: 31 2 2004
Kor. J. Fertil. Steril., Vol. 31, No. 2, 2004, 6

황체호르몬 수용체의 발현이 저반응 환자군의 임신에 미치는 영향

미즈메디병원 의과학연구소[1], 한양대학교 자연과학대학 생명과학과[2]

이정복[1,2] · 도병록[1] · 김은수[1] · 김명희[1] · 천은경[1] · 정현정[1]
노성일[1] · 김문규[2] · 윤현수[1]

The effect of LH Receptor in the Pregnancy of Poor Responders

Jung Bok Lee[1,2], Byung Rok Do[1], Eun Soo Kim[1], Myung Hee Kim[1], Eun Kyung Chun[1], Hyeon Jeong Jeong[1], Sung Il Roh[1], Moon Kyoo Kim[2], Hyun Soo Yoon[1]

[1]Department of Medical Research Center, MizMedi Hospital, Seoul, Korea,
[2]Department of Life Science, College of Natural Sciences, Hanyang University, Seoul, Korea

Objectives: To investigate the effect of LH receptor in folliculogenesis, we confirm the expression level of LH receptor (LH-R) mRNA in human granulosa cells (GCs) and its expression levels were analyzed by comparison to embryo developmental rate and pregnancy rate.

Materials and Methods: GCs were obtained at the time of oocyte retrieval from the patients undergoing IVF-ET program. The patients were divided into two groups: Group I (n=20) is poor responder (retrieved oocyte(s)≤3ea), Group II (n=80) is normal responder (retrieved oocytes>3ea). After the extraction of total RNA, semiquantitative RT-PCR was performed and the expression level of LH-R mRNA was normalized by β-actin. Statistical analysis was performed by using χ^2 test, Student's *t*-test and Pearson correlation.

Results: In Group II, the relative values of LH-R mRNA (0.680 vs. 0.463, $p<0.005$) and pregnancy rate (54.7% vs. 23.1%, $p<0.05$) were significantly higher than in Group I. Number of retrieved oocyte(s) was gradually increased when the expression of LH-R mRNA was increased ($p<0.05$). But the quality of retrieved oocyte and transferred embryo were not related with the expression of LH-R mRNA. When the pregnancy rate was compared with FSH only group and FSH combined with hMG group in the ovarian stimulation protocol, FSH combined with hMG group was significantly higher than FSH only group in Group I (37.5% vs. 0%), and the expression of LH-R mRNA was significantly higher in hMG combined group than FSH only group ($p<0.05$).

Conclusion: Expression level of LH-R mRNA has important role in ovarian function related with the response to gonadotrophin in human folliculogenesis. Furthermore these data might provide the

주관책임자: 김문규, 우) 133-791 서울특별시 성동구 행당동 17, 한양대학교 자연과학대학 생명과학과 발생학 연구실
Tel: (02) 2290-0954, Fax: (02) 2295-1960, e-mail: kimmk@email.hanyang.ac.kr
주관책임자: 윤현수, 우) 157-280 서울특별시 강서구 내발산동 701-4, 미즈메디병원 의과학연구소
Tel: (02) 2007-1840, Fax: (02) 2007-1852, e-mail: yoon@mizmedi.net
연 락 저 자: 이정복, 우) 157-280 서울특별시 강서구 내발산동 701-4, 미즈메디병원 의과학연구소
Tel: (02) 2007-1847, Fax: (02) 2007-1852, e-mail: ivf-leejb@mizmedi.net

evidence that additional use of hMG is helpful to poor responders.
Key Words: Folliculogenesis, LH-R, Poor responder, Pregnancy rate

