

체외수정 과배란 유도에서 hCG 주사 당일의 혈청 Progesterone과 Estradiol 농도가 수정을 및 임신율에 미치는 영향에 관한 연구

중앙대학교 의과대학 산부인과학교실

이은숙 · 이상훈 · 배도환

The Effect of the Serum Progesterone and Estradiol Levels of hCG Administration Day on the Pregnancy and Fertilization Rate in IVF-ET Patients

Eun Sook Lee, Sang Hoon Lee and Do Hwan Bae

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

=Abstract=

Controlled Ovarian hyperstimulation(COH) is generally used to obtain synchronous high quality oocytes in in vitro fertilization-embryo transfer(IVF-ET). Many investigators have studied the relationship between serum hormone levels and outcomes of IVF-ET because there is no accurate estimation method of oocyte quality.

Early premature luteinization of follicles before oocyte retrieval is the most troublesome problem in COH for IVF-ET. Gonadotropin-releasing hormone agonists(GnRH-a) are used as adjuncts with gonadotropins for COH in patients undergoing in IVF. The possible benefits of GnRH-a pretreatment include improving oocyte quality, allowing a more synchronous cohort of follicles to be recruited, and preventing premature luteinization hormone surges. In COH of IVF cycles, we investigated whether an elevated progesterone(P4) level on the day of human chorionic gonadotropin(hCG) administration indicates premature luteinization and is associated with a lower fertilization rate. Many investigators have studied that the lower fertilization rates seen in patients with elevated P4 levels might result from an adverse effect of P4 on the oocytes. We hypothesizes that serum P4 levels around the day of hCG may be helpful prediction of out come in IVF-ET cycles.

Success rates after COH of IVF-ET cycles are dependent upon many variable factors. Follicular factors including the number of follicles, follicular diameters and especially serum estradiol(E2) levels as an indirect measurement of follicular function and quality have been thought to influence the outcomes of IVF-ET.

To assess whether serum P4 and E2 levels affect the fertilization and pregnancy rate, we reviewed the stimulation cycles of 113 patients (119 cycles) undergoing IVF-ET with short protocol with GnRH-a, from March 1993 to August 1994 retrospectively. The serum P4 and E2 levels were compared on the day of hCG in the pregnant group, 45 patients(47 cycles) and in the non-pregnant group, 68 patients (72 cycles) respectively. The serum E2 level in non-pregnant group was 1367 ± 875.8 pg/ml which was significantly lower than that of pregnant group, 1643 ± 987.9 pg/ml($p < 0.01$). And the serum P4 level in non-pregnant group was 2.1 ± 1.4 ng/ml

which was significantly higher than that of pregnant group, 1.0 ± 0.7 ng/ml ($p < 0.001$). The fertilization rate was $61.3 \pm 21.3\%$ in pregnant group which was higher than that of non-pregnant group, $41.1 \pm 20.2\%$ ($p < 0.01$).

We suggest that the serum levels of P4 and E2 on the day of hCG administration are additional parameters that predict the outcomes of IVF-ET cycles.

Key Words: Progesterone, Estradiol, IVF-ET, Fertilization Rate.

서 론

과배란 유도는 불임환자에서 체외수정 및 자궁내 배아의 이식에 있어서 보다 수정율을 높이기 위하여 널리 사용되고 있다. 그러나 난소의 과배란 유도에도 불구하고 체외수정에 있어서 그 성공율은 비교적 낮은편이다. 과배란으로 유도된 난자의 질을 정확히 예측할 방법이 없기 때문에 많은 연구자들은 수정율 및 임신율을 예측하기 위하여 혈중의 호르몬치와 체외수정 및 배아이식 후의 결과와의 관계를 연구하였다. 불임시술 방법 중 과배란 및 체외수정 시술의 발달에 따라 그 성공율에 대한 관심이 높아지면서 과배란시 변화하는 혈중 호르몬 양상에 관한 관심을 가져왔다. 체외수정시술을 위한 과배란 유도에 있어서 난자채취 전에 발생하는 난포의 조기 황체화가 가장 큰 문제점으로 대두되었다. Gonadotropin-releasing hormone agonists (GnRH-a)는 체외수정시술 환자에서 성선자극호르몬과 더불어 과배란 유도를 위해 많이 사용되고 있다. GnRH-a를 사용함으로써 난자의 질을 개선하고 조기황체화를 감소시키는 효과를 얻고 있다(Edelstein et al., 1990). GnRH-a를 사용하지 않은 환자에서는 혈중 황체호르몬(Luteinizing Hormone, LH) 치에 대한 측정은 human Chorionic Gonadotropin (hCG) 투여시기를 결정하는데 도움을 주고, 황체호르몬치(LH)의 증가는 조기 황체화를 의미하며 이러한 조기 황체화에 의하여 난자의 과성숙 및 수정율의 감소, 저조한 임신율을 초래하게 된다.

