동분석기는 Hamilton-Thorn사의 것을 이용하였다. 비교실험한 항목은 정자의 운동성 (motility), 평균운동속도 (average path velocity, VAP), 곡선운동속도 (curvilinear velocity, VCL), 측두부 이동폭 (lateral head displacement, ALH), 직선도 (linarity, LIN)이다.

통계적 분석은 student t-test로 하여, p-value가 0.05 미만을 통계적 유의성이 있는 것으로 평가하였다.

결 과

1. 정자의 운동성 (motility) 변화의 비교

정상난소의 난포액과 다낭성난소질환의 난포액의 10%희석액에 6시간 배양후 정자의 운동성은 각각 $52.0 \pm 12.1\%$, $46.5 \pm 11.8\%$ 로 감소하였고, 20%희석액에서는 $46.0 \pm 17.1\%$, $50.8 \pm 11.3\%$ 로, 50% 희석액에서는 $40.7 \pm 31.0\%$, $46.8 \pm 13.6\%$ 로, 100% 희석액에서는 $47.5 \pm 13.4\%$, $48.1 \pm 10.4\%$ 로 나타났고 실험군과 대조군사이에 통계학적으로 유의한 차이는 보이지 않았다. 또한, 각각의 난포희석액

에 12시간 동안 정자를 배양한후 정자의 운동성은 10%희석액에서는 각각 $52.0 \pm 12.1\%$, $46.5 \pm 11.8\%$ 로 감소하였고, 20%희석액에서는 $46.0 \pm 17.1\%$, $50.8 \pm 11.3\%$ 으로, 50%희석액에서는 $40.7 \pm 31.0\%$, $46.8 \pm 13.6\%$ 으로, 100%희석액에서는 $47.5 \pm 13.4\%$, $48.1 \pm 10.4\%$ 로 나타났고 이 또한 통계학적 유의한 차이는 보이지 않았다 (Table 1).

2. 정자의 평균운동속도 (VAP) 변화의 비교

6시간 배양후 정자의 평균운동속도는 10%희석

Table 1. Comparison of sperm motility (%) after preincubation for 6 hours and 12 hours in follicular fluid aspirated from PCOD (study group) and normal ovary (control group)

		Control group (n=25)	Study group (n=20)
6 hours	10%	52.0 ± 12.1	46.5 ± 11.8
	20%	46.0 ± 17.1	50.8 ± 11.3
	50%	40.7 ± 31.0	46.8 ± 13.6
	100%	47.5 ± 13.4	48.1 ± 10.4
12 hours	10%	52.0 ± 12.1	46.5 ± 11.8
	20%	46.0 ± 17.1	50.8 ± 11.3
	50%	40.7 ± 31.0	46.8 ± 13.6
	100%	47.5 ± 13.4	48.1 ± 10.4

NS

Table 2. Comparison of sperm VAP (average path velocity, %) after preincubation for 6 hours and 12 hours in follicular fluid aspirated from PCOD (study group) and normal ovary (control group)

		Control group (n=25)	Study group (n=20)
6 hours	10%	58.6 ± 0.9	55.4 ± 5.1
	20%	57.9 ± 6.9	55.9 ± 6.4
	50%	59.1 ± 10.6	54.8 ± 5.57
	100%	59.1 ± 3.3	51.7 ± 6.4
12 hours	10%	49.3 ± 5.5	50.1 ± 5.5
	20%	52.7 ± 10.1	49.8 ± 5.9
	50%	45.4 ± 11.3	47.9 ± 4.3
	100%	46.2 ± 1.1	42.6 ± 4.7