난자의 성장과 성숙은 난포에 존재하는 두 종류의 세포인 난포막세포 (theca cell)와 과립세포 (granulosa cell)가 두 종류의 생식선호르몬 (gonadotrophin; FSH and LH)의 작용에 의해 조절되는 것으로, 정상적인 난자의 성장과 성숙을 위해서 여포자극호르몬 (follicle stimulating hormone, FSH)과 황체형성호르몬 (luteinizing hormone, LH)의 작용이 필수적이다 (two-cell, two-gonadotrophin theory).[1~5] 일반적으로 LH는 난포의 성장 동안 난포막세포에서 콜레스테롤 (cholesterol)을 안드로젠 (androstenedion)으로 전환시켜 주며, 전환된 안드로젠은 FSH와 aromatase의 활성에 의해 에스트로젠 (oestrogen)으로 전환되어 혈액과 난포내의 에스트로젠 농도를 증가시켜 난포의 성장을 조절한다.[6] 시험관아기 시술 (*in vitro* fertilization)을 받는 여성의 경우 과배란 유도 (controlled ovarian hyperstimulation, COH)를 위해 FSH와 LH를 이용하여 정상적인 folliculogenesis를 모방하는 난포자극법 (follicular stimulation protocol)을 시행하고 있다. 효율적인 과배란 유도를 위해 많은 방법론들이 제시되고 있으나, 약 20% 정도의 불임 환자들이 에스트로젠에 대한 부적절한 반응 (inadequate oestrogen response)으로 난포가 잘 자라지 않는 현상을 보이는데, 이러한 환자를 저반응 환자 (poor responder)라고 하며,[7~9] 에스트로젠에 대한 반응이 제한적인 것으로 알려져 있다.[10~13] 저반응 환자는 정의하는 사람들에 따라 약간의 차이가 있지만, 과배란 유도 과정에서 혈중 에스트로젠 최고 농도 (estrogen peak)가 300 pg/ml 이하로 나타나며, 난소자극 8일째 초음파 상으로 10 mm 이상의 난포가 3개 이하로 자라는 것을 확인할 수 있다.[14~17] 이러한 저반응 환자의 치료를 위해 지속적인 연구가 진행되었음에도 불구하고 아직 뚜렷한 치료법은 제시되지 못했다. 2001년 Placidi 등은 저반응 환자의 과배란 유도 과정에서 유전자 재조합 (recombinant) FSH (rFSH)만을 투여 (300 IU/day)한 환자군과 rFSH (150 IU/day)와 hMG (150 IU/day)를 병용 투여한 환자군에서의 임신율을 비교한 결과 저반응 환자의 과배란 유도에는 FSH와 LH의 병용 투여법이 보다 효율적이며, 배란기 뿐만 아니라 folliculogenesis 동안 낮은 농도의 LH 활성이 지속적으로 필요하다고 보고했다.[5] 또한 hypogonadotrophic hypogonadism을 지닌 환자에서 FSH만을 투여하여 과배란을 유도할 경우 에스트로젠 농도의 감소, 자궁내막의 발달 지연, 배란장애 및 낮은 수정율로 인한 낮은 임신율을 나타내지만, 인체폐경성선자극호르몬 (human menopausal gonadotrophin, hMG)을 병용 투여할 경우 이러한 문제점들이 극복 가능한 것으로 보아 LH는 난포의 성장과 성숙, 그리고 임신에 아주 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.[18~24]

본 연구는 시험관아기 시술을 수행한 정상반응 환자 (normal responder)군과 저반응 환자군에서 채취한 과립세포에서 황체형성호르몬 수용체 (LH receptor, LH-R) 유전자 발현양을 측정하여 채취된 난자의 개수, 배아의 발달율 그리고 임신율과의 상관관계를 통계적으로 검증하고, 저반응 환자의 임신율 향상을 위한 효과적 치료법을 재확인하고자 한다.

연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

본 연구는 2000년 4월부터 2000년 12월까지 본 미즈메디병원에 내원하여 불임치료를 받은 환자를 과배란 유도 시 생식선자극호르몬 (gonadotrophin)의 투여에 대한 난포의 성장 (follicle growth)이 조절되는 정도에 따라 총 100명의 환자를 정상반응 환자 (생식선자극호르몬 투여 8일째 지름 10 mm 이상의 난포 개수 > 3개) 80명과 저반응 환자 (생식선자극호르몬 투여 8일째 지름 10 mm 이상의 난포 개수 ≤ 3개) 20명으로 나누어 진행하였다.

