

How to Predict Ovarian Response in COH for ART

구 승 업

서울대학교 의과대학

Introduction

폐경이 되기 오래 전부터 여성의 연령 증가에 따라 수태율 (fecundity)이 감소한다는 사실은 이미 잘 알려져 있는 현상이며 이는 자궁의 노화 (uterine aging)보다는 난소의 노화 (ovarian aging)가 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다 (Navot et al., 1994). 난소의 피질에 존재하는 원시난포 (primordial follicle)의 수는 이미 출생 이전에 감소하기 시작하여 연령이 증가함에 따라서 점진적으로 감소하는데 임신 5개월 경 태아는 $6\sim7 \times 10^6$ 개의 생식세포 (germ cell)를 보유하고 있으나 출생 시에는 $1\sim2 \times 10^6$ 개로 감소하며 사춘기에 이르면 출생 시 원시난포의 약 25%만 남게 된다. 37세경부터는 월경주기가 아직 규칙적일지라도 생식능력의 급격한 감소와 함께 난포의 소실이 가속화되어 폐경 시에는 단지 1,000개의 난포만 남아 있게 된다.

임신을 하기 위한 가장 적절한 나이는 20~24세경이라고 알려져 있으나 (Menken et al., 1986) 여성의 사회나 직장에서의 역할이 중요해짐에 따라서 결혼 연령이 늦어지고 30대에 임신을 계획하는 여성들이 늘어나게 되었고 이로 인한 생식능력의 감소라는 문제에 직면하게 되었다. 가임능력의 측면에서 연령의 중요성은 Hutterite 여성의 관찰에서 알 수 있는데 가임능력의 감소는 34세경부터 관찰되었으며 마지막 임신 시 평균 연령은 41세였다. 부부관계의 횟수가 영향을 미치지 않는 비배우자간 인공수정의 경우에도 유사한 결과를 보였다.

연령이 생식능력의 저하에 있어 중요한 요인일지라도 가임능력을 예측하는데 있어서 매우 정확한 것은 아니어서 30대에도 임신이 되지 않는 여성들이 있고 40대에도 임신을 하는 여성들도 있다. 분명히 난소 기능과 연령사이의 관계는 넓은 범위를 갖고 관련되어 있으며 ovarian reserve로 이를 설명할 수 있을 것 같다. Ovarian reserve를 정의하는 것은 어렵지만 난소의 난자 pool과 난자의 질 (quality) 두 가지의 다른 측면을 고려하여야 하며 연령의 증가에 따른 이 두 요인의 감소가 가임능력의 감소와 관련된다. 난소의 기능 (ovarian function)은 ovarian reserve의 결과이고 다양한 검사 방법으로 측정할 수 있다. 지속 임신율 (ongoing pregnancy rate)이 이러한 검사들의 end-point이고 난자의 pool과 질을 반영한다는 주장이 있는 반면, 보조생식술에서 주기 취소율 (cancellation rate), 최고 혈중 E₂ 농도, 성숙난자의 수, 배아의 수, 혈중 hCG 농도 확인에 의한 임신의 확인이 end-point라는 주장도 있다. 이러한 end-point 대부분은 성선자극호르몬에 대한 난소의 반응정도를 반영하여 난소에 존재하는 난포의 수를 반영하고 또한 난자의 질을 반영한다. 환자들의 관심은 take-home baby rate지만 불임의사들에게 있어서는 다른 parameter들도 중요하게 고려되어야 한다.

체외수정시술을 비롯한 보조생식술의 성공 여부는 양질의 난자와 배아를 얻을 수 있는 적절한 과배

란유도 방법의 사용에 달려있으며 이를 통하여 임신을 성립시킬 수 있어야 하며, 또한 내과적인 합병증을 최소화 시킬 수 있어야 한다. 결국, 환자의 연령, ovarian reserve, 내분비학적 상태에 따라서 치료가 개별화되어야 하며 난소 반응의 불량 반응군 (poor responder), 고반응군 (high-responder)을 확인하고 예측하여 적절한 과배란유도 방법을 선택하는 것이 중요하다.

본 장에서는 ovarian reserve를 파악하고 성선자극호르몬에 대한 난소의 반응성 및 임신의 가능성을 예측하기 위한 다양한 검사들이 개발되어 사용되고 있는데 이에 현재 사용되고 있는 ovarian reserve test들과 이 영역에서 최근의 발전에 대하여 알아보려고 한다.

1. Female age

인구학적 연구에서 가임능력이 20대 초반에 증가하며 30세 이후에는 감소한다는 사실이 입증되었고 36세 이후에는 급격하게 감소한다고 알려져 있다 (Nader and Berkowitz, 1991, Magarelli et al., 1996). 따라서 여성의 연령을 난소 기능의 평가 방법으로 사용할 수 있다. Scott와 Hofman (1995)은 불임 환자들 중 clomiphene citrate challenge test (CCCT)가 정상인 여성들에서 연령이 임신율의 중요한 예후인 자이지만, ovarian reserve가 감소된 환자의 경우 연령과 상관없이 불량한 예후를 보이므로 임신의 예후에 관하여 상담할 때 여성의 연령과 ovarian reserve test를 함께 고려하여야 한다고 주장하였다. 보조생식술 시행 환자에서 임신에 대한 예후인자로 연령이 기저 혈중 FSH (follicle stimulating hormone) 농도보다 더 우수하지 않다는 결과들이 여러 연구자들에 의하여 보고되어 왔다. 보조생식술 시 여성 연령의 임신에 대한 예측도에 관한 연구들에서 cut-off 연령은 35세에서 37세로 약간 상이하였으며 likelihood ratio (LR)는 0.7~4.8로 비교적 낮았다 (Bukman과 Heineman, 2001).