NS

액에서는 정상난소의 난포액과 다낭성난소의 난포액에서 각각 $58.6 \pm 0.9\%$, $55.4 \pm 5.1\%$ 로 감소하였고, 20%희석액에서는 $57.9 \pm 6.9\%$, $55.9 \pm 6.4\%$ 로, 50%희석액에서는 $59.1 \pm 10.6\%$, $54.8 \pm 5.6\%$ 로, 100%희석액에서는 $59.1 \pm 3.3\%$, $51.7 \pm 6.4\%$ 로 감소하였고, 실험군과 대조군사이에 통계학적으로 유의한 차이는 보이지 않았다. 또한, 각각의 난포희석액에 12시간 동안 정자를 배양한후 정자의 평균이동속도는 10%희석액에서는 각각 $49.3 \pm 5.5\%$, $50.1 \pm 5.5\%$ 로 감소하였고, 20%희석액에서는 $52.7 \pm 10.1\%$, $49.8 \pm 5.9\%$ 으로, 50%희석액에서는 $45.4 \pm 11.3\%$, $47.9 \pm 4.3\%$ 으로, 100%희석액에서는 $46.2 \pm 1.1\%$, $42.6 \pm 4.7\%$ 로 감소하였고 이 또한 통계학적 유의한 차이는 보이지 않았다 (Table 2).

3. 정자의 곡선운동속도 (VCL) 변화의 비교

곡선운동속도는 6시간 배양후 10%희석액인 정상난소의 난포액과 다낭성난소의 난포액에서 각각 $96.7 \pm 5.6 \mu\text{m}/\text{sec}$, $97.7 \pm 10.0 \mu\text{m}/\text{sec}$ 로, 20%희석액에서는 $103.8 \pm 12.1 \mu\text{m}/\text{sec}$, $95.0 \pm 5.9 \mu\text{m}/\text{sec}$ 로, 50%희석액에서는 $101.5 \pm 6.7 \mu\text{m}/\text{sec}$, $99.6 \pm 5.4 \mu\text{m}/\text{sec}$, 100%희석액에서는 $98.5 \pm 13.5 \mu\text{m}/\text{sec}$, $100.5 \pm 8.6 \mu\text{m}/\text{sec}$ 로 나타났다. 이는 두 군사이에 통계학적으로 의미있는 차이를 보이지 않았다. 12시간 배양후의 곡선운동속도는 10%희석액에서는 각각 $85.6 \pm 14.1 \mu\text{m}/\text{sec}$, $85.4 \pm 7.7 \mu\text{m}/\text{sec}$ 로, 20%희석액에서는 $84.9 \pm 8.1 \mu\text{m}/\text{sec}$, $85.9 \pm 8.2 \mu\text{m}/\text{sec}$ 로, 50%희석액에서는 $86.4 \pm 13.6 \mu\text{m}/\text{sec}$, $85.6 \pm$

Table 3. Comparison of sperm VCL (curvilinear velocity, $\mu\text{m}/\text{sec}$) after preincubation for 6 hours and 12 hours in follicular fluid aspirated from PCOD (study group) and normal ovary (control group)

		Control group (n=25)	Study group (n=20)
6 hours	10%	96.7 ± 5.6	97.7 ± 10.0
	20%	103.8 ± 12.1	95.0 ± 5.9
	50%	101.5 ± 6.7	99.6 ± 5.4
	100%	98.5 ± 13.5	100.5 ± 8.6
12 hours	10%	85.6 ± 14.1	85.4 ± 7.7
	20%	84.9 ± 8.1	85.9 ± 8.2
	50%	86.4 ± 13.6	85.6 ± 11.2
	100%	85.2 ± 11.2	84.6 ± 8.5

NS

Table 4. Comparison of sperm VCL (curvilinear velocity, $\mu\text{m}/\text{sec}$) after preincubation for 6 hours and 12 hours in follicular fluid aspirated from PCOD (study group) and normal ovary (control group)

		Control group (n=25)	Study group (n=20)
6 hours	10%	4.4 \pm 0.5	4.3 \pm 0.1
	20%	5.2 \pm 0.4	4.4 \pm 0.3
	50%	5.1 \pm 0.5	4.9 \pm 0.5
	100%	4.8 \pm 0.6	4.6 \pm 0.4
12 hours	10%	4.3 \pm 0.9	4.2 \pm 0.5
	20%	4.6 \pm 0.2	4.2 \pm 0.4
	50%	4.5 \pm 0.4	4.3 \pm 0.5
	100%	4.3 \pm 0.5	4.1 \pm 0.6

NS

11.2 $\mu\text{m}/\text{sec}$, 100%회석액에서는 85.2 \pm 11.2 $\mu\text{m}/\text{sec}$, 84.6 \pm 8.5 $\mu\text{m}/\text{sec}$ 로 나타났다. 실험군과 대조군 사이에 통계학적으로 유의한 차이는 보이지 않았다 (Table 3).