2. 과립세포의 준비 및 RNA 추출

난자의 채취는 환자의 생리기간과 생식선자극호르몬에 대한 반응 정도에 따라 생리 7일에서 15일 사이에 수행하였으며, 난자 채취 후 난자와 동시에

Table 1. Characteristics of the patients undergoing IVF-ET program

Characteristics	Poor responder group (n= 20)	Normal responder group (n=80)
Age (Years)	35.1±5.6[a]	32.3±4.3[b]
Basal FSH (mIU/ml)	8.08±3.3[c]	6.10±2.3[d]
Basal LH (mIU/ml)	4.83±2.1	4.26±2.3
Basal E_2 (pg/ml)	26.74±22.2	31.62±25.3

Values are mean ± SD, a vs. b, c vs. d, $p<0.05$; Differences are not statistically significant in others

배출된 과립세포를 PBS로 3회 세척하여 1.5 ml tube에 담은 후 RNA 추출을 위하여 300 μl/tube의 TRIzol을 첨가하여 영하 86℃의 저온냉동고에 보관하였다. 100명의 환자로부터 과립세포들을 준비한 뒤 TRIzol (GibcoBRL)에 담겨 있는 과립세포들을 융해하고, 권장 사용법에 따라 total RNA를 추출하였다.

3. Semiquantitative RT - PCR

추출한 RNA의 양을 spectrophotometer (SmartSpec 3000, Bio-Rad)를 이용하여 측정한 뒤, 동일한 양 (1 μg/tube)의 RNA를 이용하여 역전사 반응을 수행하여 cDNA를 제작하였다. LH-R의 발현을 확인하기 위하여 10X PCR buffer, 2.5 mM dNTPs, 25 mM $MgCl_2$, each 10 pM forward/reverse primer (forward; AATTGCTATGTTGCCCCTTG, reverse; CCATTTTT-GCAGTTGGAGGT), 그리고 2.5 U Taq DNA polymerase (Takara)의 병용액에 cDNA를 첨가하여 총 20 μl/tube의 양으로, 94℃에서 5분간 predenaturation 과정을 거쳐서 94℃에서 30초 동안 denaturation, 62℃에서 30초 동안 annealing, 그리고 72℃에서 30초 동안 extension의 과정을 반복해서 30 cycle을 수행하고, 72℃에서 10분간 최종 extension을 수행한 뒤 1.5% agarose gel에서 정기영동하여 Image analyzer (Gel Doc 2000, Bio-Rad)로 분석하였다. LH-R 유전자 발현양은 대조군으로 사용된 β-actin 유전자 발현양으로 normalization한 뒤 통계적으로 분석하였다.

4. 환자군의 특성

본 연구의 대상은 정상반응 환자 80명과 저반응 환자 20명으로 구성되었으며, 모든 환자의 연령, basal FSH, LH, 그리고 E_2 농도를 측정하여 두 군간의 차이를 확인하였다 (Table 1). 기본적인 특성 외에 치료를 위해 사용된 과배란 유도법, 채취된 난자의 개수, 배아의 발달 및 임신여부 등을 조사하여 통계적 분석을 위한 자료로 사용하였다.

5. 통계분석

통계적 분석은 χ^2 test, Student's *t*-test, 그리고 Pearson correlation을 이용하여 검증하였으며, 분석결과 P 값이 0.05 미만인 경우만 통계적으로 유의차가 있는 것으로 판단하였다.