1,045 체외수정시술 주기에서 시행된 후향적 연구에서는 젊은 여성의 경우 연령이 기저 혈중 FSH 농도보다 체외수정시술 결과에 대한 더 좋은 예측인자라고 하였고 기저 혈중 FSH 농도가 10 IU/L 이상 증가된 35세 미만의 여성도 체외수정시술의 결과가 여전히 양호하였다 (Chuang 등, 2003). Craft (1990)는 40세 이상의 여성을 대상으로 한 GIFT 시술 결과 자신의 난자를 사용한 대조군에서는 임신율이 낮고, 유산율이 높은 반면, 공여된 난자를 사용한 난자 수혜군에서는 유의하게 임신율이 높고, 유산율이 낮다는 사실을 보고한 바 있다. 연령 증가에 따른 이러한 변화의 일차적인 원인을 meiotic spindle 형성과 활동을 조절하는 기전의 변화로 난자에서의 이수성 변이의 확률이 증가하기 때문인 것으로 생각하고 있다 (Pellestor et al., 2003). 최근 Yeh 등 (2005)은 설치류를 이용한 실험에서 reproductive aging ovary에서 oxidative stress에 대한 방어기전의 변화가 있음을 관찰하고 이러한 변화가 reproductive aging의 생리적 변화를 초래한다고 주장하여 노화에 따른 난소 기능 변화에 대한 생화학적 분석을 시도하였다.

연령이 불임의 예후와 관련된 중요한 인자이지만 ovarian reserve 측면에서는 대략적인 예측인자 (rough parameter)인 것 같다. 그러나 체외수정시술 등을 위한 과배란유도 시 환자 연령의 증가는 기저 혈중 FSH 농도, 최고 혈중 E₂ 농도, 채취 가능한 난자의 수, 이식 가능 배아의 수, 잉여 배아의 동결 보존 확률, 임상적 임신율, take-home baby rate 등 모든 과배란유도 결과에 부정적인 영향을 미칠 수 있으므로 고령의 불임 환자에서는 신속한 불임 검사와 적극적인 불임 치료를 실시하는 것이 임상적으로 매우 중요하다.

2. Endocrine test

1) Basal serum follicle stimulating hormone (FSH) level

월경주기 3일째에 측정된 기저 혈중 FSH 농도는 간접적인 ovarian reserve test로 난포 코호트 (follicle cohort)가 생산하는 inhibin-B 및 E₂의 양과 뇌하수체에서의 되먹이기 (feedback) 효과를 측정하는 간접적인 방법이다. Scott와 Hofmann (1995)은 연령과 관련된 생식능력이 저하되거나 기저 혈중 FSH 농도가 연령보다 더 좋은 예측인자라고 하였고, Martin 등 (1996)은 월경주기 제3일에 측정된 혈중 FSH 농도가 20 IU/L 이상인 주기에서 임신이 없었다고 보고한 바 있다. 반면에 체외수정시술의 결과 예측에 있어서 연령이 기저 혈중 FSH 농도보다 더 나은 예측인자라는 보고도 있다 (Hall 등, 1999).

기저 혈중 FSH 농도에 대한 대부분의 연구들은 체외수정시술 주기에서 시행되었는데, Bukman과 Heineman (2001)은 이 연구들 중 자료 및 결과의 이용이 가능한 연구들에 대하여 likelihood ratio를 보고하였다. 각 연구들에서 사용된 기저 혈중 FSH 농도의 cut-off는 10.8~25 IU/L로 다양하였고 end-point는 임신율, 획득된 난자의 수, 주기 취소율 이었다. 기저 혈중 FSH 농도가 낮은 환자들은 과배란유도에 더 잘 반응하여 획득된 난자의 수가 많았고 증가된 기저 혈중 FSH 농도의 likelihood ratio는 1.8~5.1이었다.

van Montfrans 등 (2000)은 규칙적인 월경주기를 가진 40세 미만 여성 중 기저 혈중 FSH 농도가 10 IU/L 이상인 50명의 생식능력이 저하된 (subfertile) 군과 연령별 짝짓기를 한 50명의 대조군에서 임신의 성립여부를 3~7년간 추적 관찰한 환자-대조군 연구에서 두 군 사이에 가임력의 차이가 없다고 보고하여 누적 임신율 (cumulative pregnancy rate)에 대한 기저 혈중 FSH 농도의 예측도는 정상적인 배란 주기를 갖고 있는 환자에서는 제한이 있다고 주장하였다.

van Rooij 등 (2003)은 기저 혈중 FSH 농도가 15 U/L 미만이고 41세 이상인 50명의 여성과 기저 FSH 혈중 농도가 15 U/L 이상이고 40세 이하인 36명의 여성을 대상으로 한 전향적 연구에서 난소의 반응, 임신율, 착상률을 비교하였다. 기저 혈중 FSH 농도가 증가된 40세 이하의 환자들은 난소 반응의 결핍에 따른 주기 취소율이 높았지만, 배아이식이 시행되는 경우에는 착상률 및 지속 임신율이 높았고 기저 혈중 FSH 농도가 높지 않은 40세 이상의 환자들은 주기 취소율은 낮았으나 착상률이나 지속 임신율은 고 기저 혈중 FSH 농도를 보이는 젊은 환자들보다 낮았다. 다른 연구에서도 기저 혈중 FSH 농도가 주기의 취소나 획득된 난자 수에 대한 강력한 예측인자인 반면에 연령은 임신의 성립과 더 연관이 있다고 보고한 바 있다 (Creus 등, 2000). 기저 혈중 FSH 농도는 난자의 질보다는 난자의 생산력을 반영하는 더 좋은 예측인자인 반면 여성의 연령은 난자의 양보다는 난자의 질을 반영하는 것으로 사료된다.