4. 정자의 측두부 이동폭 (ALH) 변화의 비교

정자의 측두부 이동폭은 6시간 배양후 10%회석액인 정상난소의 난포액과 다낭성난소의 난포액에서 각각 4.4 \pm 0.5 μm , 4.3 \pm 0.1 μm 이었고, 20%회석액에서는 5.2 \pm 0.4 μm , 4.4 \pm 0.3 μm 로, 50%회석액에서는 5.1 \pm 0.5 μm , 4.9 \pm 0.5 μm 로, 100%회석액에서는 4.8 \pm 0.6 μm , 4.6 \pm 0.4 μm 로 나타났고 이는 두 군 사이에 통계학적으로 의미있는 차이를 보이지 않았다. 12시간 배양후의 정자의 측두부 이동폭은 10%회석액에서는 각각 4.3 \pm 0.9 μm , 4.2 \pm 0.5 μm 로, 20%회석액에서는 4.6 \pm 0.2 μm , 4.2 \pm 0.4 μm 로, 50%회석액에서는 4.5 \pm 0.4 μm , 4.3 \pm 0.5 μm 로, 100%회석액에서는 4.3 \pm 0.5 μm , 4.1 \pm 0.6 μm 로 나타났으며, 실험군과 대조군 사이에 통계학적으로 유의한 차이는 보이지 않았다 (Table 4).

5. 정자의 직선도 (LIN) 변화의 비교

정자의 직선도는 6시간 배양후 10%회석액인 정상난소의 난포액과 다낭성난소의 난포액에서 각각 50.0 \pm 1.7%, 56.0 \pm 4.2%이었고, 20%회석액에서는 46.7 \pm 2.9%, 48.8 \pm 6.2%로, 50%회석액에서는 51.5 \pm 5.6%, 50.6 \pm 5.6%로, 100%회석액에서는

Table 5. Comparison of sperm LIN (linearity, %) after preincubation for 6 hours and 12 hours in follicular fluid aspirated from PCOD (study group) and normal ovary (control group)

		Control group (n=25)	Study group (n=20)
6 hours	10%	50.0 \pm 1.7	56.0 \pm 4.2
	20%	46.7 \pm 2.9	48.8 \pm 6.2
	50%	51.5 \pm 5.6	50.6 \pm 5.6
	100%	50.9 \pm 4.5	52.6 \pm 5.4
12 hours	10%	47.3 \pm 4.5	47.8 \pm 4.0
	20%	60.7 \pm 24.3	49.1 \pm 4.5
	50%	55.4 \pm 12.7	50.9 \pm 13.5
	100%	50.7 \pm 15.2	52.8 \pm 12.4

NS

50.9 \pm 4.5%, 52.6 \pm 5.4%로 나타났고 이는 두 군 사이에 통계학적으로 의미있는 차이를 보이지 않았다. 12시간 배양후의 정자의 직선도는 10%회석액에서는 각각 47.3 \pm 4.5%, 47.8 \pm 4.0%로, 20%회석액에서는 60.7 \pm 24.3%, 49.1 \pm 4.5%로, 50%회석액에서는 55.4 \pm 12.7%, 50.9 \pm 13.5%로, 100%회석액에서는 50.7 \pm 15.2%, 52.8 \pm 12.4%로 나타났다. 실험군과 대조군 사이에 통계학적으로 유의한 차이는 보이지 않았다 (Table 5).