결 과

1. LH - R의 발현양과 채취된 난자 개수와의 상관관계

전체 환자를 대상으로 조사된 LH-R의 발현양과 불임치료 중 채취된 난자의 개수와의 상관관계를 조사한 결과, LH-R의 발현양이 증가할수록 채취된 난자의 개수가 통계적으로 유의하게 증가함을 알 수 있었다 (Figure 1). 한편, 정상반응 환자군과 저반응 환자군에서 발현되는 LH-R의 양적인 차이를 비교해본 결과 정상반응 환자군의 과립세포에서 발현양이 유의하게 높은 것을 확인할 수 있었다 (0.681 vs. 0.462, $p<0.05$) (Figure 2).

2. LH - R의 발현양에 따른 배아 발달율 및 임신율의 비교

수정 후 배아의 발달 등급 (scoring)은 수정 후 2일째 (Day 2)와 3일째 (Day 3)에 각각 배아의 질 (embryo quality)을 할구의 명확성과 fragmentation의 존재 유·무에 따라 5단계로 나누어 평가하였다.[25] 수정 2일째에는 정상반응 환자의 배아 발달율 보

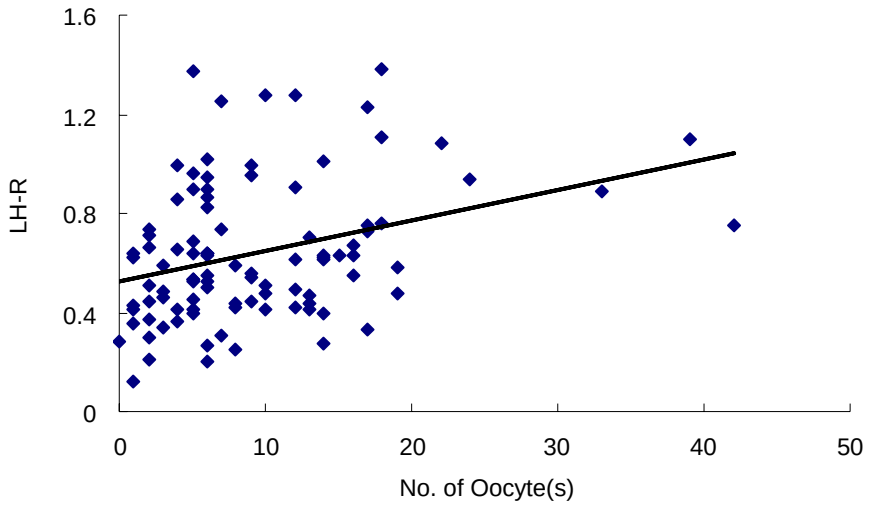

Figure 1. The relationship between expression level of LH-R and number of retrieved oocytes ($p<0.05$).

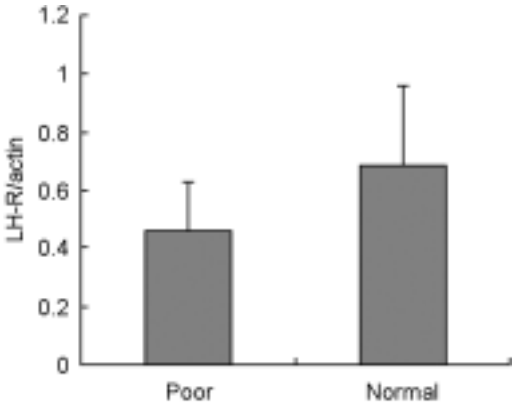

Figure 2. The expression level of LH-R mRNA in poor and normal responders ($p<0.05$).