정상적인 생리 주기에서 혈중 P4치의 상승은 LH surge가 일어나기 12시간에서 24시간전에 일어난다는 사실은 잘 알려진 바로(Pauerstein et al., 1978) 혈중 P4치도 수정 및 임신의 결과에 관여를 한다는 많은 연구들이 진행되어 왔다. Feldberg(1989) 등에 의하면 hCG투여 당일 혈중 P4치가 높을 경우 수정, 분할 및 임신율에 있어서 그 성적이 저조하다고 보고하였고 Stranger

(1985) 등은 기저 혈중 LH level이 높은 환자에서는 성숙된 난자에서의 수정율이 의미있게 감소한다고 보고하였다. 최근에 Silverberg(1991) 등에 의하여 후기 난포기 혈청내 P4의 수치가 0.9ng/ml 이상 증가된 주기에서 임신율이 낮고, 혈청내 P4의 수치가 0.4 ng/ml 이하인 주기에서는 임신율이 상대적으로 증가한다고 하였다. 이러한 P4의 증가가 성숙 난자수, 수정율, 다정자증, 배아 등급에 어느 정도 영향을 미치고 P4의 증가시 낮은 수정율을 보이는 것에 대해 P4의 표적기관이 자궁내막이라는 것과 과배란 주기동안 자궁내막의 발달에 이상을 초래한다는 것을 증명하려는 많은 노력이 있었다. 또한 Margalioth(1993) 등에 의하면 혈중 E2농도가 자궁내막 수용체에 작용을 하여 착상에 영향을 준다고 하였다. 체외수정시술에서의 성공적인 결과는 여러가지 인자에 의하여 영향을 받는데 Lopata(1983)는 난포의 수, 직경 및 난포 및 혈중내의 E2치는 간접적으로 난포의 기능을 반영해주며 결과적으로 수정율 및 임신율에 영향을 준다고 보고하였다.

이에 중앙대학교 산부인과학교실에서는 체외수정시술을 시행할 불임환자를 대상으로 과배란 유도를 시행한 주기에서 hCG 투여 당일 혈청내 E2 및 P4농도를 측정하여 수정율 및 임신율에 영향을 주는지 여부를 보고자 본 연구를 실시하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상

중앙대학교 부속병원 산부인과학교실 불임클리닉에 등록된 환자중 1993년 3월부터 1994년 8월까지 체외수정시술을 시행한 환자 113명(119주기)을 대상으로 하였다. 과배란유도 후 체외수정 및 배아이식 후 임신이 된 군 45명(47주기)과 임신이 되지 않은 군 68명(72주기)을 비교연구하였다.

환자의 평균 연령 및 불임기간은 임신군에서

Table 1. The Clinical Characteristics of the pregnant group and non-pregnant group

	Preg.group	Non-preg.
No. of Patients(Cycles)	45 (47 cycles)	68 (72 cycles)
Age (yr)	33.2±14.8	34.5±21.7
DOI (yr)	4.2±3.4	3.9±2.8

DOI= Duration of Infertility

33.2±14.8세 및 4.2±3.4년이었으며 비임신군에서는 34.5±21.7세 및 3.9±2.8년으로 연령 및 불임기간의 차이는 없었다(Table 1).

2. 과배란 유도 방법

배란유도는 GnRH-a 병합요법중 short protocol 을 이용하여 배란유도하였다. 월경 3일째부터 GnRH-a(Decapeptyl, ICI Lab, Switzerland) 0.1mg과 hMG(Pergonal®, Serono, Switzerland) 150-225 IU 를 hCG 투여전까지 각각 피하 및 근주하였다. 체외수정시술 주기에서는 월경 시작8일째부터 매일 질식초음파로 성장하는 난포의 최대 직경을 측정하여 우성난포가 18.0mm이상이거나 직경 14.0mm이상인 난포가 2개이상 관찰되면 hCG(Profasi, Serono, Switzerland) 10000 IU를 근육주사하였다.

3. 난자 채취

hCG를 투여하고 36시간 후 Demerol 50mg과 Valium 10mg을 정맥주사하여 국소마취를 하고 질식초음파를 이용하여 질벽을 통해 난자를 흡입하였다. 난자를 포함하고 있는 난포액을 2ml의 Dulbecco's phosphate buffered saline(D-PBS)을 포함하고 있는 난포액 수집용기에 흡입하였다. 난자흡입 후 주사침내에 난자가 남아있지 못하도록 2ml의 D-PBS를 주사침내로 반복 관류하였다.

난포액과 D-PBS용액이 섞여 있는 채집용기를 배양실로 옮겨 혼합액의 양과 색을 기록한 후 배양접시(#3002, Falcon Plastics, USA)에 옮겨 담아 해부현미경으로 난자의 존재를 확인하고 또한 도립현미경으로 난자의 형태를 관찰하였다.