Bancsi 등 (2003)은 체외수정시술 환자에서 난소의 반응성을 예측하기 위한 인자로서 기저 혈중 FSH 농도에 대한 meta-analysis를 시행하였다. 기저 혈중 FSH 농도는 난소의 저반응을 예측하는데 있어서 중등도의 예측도를 보였고 임신의 실패를 예측하는데 있어서는 불량한 예측도를 보여 국한된 소수의 환자군에서만 임상적 가치가 있으며 체외수정시술의 결과를 예측하기 위한 일상적인 (routine) 검사로는 유용하지 않다고 주장하였다.

가임력의 측면에서 기저 혈중 FSH 농도는 체외수정시술에 따른 임신 결과를 예측하기에는 민감도가 충분하지 않다. 40세 이상에서는 불임증의 높은 유병률 때문에 양성예측도가 높지만 임신율이 높은

젊은 여성에서는 양성예측도가 낮아서 기저 혈중 FSH 농도가 증가된 여성의 대부분이 체외수정시술로 임신될 가능성이 없는 것으로 잘못 인식될 수 있다. 증가된 기저 혈중 FSH 농도의 정의에 대한 consensus의 결핍, 검사 방법의 차이, FSH 농도와 임신의 관련성을 교란하는 다른 요인들을 조절하기 어렵다는 점 등을 결과 해석에 고려하여야 한다.

2) Basal serum estradiol (E_2) level

난포기는 18~20세 여성에서 평균 16.9일이지만 연령의 증가에 따라 짧아져서 40~45세 여성에서는 평균 10.4일이 되는데 고령의 여성에서 월경주기 제 3일째에 난포의 동원이 더 진행되는 것에 기인하는 것 같다. 이러한 난포의 조기 동원은 난포기 초기 혈중 E_2 농도를 비교적 높게 증가시키고 기저 혈중 E_2 농도가 증가하면 난포에서 생성 분비되는 inhibin이 증가되어 뇌하수체에서 생성 분비되는 FSH를 억제하므로 월경주기 제3일에 측정된 혈중 FSH 농도가 감소하게 되므로 E_2 농도가 증가되어 있는 경우에도 기저 혈중 FSH 농도가 증가되어 있고 E_2 농도가 정상인 경우와 마찬가지로 과배란유도 시 난소의 반응이 저하된다.

체외수정시술의 결과 예측인자로서 기저 혈중 FSH 농도와 독립적인 기저 혈중 E_2 농도에 대한 연구들이 있어 왔다. 체외수정시술 전 주기에서 80 pg/mL 이상의 기저 혈중 E_2 농도를 보이는 환자들은 80 pg/mL 미만인 환자와 비교하여 주기 당 임신율이 낮았고 주기 취소율이 높았으며 기저 혈중 FSH 농도가 15 IU/L 이상으로 증가된 경우를 제외하여도 여전히 임신율이 낮고 주기 취소율이 높았다 (Smotrich 등, 1995). 다른 연구에서는 기저 혈중 E_2 농도가 31~75 pg/mL인 환자와 비교하여 30 pg/mL 미만인 환자에서 지속 임신율이 유의하게 높았고 75 pg/mL을 초과하는 경우 임신이 성립되지 않았다고 보고 하였다 (Licciardi 등, 1995). 정상 기저 혈중 FSH 농도를 보이는 38~42세 여성에서 80 pg/mL 미만의 기저 혈중 E_2 농도를 보이는 경우 예후가 좋았다는 보고도 있었다 (Buyalos 등, 1997). 기저 혈중 FSH 농도에 추가적으로 기저 혈중 E_2 농도를 측정하면 기저 혈중 FSH 농도나 연령을 단독으로 고려하는 것에 비하여 생식능력의 예측도를 향상시키는 것으로 생각된다 (Licciardi 등, 1995; Smotrich 등, 1995; Buyalos 등, 1997).

그러나, 기저 혈중 E_2 농도와 임신율 간에 연관성이 없다는 보고도 있어서 (Scott 등, 1989) ovarian reserve의 예측에 있어서 기저 혈중 E_2 농도의 효용성은 아직 논란의 여지가 있다.

3) Basal serum FSH/LH ratio

15 IU/L 미만의 기저 혈중 FSH 농도를 보이는 41세 미만 74명의 여성에서 시행된 후향적 연구에서 월경주기 제3일째 측정된 FSH/LH 비가 3.6 이상인 경우 과배란유도에 대한 불량한 반응의 예측인자로 기저 혈중 FSH 농도가 증가하기 이전에 증가한다는 보고가 있었다 (Mukherjee 등, 1996). 반면에 정상적인 월경주기를 갖고 생식능력이 입증된 20~25세의 여성과 40~45세의 여성에서 월경주기 제 1~4일에 측정된 FSH, LH, FSH/LH 비의 상대적 효용성에 관한 연구에서 기저 혈중 FSH 농도만이 연령차에 따른 가장 좋은 예측인자였다 (Kim 등, 1997). 따라서 기저 혈중 FSH/LH 비의 예측도는 현재 논란이 있다.