고 찰

다낭성난소질환은 배란장애를 유발하는 대표적인 내분비 질환으로 알려져 있다. 다낭성난소질환은 시상하부, 뇌하수체, 난소, 그리고 부신 등의 내분비 기관들의 지속적인 불균형의 순환으로 인하여 희발월경, 조모증, 여성불임 등의 증상을 유발하게 되는, 특징적 병리조직학적 진단적 기준이 없는 다면성의 임상적 실체로 생각된다. 이 질환의 병태생리에 관한 일차적 기전에 대하여서는 아직 여러 가지 논란이 많고 한가지 결함으로 설명하기 힘들며, 여러 원인이 복합적으로 작용하여 발생하는 일련의 순환적인 장애로 여겨진다.^{20,22}

다낭성난소질환의 대표적 임상양상으로는 무월경, 희발월경, 무배란성의 불규칙한 하혈 등의 월경불순을 보이는 만성 무배란, 증가된 남성호르몬에 의한 조모증, 40% 이상의 환자에서 나타

나는 비만, 배란의 증거를 보이지 않는 양측성, 남성 난소이다.^{20,22,23} 임상양상은 대부분의 경우 시상하부-뇌하수체-난소의 상호작용이 완성되기 직전인 초경을 전후하여 발현되기 시작한다. 약 12%의 환자에서는 정상적인 월경을 보이며 때로는 배란의 증거를 보이는 경우도 보고되고 있으며, 정상적인 배란의 양태를 보이는 여성들중에서도 약 25%에서 다낭성난소질환이 발견되었다는 보고도 있고,²⁴ 난소의 크기와 혈중 LH의 수치가 정상인 경우도 종종 보고되고 있다.²⁵

다낭성난소질환의 증상중의 하나인 불임의 치료로는 배란유도에 관한 내과적 치료가 주로 이루어졌다. 초기에 클로미펜을 배란유도제로 도입한 이래,²⁶ 외인성 성선자극호르몬,²⁷ 성선자극유리호르몬의 투여,²⁸ 외인성 성선자극호르몬과 성선자극유리호르몬의 병합투여^{29,30} 등이 배란유도에 이용되어 왔다.

그러나, 다낭성난소질환이 불임을 초래하는 것에 배란장애이외 정자의 수정능을 저해하는 인자가 있는지는 아직 별다른 연구가 없는 실정이다.

정자는 난자와 주로 난관의 팽대부에서 수정이 일어나는데, 이때 난자는 배란시 난포로부터 방출한 난포액과 함께 난관으로 획득되어 정자와 만나게 된다. 인간의 난포액은 정자의 수정능획득(capacitation), 과활성화(hyperactivation), 그리고 침체반응(acromome reaction)을 촉진시키고,^{31,34} 보조생식기술에 있어 임신율을 높이는데 기여한다고 알려져 있다.^{35,36} 그러나 일부 연구발표에서는 난포액이 정자에 독성이 있거나 운동성을 오히려 감소시킨다는 주장도 있었다.^{33,34,37}

최근에는 정자자동분석기(CASA)를 이용한 검사가 보편화되어 정자의 운동성에 대하여 객관적이고 정량적인 조사가 가능해지고, 정자운동의 매개변수를 통하여 정자의 실질적인 수정능력 및 배아발달을 예견할 수 있게 되어 좀더 정확하게 불임의 원인으로서의 정자에 대한 분석이 가능해졌다(Boyers 1989, Mortimer 1990). 정자자동분석기를 이용하여 정자의 운동특성을 객관적으로 나타내는 여러 가지 운동매개변수로는 곡선운동속도(curvilinear velocity, VCL), 직선운동속도(linear velocity), 평균운동속도(average path velocity, VAP), 측두부 이동폭(amplitude of lateral head displacement, ALH), 교차운동의 빈도(beat cross frequency, BCF), 정렬도(straightness, STR) 및 직선도(linearity, LIN) 등이 있다. 이 매개변수 중 곡선운동속

도(VCL)와 측두부의 이동폭(ALH)은 정자의 과활성화운동에 영향을 주어 점액질 통과능력, 정자투과력 및 체외수정시술 결과에 밀접한 관계가 있다(Burkman 1984).

Mendosa (1990) 등은 인간 정자를 인간 난포액을 함유한 배지와 함유하지 않은 배지에 배양시 운동성이 있는 정자를 난포액이 포함된 배지에서 더 많이 관찰할 수 있었고, 운동매개변수의 변화는 정액으로부터 정자처리(swin-up) 직후의 수치들과 24시간 배지에서 배양후의 수치들을 비교하였는데, 난포액을 함유한 배지의 정자들의 VCL, VAP, LIN, ALH이 난포액을 함유하지 않은 배지에 비해 훨씬 덜 감소한 것으로 발표하였다.