4. 난자의 배양 및 수정 확인

기초배양액은 Ham's F-10(Gibco #430-1200)과 5차 증류수, 그리고 penicillin G 75mg, streptomycin sulfate 75mg을 섞어서 만든 후 가압 여과 소독을 시행하여 4℃ 냉장고에 25ml씩 분할, 보

관하던 4배 농축된 배지를 사용하였다. 실제 연구에 사용할 때는 Ham's F-10기초배양액 25ml에 5차 증류수 75ml를 더 첨가하여 희석하고 calcium lactate 24.52mg과 NaHCO₃ 210.6mg을 추가하여 pH 7.4, 삼투압 280-285mOsm/L로 조절된 배양액으로써 매 실험직전 가압여과 소독하여 사용하였다. 난포액 흡입으로 획득한 난자중에서 배란직전의 성숙난자의 경우에는 Jones(1983) 등의 방법을 이용하여 7.5% 신생아 제대혈청을 추가로 섞은 배양액으로 6-8시간 추가배양을 시행하였다. 수정은 제1극체가 방출된 것을 확인한 후 시도하였다.

수정여부의 확인은 정자를 넣고 16-20 시간 후에 micropipet이나 28 gauge 바늘침으로 주위의 과립세포를 제거하여 난자에서 2개의 전핵을 관찰함으로써 판정하였다.

5. 정자의 준비 및 수정

남편의 정액을 수정 3, 4시간 전에 무균적으로 채취하여 실온에서 30분간 방치하여 액화시킨 후 정자의 수, 운동성등을 관찰하고 기록하였다.

정자에 수정능력을 부여(capacitation)하기 위해 정액정량을 6ml의 80% 등장액 상층부에 옮기고 피펫을 사용하여 연속적인 밀도차를 형성시킨 후 2000rpm으로 30분간 원심분리를 시켰다.

상층액을 제거하고 여기에 2ml가량의 수정배양액(Ham's F-10+7.5% 신생아제대 혈청)을 추가 후 원심분리(1000 rpm, 10분)를 되풀이하고 정자의 원침(pellet)을 만들었다. 여기에 0.5-1ml의 수정배양액을 정자의 원침이 흔들리지 않도록 서서히 추가한 후 5% CO₂, 37℃ 배양기내에 2시간 동안 방치하여 운동성 정자가 상층액에 부유된 것을 확인한 후 상층액만 모아 다시 한번 정자의 수와 정자의 운동성을 검사한 후 추가 배양이 끝난 난자와 수정시켰다. 이때 수정배양액내의 정자의 농도는 0.5x10⁶/ml가 되도록 하였다. 수정 16-18시간후에 15%의 신생아 제대혈청을 포함한 Ham's F-10 성장배양액으로 옮겼다.

6. 배아이식 및 임신의 확인

성장배양액으로 옮긴 직후 난자의 수정여부를 역반사현미경으로 관찰하였고 수정 42-48시간후에 난할을 관찰하였다. 난할이 확인된 배아는 Jones 등(1983)이 고안한 이식관을 이용하여 자궁내 이식을 시행하였고 배아이식 후에는 최소

Table 2. The Basal Serum Hormonal Concentrations in pregnant group and non-pregnant group

	Pregnant group (n=47)	Non-pregnant group (n=72)
Estradiol (pg/ml)	64.2±18.2	58.6±19.3
LH (ng/ml)	12.3±3.2	11.8±4.7
FSH (mIU/ml)	18.6±2.8	16.4±3.7
N.S.		

Table 3. The Hormonal Concentrations on the Day of hCG Administration in Pregnant Group and Non-pregnant group

	Pregnant group (n=47)	Non-pregnant group (n=52)
Estradiol ^a (pg/ml)	1643±987.9	1367±875.8
LH ^b (ng/ml)	16.7±10.4	18.3±8.3
Progesterone ^c (ng/ml)	1.0±0.7	2.1±1.4
E2/P4 ratio ^d	1865.6±318.1	1324±377.7

a, b, d; p<0.01 c; p<0.001

Table 4. The fertilization rates in Pregnant Group and Non-pregnant Group

	Pregnant group	Non-pregnant group
Number of cycles	47	72
Fertilization Rate(%) [*]	61.3±21.3	41.1±20.2
Number of ET	4.2±2.2	2.3±1.2

*; p<0.01

한 6시간정도 안정을 시켰고 Progesterone in oil (Progest, 삼일제약) 25mg을 배아이식 당일부터 근주하였다.

체외수정시술 후 임신여부는 배아이식 후 제 12일째에 혈청 β -hCG 농도를 측정하여 10mIU/ml 이상이면 임신(chemical pregnancy)로 판정하였다. 혈중 β -hCG의 측정은 hCG-beta-kit(Serono Diagnostics, Switzerland & International)을 이용한 방사면역측정법을 사용하였다. 이 측정의 민감도는 3mIU/ml이며 interassay variance와 intraassay variance는 각각 6.0%, 3.1%이었다.

7. 혈중호르몬검사

생리주기 2일째에 기저 혈청 E₂, LH, FSH치와 hCG 투여일에 E₂, LH, P4치를 측정하여 임신이

된 군과 임신이 되지 않은 군에서 호르몬 치를 비교하였다.

Progesterone 측정은 ¹²⁵I-labeled progesterone을 이용한 radioimmunoassay로 측정하였다. (Coat-A-Count Progesterone).