4) Serum inhibin-B level

기저 혈중 FSH 농도가 난소 반응을 예측하기 위한 효과적이고 간편한 방법이기도 하지만 FSH는

난소 반응에 대한 간접적인 정보만을 제공하므로 외인성 호르몬에 대한 난소의 반응을 직접적으로 반영하지는 못한다. 이론적으로 난소의 과립막세포 (granulosa cell)에서 생성된 물질이 ovarian reserve를 가장 잘 반영한다고 볼 수 있는데, 이러한 점에서 inhibin은 ovarian reserve를 나타내고 체외수정시술의 결과를 예측하기 위한 보다 효과적인 인자로서 많은 연구자들의 주목을 받아 왔다.

Inhibin은 이합 폴리펩티드 (dimeric polypeptide)로 1개의 α unit와 β_A , β_B 두 개의 β unit로 구성되어 inhibin-A와 inhibin-B 두 isoform이 존재하며 과립막세포의 산물이다. Inhibin-A는 주로 황체에 분비되며 inhibin-B는 주로 난포기에 분비되는데 inhibin-A는 난포기 초기에 낮은 농도를 보이다가 난포기 후기에 E_2 농도가 증가한 직후 황체기 동안에 최고치를 보이기 때문에 우성난포에 의해 분비되는 것임을 시사하며 난포의 성숙도를 반영한다고 볼 수 있고 inhibin-B는 발달하는 난포 코호트에 의해 분비되는 것으로 생각되며 inhibin-B 농도가 난포기 시작시의 난포 개수를 반영하여 ovarian reserve와 관련이 있을 수 있다.

Seifer 등 (1997, 1999)은 환자-대조군 연구에서 월경주기 제3일째 측정된 혈중 inhibin B 농도가 45 pg/mL 미만인 여성에서 난소의 반응이 저하되어 있으며 임신율이 낮고 ovarian reserve 저하와 일치하는 임상적 결과를 보이는 여성은 낮은 기저 혈중 FSH 농도에도 불구하고 기저 혈중 inhibin-B의 농도가 낮았다고 보고하였고 inhibin-B 농도의 감소가 기저 혈중 FSH 농도에 비하여 ovarian reserve의 저하를 반영하는 조기 표지자라고 주장하였다.

Inhibin-B가 난소 반응의 좋은 예측인자가 될 수 있다는 이전의 연구와는 달리 최근의 연구들에서는 난소의 저반응에 따른 주기 취소 및 임신의 성립을 예측하는데 있어서 환자의 나이와 기저 혈중 FSH 농도를 측정하여 얻을 수 있는 이상의 정보를 얻기 힘들다는 보고들이 있다. Inhibin-A와 inhibin-B가 난소 기능을 반영하기는 하나 체외수정시술 결과를 예측하는데 덜 효과적이고 여성의 연령이 체외수정시술 시 임신을 예측하는데 있어서 기저 혈중 inhibin-B 농도보다 우월하다는 보고도 있다 (Hall 등, 1999; Creus 등, 2000).

Inhibin-B의 측정시기와 관련하여 과배란유도를 시작한 지 4~6일 후 측정된 inhibin-B 농도가 획득된 난자의 수와 높은 상관관계를 보였다는 보고들이 있다 (Eldar-geva 등, 2000; Fawzy 등, 2002). Yong 등 (2003)은 체외수정시술 주기의 여러 시기에 inhibin-B를 측정하였고 down-regulation된 상태에서 과배란유도를 위하여 FSH를 처음 투여한 후에 측정된 inhibin-B 농도가 획득된 난자 수의 가장 중요한 결정인자라고 하였으나, Urbancsek 등 (2005)은 난소자극주기 1일째 측정된 inhibin-B 농도는 체외수정시술의 결과를 반영하지 못하는 반면, 난자 흡인 직전에 측정된 inhibin-B의 농도는 체외수정시술의 결과와 연관성이 있는 것 같다고 보고하여 inhibin-B에서 dynamic study의 효용성을 시사하였다. FSH 또는 GnRH agonist의 사용에 따른 inhibin-B의 dynamic test는 과배란유도에 대한 난소의 반응과 관련이 있는 것 같지만 난포기 초기에 측정된 기저 혈중 inhibin-B 농도의 유용성은 아직 불확실한 것 같다. 그러나 난소 반응을 예측하기 위한 inhibin의 실제적인 활용을 위해서는 보다 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

5) Serum anti-Müllerian hormone level (AMH)

Anti-Müllerian hormone은 Müllerian-inhibiting substance (MIS)라고도 하며 transforming growth factor- β (TGF- β) family에 속하고 고환의 Sertoli cell에서 합성되어 남아의 태아 발달과정에서 Müllerian duct의 퇴화를 유도하는 물질이다. 여성에서는 과립막세포에 의하여 합성되고 휴지기의 원시난포가 성장난포

로 전환되고 초기 동난포 (antral follicle)기에서 FSH에 민감한 난포들을 동원하는 것과 관련되어 있다. AMH 농도는 연령의 증가에 따라 감소하며 (de Vet et al., 2002) 성장난포에서만 생산이 되므로 혈중 농도가 ovarian reserve의 예측인자로 사용될 수 있으며 (Te Velde and Pearson, 2002) 난포기 초기에 고 농도의 혈중 AMH 농도는 체외수정시술에서 획득된 난자 수의 증가와 관련이 있다는 보고가 있었다 (Seifer 등, 2002).

van Rooij 등 (2000)은 체외수정수정시술 환자 119명을 대상으로 한 전향적 연구에서 혈중 AMH 농도가 동난포의 수 (antral follicle count, AFC) 및 획득된 난자의 수와 밀접하게 관련되어 있다고 보고한 바 있으며 동난포의 수가 연구된 난소 기저능의 표지자 중 난소의 불량한 반응을 예측하는데 있어서 가장 우수한 능력을 보였고 혈중 AMH 농도는 AFC와 거의 비슷하였으며 기저 혈중 FSH 농도나 inhibin-B 농도보다 우수하다고 보고하였다. GAST를 시행한 23명의 환자들에서 혈중 FSH, LH, E₂, inhibin-B 농도가 증가되었을 지라도 혈중 AMH 농도는 변하지 않았다.