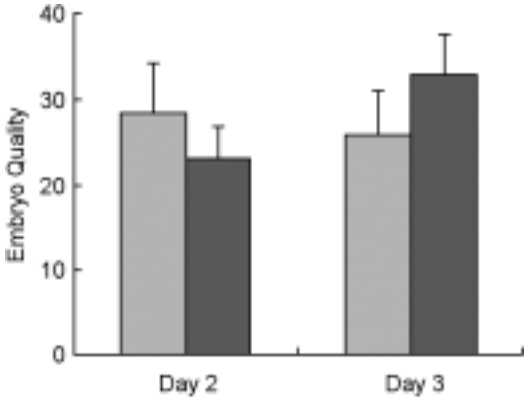

Figure 3. Developmental potency of cultured embryos in poor and normal responder groups ($p>0.5$). (□, poor responder group; ■, normal responder group)

다 저반응 환자의 배아 발달율이 높게 나타났으나 (28.333 vs. 22.893, p=0.63), 3일째에는 정상반응 환자군의 배아의 발달율이 높게 나타남을 확인할 수 있었으며 (25.65 vs. 32.83, p=0.5), 모두 통계적 유의성의 확인되지 않았다 (Figure 3). 정상반응 환자군과 저반응 환자군의 임신율은 각각 54.7% (41/75)와 23.1% (3/13)로 정상반응 환자군의 임신율이 통계적으로 유의하게 현저히 높은 것을 알 수 있다 ($p< 0.05$) (Figure 4).

3. 과배란 유도법에 따른 임신율

정상반응 환자군과 저반응 환자군에서 LH-R의 발현양을 과배란 유도 시 사용된 성선자극호르몬의 투여군 (FSH 단독 투여군, FSH + hMG 병용 투여군)에 따라 확인한 결과 FSH 단독 투여군보다 FSH와 hMG 병용 투여군의 과립세포에서 유의하게 높게 발현되는 것을 확인할 수 있었다 (Figure 5). 한편, 저반응 환자군은 FSH만을 투여한 경우 임신된 환자가 없었으며 (0/5), FSH와 hMG 병용 투여한 경우 37.5% (3/8)의 임신율을 보였으며, 정상반응 환

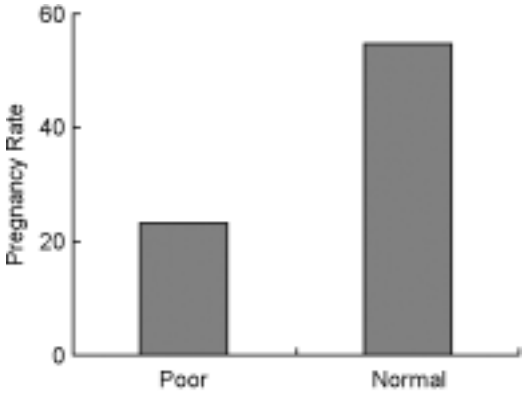

Figure 4. Pregnancy rates in poor and normal responder groups ($p<0.05$).

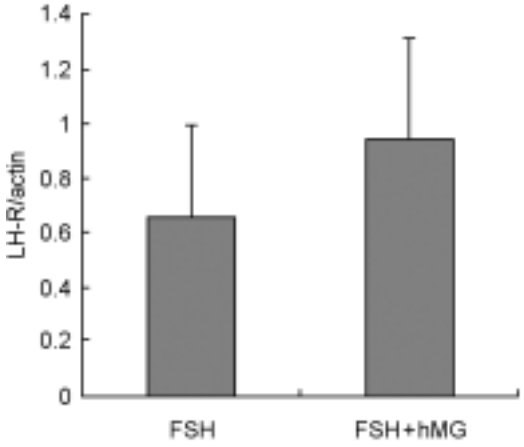

Figure 5. The expression level of LH-R mRNA according to COH protocols including FSH alone or FSH combined with hMG injected groups ($p<0.05$).

자의 경우 FSH 단독 투여군에서는 56.1% (32/57)와 FSH와 hMG 병용 투여군에서는 50% (9/18)의 임신율을 각각 보였다 (Figure 6).