E₂ 측정은 rabbit antiserum-17 β -E₂-(o-carboxymethyl)oxine-bovine serum albumin을 이용한 방사면역측정법으로 estradiol-ter-kit(Serono Diagnostics, Switzerland & International)을 사용하였고 E₂ 측정의 민감도는 20-2000pg/ml이고 estrone과의 교차반응도는 1.3%, estriol과는 0.4%이었으며 interassay variance는 4.2%이고 intraassay variance는 5.5%이었다.

결 과

생리주기 2일째의 기저 호르몬농도는 임신군에서 E2, LH, FSH가 각각 64.2 ± 18.2 pg/ml, 12.3 ± 3.2 ng/ml, 18.6 ± 2.8 mIU/ml이었고 비임신군에서의 E2, LH, FSH의 농도는 각각 58.6 ± 19.3 pg/ml, 11.8 ± 4.7 ng/ml, 16.4 ± 3.7 mIU/ml로 두 군간의 차이는 없었다(Table 2).

hCG 투여 당일 측정된 혈중 E2치는 임신군에서는 1643 ± 987.9 pg/ml, 비임신군에서는 1367 ± 875.8 pg/ml로 임신군에서 유의하게 높았고 ($P < 0.01$), 혈중 LH치는 임신군에서는 16.7 ± 10.4 ng/ml, 비임신군에서는 18.3 ± 8.3 ng/ml로 임신군에서 유의하게 낮았다 ($P < 0.01$). 그리고 혈중 P4치는 임신군에서는 1.0 ± 0.7 ng/ml였고 비임신군에서는 2.1 ± 1.4 ng/ml로서 임신군에서 유의하게 낮았다 ($P < 0.001$). hCG 투여당일 E2/P4 비는 임신군에서 1865.6 ± 318.1 , 비임신군에서는 1324 ± 377.7 로서 유의한 차이가 있었다 ($P < 0.01$)(Table 3).

주기당 수정율은 임신군 47주기에서 $61.3 \pm 21.3\%$, 비임신군 72주기에서는 $41.1 \pm 20.3\%$ 로 임신군에서 의미있게 높으며 ($P < 0.01$), 이식된 배아의 수는 임신군 47주기에서 4.2 ± 2.2 개, 비임신군 72주기에서는 2.3 ± 1.2 개로 두 군간의 차이는 없었다(Table 4).

고 찰

보조생식술에 있어서 GnRH-a 도입이 되기 전까지는 hMG (human menopausal gonadotropin) 또는 clomiphene citrate(CC)를 사용한 환자에서 난자의 성숙이 일어나기 전에 약 20-50%에서 조기 LH surge가 발생한다(Fleming and Coutts, 1986; Eibschitz et al., 1986). 또한 이러한 자발적인 조기 LH surge는 불완전한 난자의 성숙 및 획득, 저조한 수정율과도 관련이 있다(Lejeune et al., 1986; Stanger and Yovich, 1985). 혈중내 증가된 P4 치는 또한 LH의 spontaneous surge와도 관련이 있는데(Fleming and Coutts, 1986; Serafini et al. 1988) 최근에는 GnRH-a 치료를 받지 않고 CC와 성선자극호르몬으로 치료받은 환자에서 혈중 P4치가 증가한 주기에서 수정율이 저조하다고 보고되었다 (Dirnfield et al., 1993; Kagawa et al., 1992). 과배란 유도를 하기전 난소의 호르몬 분비를 억제하기 위해 GnRH-a가 널리 사용됨에 따라 조기 LH surge는 감소하였고 그로 인하여 난포의 형성, 성숙된 난자의 생성등이 동시에 개선

되었고 전체적인 임신 예후도 증가하였다(Drosesch et al., 1989; Neveu et al., 1987; Schmutzler et al., 1988). GnRH-a로 뇌하수체가 억제된 후 과배란유도를 받고 있는 여성에 있어서 혈중 P4치의 예견지표 가능성 및 그 효용성에 대한 연구가 많이 진행되어왔다. Schoolcraft (1991) 등은 혈중 P4치가 임신의 예후를 예견해주는 지표가 될 수 있다고 하였는데 hCG투여 당일 혈중 P4치가 0.9 ng/ml 이상이면 체외수정술 후 임신율은 현저히 감소한다고 하였다. 또한 증가된 혈중 P4치는 조기황체화를 의미한다고 보았고 과량의 P4는 난자의 과성숙, 수정의 감소, 저조한 결과를 초래한다고 하였다. Silverberg (1991)등은 연구대상 환자 115명중 혈중 P4치가 0.9 ng/ml 이상인 환자 14명에게서는 임신이 하나도 되지 않았으며 혈중 P4치가 0.4ng/ml에서 0.9ng/ml인 81명의 환자는 혈중 P4치가 0.4 ng/ml 이하인 18명의 환자에 비하여 임신율이 낮았다. 다른 한편으로는 Trounson과 Calabrese(1984)는 LH surge가 일어나기 전의 P4의 상승은 hCG의 투여시기를 결정하여주는 좋은 지표가 된다고 하였다. 최근 많은 연구자들은 GnRH-a를 사용하여 조기 LH surge를 억제하려고 시도하였다. 그러나 Urbancsek(1990) 등은 GnRH-a를 사용한 환자에서 혈중 P4 치는 GnRH-a를 사용하지 않은 환자에서와 별 차이가 없다고 하였고 Edelstein(1990)등은 GnRH-a로 억제를 시킨 후 과배란유도를 시킨 환자에서 상대적으로 P4 치가 높다고 보고하였다. 또한 Mio (1991)등은 GnRH-a를 사용한 환자에서 혈중 P4 치의 상승은 수정율과 임신율이 저하된다고 보고하였다. Schoolcraft(1991)등은 GnRH-a를 사용하여 LH 농도를 억제시킨 환자에서도 높은 혈중 P4농도는 임신율이 저하된다고 보고하였다. 그러므로 체외수정술에 있어서 조기 황체화에 대한 영향은 아직도 그 의문점이 많이 남아 있다.