Peñarrubia 등 (2005)은 IVF/ICSI를 시행한 80명의 여성에서 주기 시작 전과 주기 중의 혈청 AMH 농도를 측정하여 월경주기 제3일째의 기저 혈청 농도보다 성선자극호르몬 투여 5일째 측정된 혈청 AMH 농도가 난소 반응을 더욱 잘 반영하는 것으로 보고하였다.

혈청 AMH 농도의 범위가 매우 넓고 AMH 분석 기술이 아직까지 상용화되어 있지 않아 분석에 대한 국제적 표준이 없는 실정으로 AMH를 난소 기능 평가의 지표로 사용하기 위해서는 더욱 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

3. Dynamic tests

1) Clomiphene citrate challenge test (CCCT)

CCCT는 본래 원인 불명의 35세 이상의 불임 환자에서 가임능력을 예측할 수 있다고 제시되었다. 이 검사는 월경주기 제3일에 기저 혈중 FSH 농도를 측정하고 제5일부터 제9일까지 매일 CC 100 mg 을 5일간 투여한 후 월경주기 제 10일에 혈중 FSH 농도를 측정한다. 월경주기 3일 또는 10일에 FSH 가 비정상적으로 증가되는 경우 ovarian reserve의 감소를 예측할 수 있다. 정상 ovarian reserve를 가진 환자에서는 clomiphene 투여 후 난포에 의하여 생산된 E₂, inhibin-B에 의하여 FSH가 억제된다. CC는 35세 미만의 정상적인 생리주기를 가진 여성에게 투여하였을 때 성선자극호르몬의 농도를 일시적으로 상승시키는 효과를 나타내지만 일반적으로 LH가 FSH보다 더 많이 상승한다. Ovarian reserve가 적은 여성에서는 이러한 양상이 바뀌어 FSH가 LH보다 더 많이 상승하게 되는데, 이러한 기전은 고령의 여성에서는 작은 난포들에서 inhibin B와 E₂가 보다 적게 생산되므로 CC가 뇌하수체를 자극하여 FSH를 분비하는 회로의 음성 되먹임 기전이 줄어들기 때문인 것으로 생각된다.

보조생식술 및 일반 불임 환자에서 시행된 연구들의 likelihood ratio에 대한 연구에서 월경주기 제3일과 제10일의 혈중 FSH 농도의 기준은 10~26.03 IU/L로 다양하였고 end-point는 임신율이었고 비정상 결과는 6.2~14.5의 positive likelihood ratio로 연구대상의 10~35% 정도에서 관찰되었다 (Bukman and Heineman, 2001). 비정상 결과는 30대 초반부터 시작하여 연령의 증가에 따라서 더 흔하게 관찰되었고 과배란주기 뿐만 아니라 자연주기에서도 낮은 임신율을 보였다. 정상 CCCT 결과를 보이는 여성은 과배란유도에 대한 반응이 더 좋았고 기저 혈중 FSH 농도를 단독으로 사용하는 것 보다 민감도가 높았다 (Scott, 1995). Watt 등 (2000)은 40세 이상의 여성에서 기저 혈중 FSH 농도가 11.1 IU/L 이상이

거나 CC 투여 후 혈중 FSH 농도가 13.5 IU/L를 넘는 경우 임신이 성립한 경우가 없었다고 보고하여 고령의 환자에서 CCCT가 시행되어야 한다고 주장하였다. Jain 등 (2004)은 ovarian reserve 선별검사를 위한 기저 혈중 FSH 농도와 CCCT를 비교한 meta-analysis를 보고하였는데 두 검사가 임신을 예측하는데 유사하였고 정상 결과는 유용하지 않지만 비정상 결과는 임신의 성립에 대한 예측인자로 유용하다고 보고하였다.

첫 번째 체외수정술 주기 이전에 CCCT를 시행하였던 40세 미만의 353명의 여성에서 시행된 483 체외수정술 주기를 대상으로 한 후향적 연구에서 성공적인 임신과 CCCT 결과 사이에 역비례관계가 관찰되었다. 혈중 FSH 농도의 기준은 10 IU/L이었으나 월경주기 제3일 또는 10일째 FSH 농도가 20 IU/L 이상인 경우에도 성공적인 임신이 관찰되어 임신이 성립될 수 없는 혈중 FSH 농도의 기준값을 확인할 수 없었다. 젊은 여성과 고령의 여성에서 CCCT의 결과가 유사하게 비정상일지라도 체외수정술의 성공에 차이가 있을 수 있다 (Yanushpolsky 등, 2003). CCCT에서 월경주기 제10일에 측정하는 FSH 농도의 주기간의 변이성을 결정하기 위한 연구에서 주기 간 유의한 차이를 보였으나 임신 성립과는 관련이 없었다 (Hannoun 등, 1998).