고 찰

정상적인 난포의 성장과 성숙에는 수 많은 요인들이 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 이중에 난포막세포와 과립세포들에서 작용하여 직접적으로 난포의 성장과 성숙 및 배란을 조절하는 FSH와 LH는 folliculogenesis를 조절하는 대표적인 인자들로 주로 FSH는 난포의 성장을 조절하며, LH는 배란을

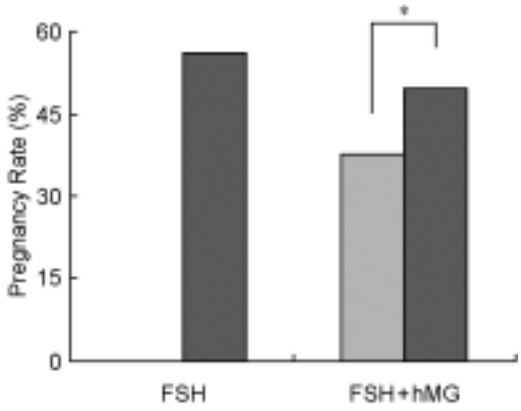

Figure 6. Pregnancy rates in poor and normal responders according to COH protocols including FSH alone or FSH combined with hMG injected groups (*, $p<0.05$). (■, poor responder group; ■, normal responder group)

유도하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이러한 난포의 성장과 성숙 과정의 이해는 비정상적 난포의 성장과 성숙으로 인한 불임 환자들을 치료하기 위한 과배란 유도법에 직접적으로 이용되고 있다. 시험관아기 시술 과정에서는 난자의 성장과 성숙의 인위적인 조절을 여러 가지 과배란 유도법을 사용하고 있는데, 주로 FSH와 LH의 투여에 의한 난포의 성장을 유도하고 있다. 그러나 불임 환자들의 약 20% 정도의 환자들은 성선자극호르몬에 대한 비정상적인 반응으로 인한 난포의 성장 및 성숙 장애로 인한 저반응 환자로 꾸준한 연구에도 불구하고 아직 명확한 원인 및 그에 따른 효율적인 치료법이 제시되지는 못하고 있다. 현재 저반응 환자의 치료에는 일반적으로 과배란 유도 시 사용되는 FSH와 더불어 과배란 유도 시작 또는 유도 과정 중에 hMG의 병용 투여법이 사용되고 있다. 2001년 Placido 등은 저반응 환자의 효율적인 치료를 위한 과배란 유도 시에 FSH에 대한 반응 (난포의 성장 및 혈중 에스트로젠 농도 측정)에 따라 hMG의 병용 투여할 경우에 저반응 환자의 임신율을 향상시킬 수 있음을 보고함으로써 저반응 환자의 치료에 있어서 LH의 역할이 난포의 성장조절에 중요한 역할을 한다는 것을 입증했다. LH는 일반적으로 folliculogenesis 과정에서 안드로젠의 합성 (androgen biosynthesis)과 안드로스테네다이온을 에스트로젠으로 전환시켜 주는 역할을 하는 아로마타제의 활성 (aromatase acti-

vity)을 증가시켜줌으로써 난포의 성장을 조절하며, 배란을 유도하는 역할을 하는 것으로 잘 알려져 있다. 이러한 역할은 LH의 역할이 제한된 환경에서 에스트로젠의 농도 감소, 배란장애, 수정율의 감소 및 임신율의 감소 등의 결과보고를 토대로 검증된 것으로, 최근에는 정상적인 난포의 성장과 성숙을 위해 저농도의 LH의 작용이 folliculogenesis가 진행되는 동안 지속적으로 필요한 것으로 알려져 있다.