많은 환자에서 혈중 P4를 증가시키는데 관여하는 생리적기전을 살펴보면 혈중 P4치는 같은 날 측정된 혈중 E2치와 hCG 투여날 초음파로 보이는 11.0mm 이상의 난포의 수, 난포성숙시 얻어지는 난자의 수와 관련이 있음을 알 수 있고 이러한 결과는 혈중내 P4의 다량의 성숙된 난포로부터의 분비를 반영한다.

정상생리주기동안 배란전기(preovulatory follicle)에서의 P4 분비는 LH surge를 유도시키고

이러한 현상이 발생되는데 필수적이다(Collins and Hodgen, 1986; Liu and Yen, 1983). 그러나 난포기(follicular phase)에서의 P4의 도입은 아직도 확실하게 밝혀지지 않고 있다. 혈중 P4치는 LH surge가 일어나는 시기에 증가하기 시작되는데 대개 혈중 LH의 증가가 일어나기 3시간에서 12시간전에 일어난다 (Hoff et al., 1983; Trounson and Calabrese, 1984). LH surge 시기 및 그 직전의 혈중 P4의 증가는 증가된 뇌하수체 LH 자극에 대한 과립막세포(granulosa cell)의 반응으로 볼 수 있다. 다른 한편으로 혈중 P4는 LH surge에 대한 estrogen의 양성 되먹이기전(positive feedback)을 강화시켜준다(Hoff et al., 1983). 이러한 의미에서 보면 인위적으로 뇌하수체의 억제를 받고 있는 환자에서 증가된 혈중 P4치는 조기황체화 현상이 아니라 다수의 자극된 난포의 난포막세포(theca cell)로부터 적절한 배란전기 호르몬의 분비라고 볼 수 있다.

Schoolcraft(1991)등은 hCG의 투여를 늦게하는 것이 P4를 증가시키는 주된 요인으로 보았다. 혈중 P4를 상승시키는 다른 요인으로는 외인성 HMG 투여로 인한 과립막세포(granulosa cells)에 대한 고농도의 LH에 대한 노출이다. 또한 GnRH-a에 의한 내인성 LH의 억제가 부적절한 경우 혈중 P4가 상승할 수 있다. 자연주기에서 혈중 P4치는 후기 난포기(late follicular phase)시 증가하여 내인성 LH surge를 일으킨다(March et al., 1979). 내인성 LH surge가 체외수정시술주기에서 수정율에 영향을 주기 때문에 이러한 이유로 IVF-ET를 위한 과배란유도약제는 내인성 LH surge를 방지하는 여러 인자에 중점을 두고 있다(Lejeune et al., 1986). GnRH-a는 효과적으로 내인성 LH surge를 억제하는 작용을 하고 이는 현재 많은 체외수정시술에 사용된다. 또한 15.0mm 이상의 다수의, 큰 난포의 존재는 내인성 LH surge를 억제하는데 이는 아마 inhibin과 같은 gonadal peptides의 작용에 의한 것으로 보고있다(Nader et al., 1986).

Schoolcraft(1991) 등은 증가된 혈중 P4 치가 난자에 영향을 미쳐 과성숙을 초래하고 수정을 감소시킨다고 하였다. Edwards(1985) 등은 증가된 혈중 P4치는 다정자진입의 빈도를 증가시키고 조기황체화 현상에 대한 반응으로 발생하는 과성숙을 의미한다고 하였다.