CCCT는 민감도가 대략 26%로 일반적으로 기저 혈중 FSH 농도보다 더 민감도가 좋다고 알려져 있으나 특이도는 96% 정도로 유사하다. 그러므로 CCCT가 종종 기저 혈중 FSH 농도만으로 발견되지 않는 불량 반응군 환자를 발견하기 위하여 사용될 수 있으나 기저 혈중 FSH 농도가 정상이라면 CCCT에 따른 추가적인 이득이 없을 것으로 생각된다.

2) GnRH agonist stimulation test (GAST)

고용량의 GnRH agonist를 단회 또는 반복적으로 투여하면 뇌하수체에서는 일시적으로 GnRH agonist의 initial flare-up effect에 의하여 LH와 FSH를 다량으로 분비하게 되고 이에 대한 반응으로 난소에서는 24시간 이내에 E₂ 분비가 증가되는데 이는 성선자극호르몬의 생성과 자극에 대한 난소 반응에 달려 있다. 이러한 난소 반응의 정도가 ovarian reserve를 반영하며 동원될 수 있는 난포의 수를 반영한다고 생각되어 고안된 것이 GAST이다 (Broekmans 등, 1998). GAST 검사 방법은 월경주기 제2일 오전에 혈중 E₂ 농도를 측정한 후 GnRH agonist인 leuprolide acetate 1 mg을 피하주사 한다. GnRH agonist 투여 24시간 후인 월경주기 제3일에 혈중 E₂ 농도를 측정하여 월경주기 제2일의 E₂ 농도를 뺀 값, 즉 $\Delta E_{2,3} \sim E_{2,2}$ 값이 105 이상인 경우에는 과배란유도 시 채취될 수 있는 난자의 수가 많을 것으로 예측할 수 있다. 초기에 혈중 E₂ 농도의 변화에 대한 다른 cut-off를 사용하였던 보조생식술과 관련된 연구들에서는 ovarian reserve의 예측에 있어 유의한 이득이 없었다 (Padilla 등, 1990; Winslow 등 1991). 체외수정술 환자 177명을 대상으로 한 전향적 연구에서 GnRH agonist에 의한 FSH와 E₂ 농도의 증가를 평가하기 위하여 월경주기 2, 3, 4일에 FSH, E₂, FSH/LH ratio가 측정되었는데 과배란유도에 대한 난소 반응과 관련하여 발달된 난포의 수와 E₂ 농도의 증가 사이에서만 유일한 연관성이 보고되었다 (Ranieri 등, 1998). 35명의 체외수정술 환자에서 GnRH agonist 1회 투여 후 inhibin-B (기저치와 자극 후 농도의 합)와 E₂ (기저치와 자극 후 농도의 차)는 과배란유도에 대한 반응과 밀접한 관련이 있었다 (Ravhon 등, 2000).

현재까지 GAST가 체외수정술의 결과를 예측하는데 있어서 기저 혈중 FSH 농도를 측정하는 것보다 더 유용한지는 아직 명확하지 않다.

3) Exogenous follicle stimulating hormone ovarian reserve test (EFORT)

EFORT는 월경주기 제3일에 기저 혈중 FSH, E₂ 농도를 측정하고 FSH 300 IU를 투여한 후 24시간 후인 월경주기 제4일에 E₂ 농도를 측정한다. 기저 혈중 FSH 농도 및 혈중 E₂ 농도의 증가를 주기 취소율이나 지속 임신율 측면에서 추후의 체외수정시술 주기에서 환자의 반응 정도를 예측하기 위하여 사용된다. 외인성 FSH 투여 후 24시간에 측정된 E₂ 농도의 상승이 30 pg/mL 이상인 경우 30 pg/mL 이하인 경우보다 난소 반응이 좋을 것으로 예측할 수 있다 (Fanchin 등, 1994).

Fanchin 등 (1994)은 27~42세의 여성 52명을 대상으로 EFORT를 시행하였다. 상기에 기술한 방법과 같이 FSH 투여 전과 후에 E₂ 농도를 측정하였고 이후 2회의 생리주기가 지난 후 체외수정시술 주기를 시행하였다. EFORT의 변수로 기저 혈중 FSH 농도 (bFSH)와 FSH 투여 전후의 E₂ 농도 차이 (ΔE_2)를 설정하여 체외수정시술 결과를 비교하였다. EFORT의 변수가 정상 (bFSH \leq 11 mIU/ml, $\Delta E_2 \geq$ 30 pg/ml)인 군에서는 90%가 정상적인 난소 반응을 보였으며, EFORT의 변수가 비정상 (bFSH \geq 11 mIU/ml, $\Delta E_2 <$ 30 pg/ml)인 군에서는 81%가 비정상적인 난소 반응을 보였다. 이는 기저 혈중 FSH 농도 단독으로 예측했을 때 보다 훨씬 좋은 결과로 Fanchin 등은 이러한 결과가 체외수정시술을 시행하는 여성에서 난소 반응을 예측하기 위한 선별검사로서 간단하고 효과적인 검사라고 주장하였다. 반면에 다른 연구에서는 300 IU의 외인성 FSH를 5일간 투여한 후 E₂ 농도가 체외수정시술의 결과 예측에 있어서 연령보다 더 유용하지 않다고 보고하였다 (Fabregues 등, 2000).

유사한 과배란유도 방법에 따라 얻어진 총 난포 수와 난자 수에 대하여 CCCT (n=54)와 GAST (n=56)의 예측도를 비교한 무작위 전향적 연구에서 임신에 대한 예측도는 평가하지 않았으나 EFORT에서 얻어진 혈중 inhibin-B 농도와 혈중 E₂ 농도의 증가가 얻어진 총 난포 수에 대한 가장 좋은 예측인자 이었다고 보고하였다 (Kwee 등, 2003).