다낭성난소질환의 난소는 정상난소에 비해 충분한 에스트로젠을 생성할 과립막세포가 부족하고, 반면 기질세포는 비대화되어 계속적으로 안드로젠을 생성하게 된다. 결국, 다낭성난소질환의 난포액에는 고농도의 안드로젠과 극히 적은 양의 에스트로젠을 함유하게 되어 정상난소와 차이를 보이게 된다.¹⁹ 그러므로 정상 난포액이 정자의 수정능에 미치는 위와 같은 좋은 영향이 다낭성난소질환의 경우 어떻게 달라지는지 알아보고자 하였으나, 이에 대하여는 별다른 연구발표가 없었다.

본 연구에서는 다낭성난소질환을 가진 여성의 난포액이, 이상에서 언급한 정상적 난소의 난포액의 정자의 운동성 및 운동매개변수에 미치는 잇점으로 인해 수정능을 향상시킬 수 있는 효과와 어떻게 차이가 나는지를 알아보았다. 연구결과 다낭성난소질환의 난포액은 정상난소의 난포액이 정자의 운동성 및 VCL, ALH, LIN의 운동매개변수들에 미치는 변화와 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

결론적으로, 본 연구는 다낭성난소질환의 난포액은 정자의 수정능에 악영향을 갖고 있다기 보다는 오히려 정상난소의 난포액의 정자의 운동성, 운동매개변수를 상승시켜 정자의 과활성화작용을 촉진시키는 효과를 갖음으로서 수정능 및 임신율을 높이는 인자로 작용하는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Adams J, Polson DW, Franks S. Prevalance of polycystic ovaries in women with anovulation and idiopathic hirsutism. Br Med J 1986; 293: 355.