다수의 성숙된 난자를 얻기 위하여 CC, hMG

및 follicle stimulating hormone(FSH) 등의 배란 유도제를 사용하여 정상 생리주기를 극대화 시키는 것은 체외수정 시술과정에서 널리 사용되는 보편화된 방법이다(Bernardus et al., 1985; Garcia et al., 1983; Trounson et al., 1981). 또한 매일 측정하는 혈중 E2치 및 초음파 관찰을 통한 난포의 수와 크기가 배란유도제의 난포 성장효과를 평가하는데 좋은 지표로 인식되어왔다(Jones HW, 1983). 1972년 Kratochwil에 의해 초음파를 이용한 정상난포가 관찰된 이후 배란전기 난소난포의 성장과 혈중 E2치 사이에 유의한 상관관계가 보고되어 (Haekiloer and Coutts, 1979) 난소난포의 성장과 배란시기 예측에 기여하였다. 그 후 정확한 배란시기를 예측하여 hCG의 조기투여로 인한 난소난포의 퇴화와 성숙된 난자의 배란이 방해받는 것을 막고(Williams and Hodgen, 1980) 배란유도제의 과잉투여로 인한 난소과자극증후군(Tredway et al., 1974)의 빈도를 줄이기 위해 혈중 E2에 대한 많은 연구가 진행되었다. Tredway(1974)등에 의해 혈중 E2의 장점이 보고된 이후 혈중 E2치의 측정이 난소난포 성장을 관찰하기 위한 내분비학적인 방법으로 사용되어지고 있다. 또한 난포의 성숙에 에스트로겐의 환경이 중요한 영향을 미친다는 증거가 발표되고(Dlugi and Plan, 1984) Jones(1983)등은 혈중 E2 농도의 양상반응에 따라 6가지 양상으로 분류하여 hCG 투여일까지 계속 혈중 E2치가 증가하는 경우에 임신율이 높다고 하였다. 한편 Silverberg(1991)등은 hCG 투여당일의 혈중 E2치는 임신의 결과와 상관없이 없는 것으로 보고하였다.

E2와 P4는 과립막세포(granulosa cell)의 중요한 산물로 임신의 예후에 영향을 주는 것으로 관심의 대상이 되어왔다. 또한 progesterone/estradiol 비 또한 임신의 예후에 대한 예견지표로 제시되었다. 그러나 그 결과는 많은 논란이 있는데 어떤 연구에서는 증가된 난포액의 E2와 P4/E2 비가 낮은 경우 높은 수정율과 임신율을 보였다고 보고되었고(Tarlatzis et al., 1985; Wrambsy et al., 1981) 다른 연구자들은 난포액 progesterone/estradiol 비가 높은 경우 임신의 결과가 더 성공적이라고 보고하였다(Fishel et al., 1983).

증가된 P4가 수정율과 임신율을 감소시키는 원인은 아직도 논란이 많지만 고농도의 P4는 난포의 퇴화를 초래하고 난자의 성숙을 방해한다는 동물실험 보고가 있다(Tyler et al., 1980;

Smith and Tenny, 1980). 또한 P4가 일차적으로 작용하는 곳은 난자 이외에 자궁내막으로 조기의 P4의 증가는 자궁내막을 변화시켜서 배아의 발달과 자궁내막의 환경의 불균형을 초래한다. hCG 투여당일 P4 치는 황체기 중기에 비하면 상대적으로 낮지만 착상을 방해하는 자궁내막의 생화학적 변화를 유도하기에는 충분하다. 또한 배아이식 시기는 성공적인 착상을 위해 자궁내막의 발달과 함께 조절되어야 하는 것은 잘 알려져 있다. 본 연구를 통하여 체외수정시술시 증가된 P4치는 수정 및 임신에 영향을 주었고 E2치가 높은 경우 수정 및 임신에 있어 좋은 결과를 볼 수 있었다. 그러나 이러한 호르몬치가 어느 정도는 수정의 예후를 예측할 수 있으나 아직도 그 논란의 대상이 되고 있으므로 더 많은 연구가 요구된다.

요 약

체외수정 시술을 위해 중앙대학교부속병원 산부인과학 교실 불임클리닉을 방문한 환자중 1993년 3월부터 1994년 8월까지 난관폐쇄로 인하여 불임이 된 환자 113명(119주기)을 대상으로 GnRH-a 병합요법 중 Short protocol 방법으로 과배란시 임신된 45명(47주기)과 임신이 되지 않은 68명(72주기)에서 hCG 투여 당일 혈청내 E2 및 P4 수치를 측정하여 임신의 결과를 비교하였다.

1. 환자의 평균 연령 및 불임기간은 임신군에서 33.2 ± 14.8 세 및 4.2 ± 3.4 년이었으며 비 임신군에서는 34.5 ± 21.7 세 및 3.9 ± 2.8 년으로 연령 및 불임기간의 차이는 없었다.

2. hCG 투여 당일 측정된 혈중 E2치는 임신군에서는 1643 ± 987.9 pg/ml, 비임신군에서는 1367 ± 875.8 pg/ml로 임신군에서 유의하게 높았다 ($P < 0.01$). 또한 혈중 LH치는 임신군에서는 16.7 ± 10.4 ng/ml, 비임신군에서는 18.3 ± 8.3 ng/ml로 임신군에서 유의하게 낮았다 ($P < 0.01$). 혈중 P4치는 임신군에서는 1.0 ± 0.7 ng/ml이었고 비임신군에서는 2.1 ± 1.4 ng/ml 로서 임신군에서 유의하게 낮았다 ($P < 0.001$).

3. hCG 투여당일 E2/P4 비는 임신군에서 1865.6 ± 318.1 , 비임신군에서는 1324 ± 377.7 로서 유의한 차이가 있었다 ($P < 0.01$)(Table 3).