4. Ultrasound tests

1) Ovarian volume

질식 초음파에 의하여 측정된 총 난소 용적, 최소 난소 용적, 평균 난소 용적과 같은 난소 용적이 과배란유도에 대한 난소의 반응과 관련이 있다는 보고가 있었다 (Lass 등, 1997; Syrop 등, 1999; Sharara 등, 1999). 3 cm³ 미만의 난소 용적을 가진 여성은 주기 취소율이 높았으나 임신에 대한 예측도는 좋지 않았다.

난소의 용적은 난포의 수와 관련이 있지만 획득된 난자의 수와는 관련이 없었고 (Tomas 등, 1997) down-regulation 후 난포기 초기의 난소 용적은 과배란유도 후 얻어지는 난자 수의 불량한 예측인자 (poor predictor)였다 (Tinkanen 등, 1999; Dumesic 등, 2001). Frattarelli 등 (2004)은 체외수정시술을 위한 과배란유도 시작 전에 질식 초음파를 이용하여 평균 난소 용적 (mean ovarian volume, MOV)을 측정하였는데 평균 난소 용적은 질식 초음파 상에서 난소의 가로, 세로, 그리고 전후축의 직경을 측정하여 계산한 양측 난소 용적 ($V = D^1 \times D^2 \times D^3 \times 0.523$)의 평균치 ($MOV = [V^1 + V^2]/2$)를 사용하였다. 이 평균 난소 용적이 2 cm³ 미만인 경우 주기 취소율이 높고 임신율이 낮았다고 보고하였다.

난소의 용적과 연령에 대한 몇몇 연구들에서는 이차원 (Lass 등, 1997) 및 3차원 초음파 (Kupesic 등, 2003)로 측정된 난소의 용적과 불임 여성의 연령사이에 음의 상관관계를 보였으나 다른 연구들에

서는 이를 입증하지 못하였다 (Sharara 등, 1999). 14~45세의 건강한 428명의 가족계획 클리닉 인구를 대상으로 한 연구에서 난소 용적은 연령과 관련이 없었다고 보고된 바 있고 (Christensen 등, 1997) 연령의 증가에 따른 난소 용적의 감소는 폐경 이후에 수 년 동안에 관찰되며 가임기 연령에서는 주요한 변화가 없는 것 같다 (Tepper 등, 1995; Ng 등 2003).

2) Total antral follicle count (AFC)

난포기 초기에 질식 초음파로 측정된 10 mm 미만의 난포 수로 정의되는 AFC는 체외수정술에서 획득된 난자 수와 주기 취소율의 예측인자임이 보고된 바 있다 (Tomas 등, 1997). Chang 등 (1998)은 149 보조생식술 주기를 대상으로 한 전향적 연구에서 성선자극호르몬 투여 이전에 AFC를 측정하였고 AFC에 따라서 세 군 (≤ 3 , 4~10, ≥ 11)으로 나누어 결과를 비교하였는데, AFC가 ≤ 3 인 군은 다른 두 군에 비하여 주기 취소율이 유의하게 높았고 (68.8 vs. 5.3 and 0%) AFC가 증가함에 따라서 임신율이 높은 경향을 보였다 (각각 0, 23.7, 36.8%).

Scheffer 등 (1999)은 연령과 AFC의 관계 및 규칙적인 월경주기를 갖는 여성에서 AFC의 재현성에 관한 연구에서 생식능력이 입증된 25~46세의 162명의 건강한 여성을 대상으로 난포기 초기에 AFC를 측정하였다. AFC는 연령과 밀접한 연관성을 보였고 37세 이전에 AFC는 년 평균 4.8%의 감소를 보였으며 이후에는 11.7%의 감소를 보였다. 연속되는 두 월경주기에 AFC의 재현성은 중등도였다. 결론적으로 양측 난소에서 AFC는 연령과 관련이 있으며 남아있는 원시난포의 pool을 잘 반영할 수 있다고 주장하였다. Ng 등 (2003)은 중국 여성에서 시행된 연구에서 여러 ovarian reserve test 중 AFC가 연령과 가장 좋은 연관성을 보였고 연령의 증가에 따른 AFC의 감소는 monophasic하며 년 3.8% 감소하였다고 보고한 바 있다. Bansci 등 (2002)은 첫 번째 체외수정술 주기 환자 120명을 대상으로 한 전향적 연구에서 총 난소 용적, 기저 혈중 FSH, E₂, inhibin-B 농도 중 AFC가 불량한 난소 반응의 가장 좋은 유일한 예측인자라고 보고한 바 있다. Yong 등 (2003)은 난포기 초기의 혈중 FSH 농도와 황체기 중기의 AFC가 획득된 난자 수와 관련된 독립적인 유일한 인자라고 보고하였다. Hendriks 등 (2005)은 1999년부터 2003년 사이에 시행된 43개의 연구에 대한 메타분석에서 체외수정술 시 난소 반응을 예측하는 인자로 기저 혈중 FSH 농도보다 난소자극 시작 전 시행한 질식 초음파 상의 AFC가 더 효과적이라고 보고하였다. 이 메타분석에 포함된 연구들에서 사용된 AFC의 cut-off value는 3~10개로 이중 4개를 cut-off value로 사용한 경우가 가장 많았다.