본 연구결과에서 볼 수 있듯이 저반응 환자군은 혈중 FSH 농도가 정상반응 환자군에 비해 유의하게 높게 나타남에도 불구하고 과립세포에서 적은 양의 LH-R 발현을 보이며, 이 결과 저반응 환자의 혈중 에스트로젠의 농도 감소를 유발하는 것으로 사료되며, 이 두 환자군 간의 혈중 LH 농도는 별다른 차이를 보이지 않았다. 또한 회수된 난자의 평균 개수 (1.75개 vs. 11.09개)와 임신율은 (23.1% vs. 54.7%) 모두 정상반응 환자군에서 통계적으로 유의하게 높게 나타남을 알 수 있었다. 한편, 저반응 환자는 회수된 난자가 없거나 수정 및 배아의 발달 장애로 인해 35% (7/20)의 높은 이식 취소율 (embryo transfer cancellation rate)을 나타냄으로써 3.8% (3/80)의 환자에서 이식이 취소된 정상반응 환자에 비해 불임 치료에 어려움이 있는 것을 알 수 있었으며, 이에 대한 한 가지 원인으로 이식 당일 배아의 질을 확인하여 배아 발달율을 확인한 결과 저반응 환자에서 낮은 배아 발달율 (25.65 vs. 32.83)을 관찰할 수 있었다. 저반응 환자의 치료를 위한 과배란 유도법에 따른 LH-R 발현 양상과 임신율의 상관관계를 확인한 결과 FSH만을 투여하여 과배란을 유도한 환자에서보다 FSH와 hMG를 병용 투여한 환자군에서 높은 LH-R 발현 양상을 보이는 것을 확인할 수 있었다. 정상반응 환자들의 경우 FSH 단독 또는 FSH와 hMG의 병용 투여군 모두에서 유사한 임신율 (56.1% vs. 50%)을 보였으나, 저반응 환자군에서는 FSH만을 사용하여 과배란 유도를 한 경우에 성공적인 임신이 확인되지 않은 (0/5) 반면, FSH와 hMG를 병용 투여한 환자들에서는 37.5% (3/8)의 비교적 높은 임신율을 얻을 수 있었다. 한편 결과에는 제시되지 않았으나 과립세포에서 발현되는 FSH-R, IGF-I, IGF-2, 그리고 IGF-1R의 발현 양상은 저반응 환자군과 정상반응 환자군 간에 차이를 보이지 않았다.

이러한 결과로 보아 저반응 환자들의 과배란 유도에는 LH의 작용이 필수적임을 확인할 수 있었으며, 과립세포에서 발현되는 LH-R의 발현 정도는 혈중 에스트로젠 농도의 증가 및 난포의 성장 및 성숙을 조절하여 불임치료를 통한 임신율 상승을 유도할 수 있는 중요한 인자 중에 하나로 사료되며, 저반응 환자들의 과배란 유도 시 hMG의 효율적인 사용에 대한 기초자료를 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Fevold HL. Synergism of follicle stimulating and luteiniznig hormone in producing oestrogen secretion. J Clin Endocrinol Metab 1941; 21.
2. Short RV. Steroids in the follicular fluid and the corpus luteum of the mare. A 'two-cell type' theory of ovarian steroid synthesis. J Endocrinology 1962; 24: 59-63.
3. Schoot DC, Coelingh Bennink HJ, Mannaerts BM, Lamberts SW, Bouchard P, Fauser BC. Human recombinant follicle-stimulating hormone induces growth of preovulatory follicles without concomitant increase in androgen and estrogen biosynthesis in a woman with isolated gonadotropin deficiency. J Clin Endocrinol Metab 1992; 74: 1471-3.
4. Filicori M. The role of lutenizing hormone in folliculogenesis and ovulation induction. Fertil Steril 1999; 71: 405-14.
5. Levy D, Navarro J, Schattman G, Davis OK, Rosenwaks Z. The role of LH in ovarian stimulation: exogenous LH: let's design the future. Hum Reprod 2000; 15: 2258-65.
6. Erickson GF, Hsueh AJW. Stimulation of aromatase activity by follicle stimulatin hormone in rat granulose cells in vivo and in vitro. Endocrinology 1978; 102: 1275-83.
7. Garcia JE, Jones GS, Acosta AA, Wright G. HMG/HCG follicular maturation for oocytes aspiration: phase II. Fertil Steril 1983; 39: 174-9.