4. 주기당 수정율은 임신군에서 $61.3 \pm 21.3\%$, 비임신군에서는 $41.1 \pm 20.3\%$ 로 임신군에서 의미

있게 높았고 ($P < 0.01$) 이식된 배아의 수는 임신군 47주기에서 4.2 ± 2.2 개, 비임신군 72주기에서는 2.3 ± 1.2 개로 두 군간의 차이는 없었다(Table 4).

이상에서 임신이 된 군은 임신이 안된 군보다 혈중 progesterone 치가 의미있게 낮았고 혈중 estradiol 치는 의미있게 높았음을 알 수 있었다.

혈중 progesterone 및 estradiol치는 과배란 유도 후 체외수정시술에 있어서 수정율 및 임신율에 영향을 줄 수 있다고 생각되며 이는 체외수정시술시 과배란후 임신의 예후판정에 효용성이 있을것으로 사료된다.

인 용 문 헌

금정철, 조경숙, 김재명, 서병희, 이재현: 혈중 estradiol치의 지수함수적 증가율이 난포의 성장과 체외수정의 결과에 미치는 영향에 관한 연구. 대한산부회지 1992, 35, 489-497

허의중, 이상훈: 체외수정시술을 위한 과배란 유도시의 Nafarelin(GnRH Agonist)와 hMG/hCG 복합치료법에 관한 연구. 대한산부회지 1994, 37, 67-76

Bernardus RE, Jones GS, Acosta AA: The significance of the ratio in follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in induction of multiple follicular growth. *Fert Steril* 1985, 43, 373-377

Collins RL, Hodgen GD: Blockade of the spontaneous midcycle gonadotropin surge in monkeys by RU 486, a progesterone antagonist or agonist? *J Clin Endocrinol Metab* 1986, 63, 1270-1276

Dimfield M, Goldman S, Gonen Y, Koifman M, Lissak A, Abramovici H: A modest increase in serum progesterone levels on the day of human chorionic gonadotropin administration may influence pregnancy rate and pregnancy loss in in vitro fertilization-embryo transfer patients. *J Asst Reprod Genet* 1993, 10, 126-129

Dlugi Am, Plan ML: The periovulatory and luteal phase of conception cycles following in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 1984, 41, 530-535

Droesch K, Muasher SJ, Brzyski RG, Jones GS, Simonetti S, Liu HC: Value of suppression

- with a gonadotropin-releasing hormone agonist prior to gonadotropin stimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1989, 51, 292-297
- Edelstein MC, Brzyski RG, Jones GS, Simonetti S, Muasher SJ: Equivalency of human menopausal gonadotropin and follicle-stimulating hormone stimulation after gonadotropin-releasing hormone agonist suppression. *Fertil Steril* 1990, 53, 103-107
- Edelstein MC, Robinson SM, Seltman HJ, Shaw RA, Cox BJ, Muasher SJ: Progesterone levels on the day of human chorionic gonadotropin administration in cycles with gonadotropin-releasing hormone agonist suppression are not predictive of pregnancy outcome. *Fertil Steril* 1990, 54, 853-857
- Edwards RG: In vitro fertilization and embryo replacement. *Ann NY Acad Sci* 1985, 442, 1-24
- Eibschitz I, Belaisch-Allart JC, Frydman R: In vitro fertilization management and results in stimulated cycles with spontaneous luteinizing hormone discharge. *Fertil Steril* 1986, 45, 231-236
- Feldberg D, Goldman GA, Ashkenazi J, Dicker D, Shelef M, Goldman JA: The impact of high progesterone levels in the follicular phase of in vitro fertilization cycles. *J Vitro Fert Embryo Transf* 1989, 6, 11-14
- Fishel SB, Edwards RG, Walters DE: Follicular steroids as prognosticator of successful fertilization of human oocytes in vitro. *J Endocrinol Metab* 1983, 99, 335-338
- Fleming R, Coutts JRT: Induction of multiple follicular growth in normally menstruating women with endogenous gonadotropin suppression. *Fertil Steril* 1986, 45, 226-30
- Garcia JE, Jones GS, Acosta AA: Human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin follicular maturation for oocyte aspiration. *Fertil Steril* 1983, 39, 174-177
- Haekiloer BJ, Coutts JRT: Correlation of ultrasonic and endocrinologic assessment of human follicular development. *Am J Obstet Gynecol* 1979, 135, 122-125
- Hoff TD, Quigley ME, Yen SSC: Hormonal dynamics midcycle: A reevaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 1983, 57, 792-801
- Jones HW, Acosta AA, Andrews MC, Garcia JE, Jones GS: The importance of the follicular phase to success and failure in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1983, 39, 241-246
- Kagawa T, Shuji Y, Souya N, Shinji M, Toshihiro A: Relationship among serum levels of luteinizing hormone, estradiol, and progesterone during follicle stimulation and results of in vitro fertilization and embryo transfer. *J Asst Reprod Genet* 1992, 9, 106-112
- Lejeune B, Degueldre M, Camus M, Vekemans M, Opsomer L, Leroy F: In vitro fertilization and embryo transfer as related to endogenous luteinizing hormone rise or human chorionic gonadotropin administration. *Fertil Steril* 1986, 45, 377-383
- Liu JH, Yen SSC: Induction of midcycle gonadotropin surge by ovarian steroids in women: a critical evaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 1983, 57, 797-802
- March CM, Goebelsmann V, Nakamura RM, Mishell DR: Roles of estradiol and progesterone in eliciting the midcycle LH and FSH surges. *J Clin Endocrinol Metab* 1979, 49, 507-513
- Margalioth EJ, Taney FH, Cooper GW, Scholl GM, Rosenfeld DL: Correlations between oestradiol level on day of HCG and speed of embryonic development in in-vitro fertilization. *Human Reprod* 1993, 8, 752-754
- Mio Y, Sekijima A, Iwabe T, Onohara Y, Tanikawa M, Terabo H, Toda T: The harmful effects of subtle progesterone rise during follicular phase in ovarian hyperstimulation on the outcome of IVF-ET. *J Fert Implant* 1991, 8, 165-168
- Nader S, Berkowitz AS, Maklad N, Wolf DP, Held B: Characteristics of patients with and without gonadotropin surges during follicular recruitment in on in vitro fertilization/embryo transfer program. *Fertil Steril* 1986, 45, 75-78
- Neveu S, Hedon B, Bringer J, Chinchole JM, Arnal F, Humeau C: Ovarian hyperstimulation by a combination of a gonadotropin-releasing hor-