2. Polson DW, Wadsworth J, Adams J, Franks S. Polycystic ovaries. A common finding in normal women. *Lancet* 1988; 16: 870.
3. Hoff JD, Lasley BL, Yen SSC. The functional relationship between priming and releasing actions of luteinizing hormone-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; 49: 8-15.
4. Yen SSC. The polycystic ovarian disease. *Clin Endocrinol (Oxford)* 1980; 12: 177-207.
5. Rosenfield RL, Ehrlich EN, Cleary RE. Adrenal and ovarian contributions to the elevated free plasma androgens in hirsute women. *J Clin Endocrinol Metab* 1972; 34: 92-8.
6. Carter JN, Tyson JE, Warne GI. Adrenocortical function in hyperprolactinemic women. *J Clin Endocrinol Metab* 1977; 45: 973-80.
7. Parker LN, Odell DD. Control of adrenal androgen secretion. *Endocrinol Rev* 1980; 1: 392-410.
8. Luciano AA, Chapler FK, Sherman BM. Hyperprolactinemia in polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1984; 41: 719-25.
9. Burkman LJ. Experimental approaches to evaluation and enhancement of sperm function. In: Jones GS, Hogen GD, Rosenwaks Z, editors. *In Vitro Fertilization*. Norfolk. Baltimore: Williams and Wilkins 1986; 201.
10. Yanagimachi R. In vitro capacitation of hamster spermatozoa by follicular fluid. *J Repro Fertil* 1969; 18: 275.
11. Damott RP, Suarez SS. Hyperactivated sperm progress in the mouse oviduct. *Biol Reprod* 1992; 779.
12. Suarez SS, Dai XB. Hyperactivation enhances mouse sperm capacity penetrating viscoelastic media. *Biol Repro* 1992; 46: 686.
13. Burkman LJ, Overstreet JW, Katz DF. A possible role for potassium and pyruvate in the modulation of sperm motility in the rabbit oviductal isthmus. *J Reprod Fertil* 1984; 71: 367.
14. Burkman LJ. Characterization of hyperactivated motility by human spermatozoa during capacitation: comparison of fertile and oligospermic sperm populations. *Arch Androl* 1981; 13: 153.
15. Mbizvo MT, Burkman LJ, Alexander NJ. Standard conditions for a hyperactivation (HA) assay. Submitted for the annual meeting of the American Fertility Society, Washington, D.C., October 13 to 18, 1990.
16. Jinno M, Burkman LJ, Coddington CC. Human sperm hyperactivated motility (HA) and egg penetration. *Biol Reprod* 1987; 36 (suppl 1): 53.
17. Suarez SS, Wolf W, Meizel S. Induction of the acrosome reaction in human spermatozoa by a fraction of human follicular fluid. *Gamete Res* 1986; 50: 123.
18. Yee B, Cummings LM. Modification of the sperm penetration assay using human follicular fluid to minimize false negative results. *Fertil Steril* 1988; 50: 123.
19. Mahajan DK. Steroidogenesis in human polycystic ovary. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1988; 17(4): 751-69.
20. Yen SSC, Jaffe RB, *Reproduction Endocrinology* 3rd Ed, Philadelphia, WB Saunders 593-7, 1991.
21. Smith S, Ravinkar VA, Barbieri RL. Androgen and insulin response to and oral glucose challenge in hyperandrogenic women. *Fertil Steril* 1987; 48: 72-6.
22. Falcone T, Bourque J, Granger L, Hemmings R, Miron P. Polycystic ovary syndrome. *Current Problems Obstet Gynecol Fertil* 1993; 16: 72-89.
23. Barbieri RL. Hyperandrogenic disorders. *Clin Obstet Gynecol* 1990; 33: 640-54.
24. Polson DW, Adams J, Wadsworth J. Polycystic ovaries- a common finding in normal women. *Lancet* 1988; 1: 870-2.
25. Yen SSC. The polycystic ovary syndrome. review. *Clin Endocrinol* 1980; 12: 177-207.
26. Greenbaltt RB, Banfield WE. Introduction of ovulation with MRL/41. *JAMA* 1961; 178: 101-8.
27. Kelly AC, Jewelewicz R. Alternate regimens for ovulation induction in polycystic ovarian disease. *Fertil Steril* 1990; 54: 195.
28. Filicori M, Flamigni C, Campaniello E, Valdiserri A, Ferrari P, Meriggiola MC, Preschi A. The abnormal response of polycystic ovarian disease patients to exogenous pulsatile gonadotropin-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 69: 825.

29. 이진용, 김정훈, 김석현, 최영민, 신창재, 김정구, 문신용, 장운석. 다낭성난소질환 환자에서 GnRH agonist와 외인성 성선자극호르몬을 이용한 배란유도에 관한 연구. 대한내분비학회지 1993; 8(2): 171-9.
30. 허의중, 이상훈, 배도환. 저용량 난포자극호르몬과 GnRH agonist를 이용한 다낭성난소질환의 치료에 관한 연구. 대한산부회지 1992; 35: 11: 1597-604.
31. Yanagimachi R. In vitro capacitation of hamster spermatozoa by follicular fluid. J Reprod Fertil 1969; 18: 275.
32. Stock CE, Bates R, Lindsay KS, Edmonds DK, Fraser LR. Extended exposure to follicular fluid is required for significant stimulation of the acrosome reaction in human spermatozoa. J Reprod Fertil 1989; 86: 401.
33. Suraz SS, Wolf DP, Meizel S. Induction of the acrosome reaction in human spermatozoa by a fraction of human follicular fluid. Gamete Res 1986; 14: 107.
34. Mortimer D, Camenzind AR. The role of follicular fluid in inducing the acrosome reaction of human spermatozoa incubated in vitro. Hum Reprod 1989; 4: 170.
35. Blumenfeld Z, Nahhas F. Pretreatment of sperm with human follicular fluid for borderline male infertility. Fertil Steril 1989; 51: 863.
36. Fakih H, Vijayakumar R. Improved pregnancy rates and outcome with gamete intrafallopian transfer when follicular fluid is used as a sperm capacitation and gamete transfer medium. Fertil Steril 1990; 53: 515.
37. Mukherjee AB, Lippes J. Effect of human follicular and tubal fluids on human, mouse, and rat spermatozoa in vitro. Can J Genet Cytol 1972; 14: 167.