8. Vargyas J, Morente C, Shangold G. The effect of different methods of ovarian stimulation for human in vitro fertilization and embryo replacement. Fertil Steril 1984; 42: 745-7.
9. Forti G, Krausz C. Evaluation and treatment of the infertile couple. Fertil Steril 1998; 83: 4177-88.
10. Benadiva C, Ben-Rafael Z, Strauss JF 3rd, Mastroianni L Jr, Flickinger GL. Ovarian response of individuals to different doses of human menopausal gonadotropin. Fertil Steril 1988; 49: 997-1001.
11. Land JA, Yarmolinskaya MI, Dumoulin JC, Evers JL. High-dose human menopausal gonadotropin stimulation in poor responders does not improve in vitro fertilization outcome. Fertil Steril 1996; 65: 961-5.
12. Scott RJ. Evaluation and treatment of low responders. Semin Reprod Endocrinology 1996; 14: 317 -37.
13. Karande V, Morris R, Reinehart J, Miller C, Rao R, Gleicher N. Limited success using the "flare" protocol in poor responders in cycles with low basal follicle-stimulating hormone levels during in vitro fertilization. Fertil Steril 1997; 67: 900-3.
14. Keay SD, Liversedge NH, Mathur RS, Jenkins JM. Assisted conception following poor ovarian response to gonadotrophin stimulation. Br J Obstet Gynaecol 1997; 104: 521-7.
15. Beckers NG, Macklon NS, Eijkemans MJ, Fauser BC. Women with regular menstrual cycles and a poor response to ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization exhibit follicular phase characteristics suggestive of ovarian aging. Fertil Steril 2002; 78: 291-7.
16. de Boer EJ, den Tonkelaar I, te Velde ER, Burger CW, Klip H, van Leeuwen FE. A low number of retrieved oocytes at in vitro fertilization treatment is predictive of early menopause. Fertil Steril 2002; 77: 978-85.
17. Nikolaou D, Lavery S, Turner C, Margara R, Trew G. Is there a link between an extremely poor response to ovarian hyperstimulation and early ovarian failure? Hum Reprod. 2002; 17: 1106-11.
18. De Placido G, Mollo A, Alviggi C, Strina I, Varricchio MT, Ranieri A et al. Rescue of IVF cycles by HMG in pituitary down-regulated normogonadotrophic young women characterized by a poor initial response to recombinant FSH. Hum Reprod 2001; 16: 1875-9.
19. Kligman I, Rosenwaks Z. Differentiating clinical profiles: predicting good responders, poor responders, and hyperresponders. Fertil Steril 2001; 76: 1185-90.
20. Neulen J, Wenzel D, Hornig C, Wunsch E, Weissenborn U, Grunwald K et al. Poor responder-high responder: the importance of soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 in ovarian stimulation protocols. Hum Reprod 2001; 16: 621-6.
21. Quintana R, Kopcow L, Marconi G, Sueldo C, Speranza G, Baranao RI. Relationship of ovarian stimulation response with vascular endothelial growth factor and degree of granulosa cell apoptosis. Hum Reprod 2001; 16: 1814-8.
22. Rao CV. Multiple novel roles of luteinizing hormone. Fertil Steril 2001; 76: 1097-100.
23. Thiruppathi P, Shatavi S, Dias JA, Radwanska E, Luborsky JL. Gonadotrophin receptor expression on human granulosa cells of low and normal responders to FSH. Mol Hum Reprod 2001; 7: 697-704.
24. Tarlatzis BC, Zepiridis L, Grimbizis G, Bontis J. Clinical management of low ovarian response to stimulation for IVF: a systematic review. Clinical management of low ovarian response to stimulation for IVF: a systematic review. Hum Reprod Update 2003; 9: 61-76.
25. Saith RR, Srinivasan A, Michie D, Sargent IL. Relationship between the developmental poteitial of human in-vitro fertilization embryos and features describing the embryo, oocyte and follicle. Hum Reprod Update 1998; 4: 121-34.