- mone agonist and gonadotropins for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1987, 47, 639-643
- Pauerstein CJ, Eddy CA, Croxatto HD, Hess R, Silerkhodr TM, Croxatto HB: Temporal relationships of estrogen, progesterone, and luteinizing hormone levels to ovulation in women and infrahuman primates. *Am J Obstet Gynecol* 1978, 130, 876-880
- Schmutzler RK, Reichert C, Diedrich K, Wildt L, Diedrich C, Al-Hasani S: Combined GnRH-agonist/gonadotropin stimulation for in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1988, 3, 29-33
- Schoolcraft W, Sinton E, Schlenker T, Huynh D, Hamilton F, Meldrum D: Lower pregnancy rate with premature luteinization during pituitary suppression with leuprolide acetate. *Fertil Steril* 1991, 55, 563-566
- Serafini P, Stone B, Kerin J, Batzofin J, Quinn P, Marrs RP: Occurrence of a spontaneous luteinizing hormone surge in superovulated cycles-predictive value of serum progesterone. *Fertil Steril* 1988, 49, 86-89
- Silverberg KM, Burns WN, Olive DL, Riehl RM: Serum progesterone levels predict success of in vitro fertilization/embryo transfer in patients stimulated with Leuprolide Acetate and Human Menopausal Gonadotropins. *J Clin Endocrinol Metab* 1991, 73, 797-803
- Smith DM, Tenny D: Effects of steroids on mouse oocyte maturation in vitro. *J Reprod Fertil* 1980, 60, 331-338
- Stangee ID, Yovich JL: Reduced in-vitro fertilization of human oocytes from patients with raised basal luteinizing hormone levels during the follicular phase. *Br J Obstet Gynaecol* 1985, 92, 385-393
- Tarlatzis BC, Laufer N, DeCherney AH, Polan ML, Haseltine FP, Behrman HR: Adenosine 3', 5'-monophosphate in in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab* 1985, 60, 115-119
- Tredway DR, Goebelsmann U, Thorneycroft IH, Mishell DR: Monitoring induction of ovulation with human menopausal gonadotropin by a rapid estrogen radioimmunoassay. *Am J Obstet Gynecol* 1974, 120, 1035-1039
- Trounson AO, Calabrese R: Changes in plasma progesterone concentrations around the time of the luteinizing hormone surge in woman superovulated for in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab* 1984, 59, 1075-1080
- Trounson AO, Lenton JF, Wood C: Pregnancies in humans by fertilization in vitro and embryo transfer in the controlled ovulatory cycle. *Science* 1981, 212, 681-692
- Tyler J, Moore-Smith D, Biggers J: Effects of steroids on oocyte maturation and atresia in mouse ovarian fragments in vitro. *J Reprod Fertil* 1980, 58, 203-212
- Urbancsek J, Rabe T, Grunwald K, Kiesel L, Runnebaum B: Analysis of hormonal changes during combined buserelin/HMG treatment. *Hum Reprod* 1990, 5, 675-681
- Williams RF, Hodgen GD: Disparate effects of human chorionic gonadotropin during the late follicular phase in monkeys: normal ovulation, follicular atresia, ovarian acyclicity, and hypersecretion of follicle stimulating hormone. *Fertil Steril* 1980, 33, 64-69
- Wramsby H, Kullander S, Liedholm P, Runnevik G, Sundstrom P, Thorell J: The success rate of in vitro fertilization of human oocytes in relation to the concentration of difference hormones in follicular fluid and peripheral plasma. *Fertil Steril* 1981, 36, 448-452