월경주기 제3일에 실시한 초음파 검사 소견 상 난소 내에 thick stroma 및 2~8 mm의 작은 난포들이 10개 이상 관찰되는 경우에는 다낭성 난소증 (polycystic ovarian disease, PCOD)의 전형적인 내분비학적 소견을 보이지 않아도 과배란유도시 난소의 과도한 반응으로 난소 과자극증후군 (ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS)의 발생 빈도가 높으므로 배란유도제의 용량을 조절하여야 한다.

난소의 초음파 검사로서 과배란유도 전에 난소의 반응 정도를 정확하게 예측할 수는 없지만 초음파 검사를 통하여 체외수정술을 위한 여러 가지 유용한 정보를 얻을 수 있다. 초음파를 이용한 ovarian reserve test 중 AFC는 난소 용적보다 ovarian reserve를 더 잘 반영하는 것으로 여겨진다.

3) Ovarian stromal blood flow

Engmann 등 (1999)은 기저 혈중 FSH 농도가 정상인 환자에서 뇌하수체 억제 후 질식 초음파 펄스 도플러 (pulsed doppler)를 사용하여 측정된 난소 기질의 peak systolic velocity (PSV)가 연령, 기저 혈중

E₂ 농도, FSH/LH 비와 비교할 때 과배란유도에 대한 반응의 가장 중요한 예측인자며 PSV의 cut-off는 10 cm/s였고 모든 다른 예측인자들이 일정하게 유지될 때 PSV가 1 cm/s 증가함에 따라 획득된 난자 수는 7% 증가하였다고 보고한 바 있다. 일반 인구에서 연령의 증가는 3차원 강화 도플러 (three-dimensional power doppler)로 측정된 난소 기질의 혈관분포 정도 (vascularity)의 감소와 관련이 있다 (Pan 등, 2002). 정상 혈중 FSH 농도를 갖는 56명의 체외수정시술 환자를 대상으로 한 연구에서도 난소 기질의 vascularity와 AFC가 연령의 증가에 따라 감소하였다 (Kupesic 등, 2003).

그러나, 연령이 난소 기질의 PSV에 영향을 미치지 않는다는 보고도 있어서 (Ng 등, 2003) 여전히 추가적인 연구가 필요한 것으로 사료된다.

Conclusion

체외수정시술을 위한 과배란유도 시 배란유도제에 대한 난소의 반응을 예측하는 것은 불임 환자에 대한 효과적인 치료 계획을 세우고 불임 환자를 상담하는데 있어서 임상에게 많은 도움을 준다. 또한 상기한 바와 같이 여러 가지 예측인자들을 사용함으로써 난소의 반응을 보다 효과적으로 예측할 수 있다. 물론 여러 가지 예측인자들의 결과가 체외수정시술의 결과를 정확하게 반영할 수 있는 것은 아니므로 가장 적합한 치료 전략을 세우기 위해서는 무엇보다도 치료자의 임상적 경험도 중요할 것이다.

비정상 ovarian reserve test를 갖는 환자들도 자연적으로나 보조생식술을 통하여 임신이 된다. 기저 혈중 FSH 농도가 높은 경우 임신율의 저하와 관련이 있으나 생식능력에 대한 선별검사로 기저 혈중 FSH를 사용하는 것에 대한 충분한 증거는 없다. 보고된 많은 연구들의 방법 및 결과의 차이로 여러 ovarian reserve test를 비교하는 것은 매우 어렵고 AFC 측정과 같은 단순한 방법이 앞으로 유망할 수 있을지라도 현재까지 명쾌한 ovarian reserve의 예측인자는 아직 없는 실정이다. Ovarian reserve test는 임신의 가능성에 대한 정확한 정보를 제공하여야 하며 임신에 실패할 환자를 판별할 수 있어야 하지만 현재까지 이러한 목표를 얻을 수 있는 임상적으로 유용한 검사는 없다. 향후 일반인에서, 불임의 원인에 따라서 ovarian reserve test의 유효성을 검증하기 위한 연구가 지속되어야 할 것으로 사료되며 또한 난소 반응을 보다 객관적으로 평가하기 위한 여러 가지 지표들의 개발을 위한 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것이다.

참 고 문 헌

- 김석현. Prediction of ovarian response in controlled ovarian hyperstimulation. 2001 서울의대 산부인과학교실 연수강좌: Updated clinical practice in obstetrics and gynecology. pp. 35-44.
- Bancsi LF, Broekmans FJ, Eijkemans MJ, de Jong FH, Habbema JD, te Velde ER. Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertil Steril* 2002; 77: 328-36.
- Bancsi LF, Broekmans FJ, Mol BW, Habbema JD, te Velde ER. Performance of basal follicle-stimulating hormone in the prediction of poor ovarian response and failure to become pregnant after in vitro fertilization: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2003; 79: 1091-100.

- Broekmans FJ, Scheffer GJ, Bancsi LFJMM, Dorland M, Blankenstein MA, te Velde ER. Ovarian reserve tests in infertility practice and normal fertile women. *Maturitas* 1998; 30: 205-14.
- Bukman A, Heineman MJ. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility. *Hum Reprod Update* 2001; 7: 581-90.
- Bukulmez O, Arici A. Assessment of ovarian reserve. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2004; 16: 231-7.
- Buyalos RP, Daneshmand S, Brzechffa PR. Basal estradiol and follicle-stimulating hormone predict fecundity in women of advanced reproductive age undergoing ovulation induction therapy. *Fertil Steril* 1997; 68: 272-7.
- Chang MY, Chiang CH, Hsieh TT, Soong YK, Hsu KH. Use of the antral follicle count to predict the outcome of assisted reproductive technologies. *Fertil Steril* 1998; 69: 505-10.
- Christensen JT, Boldsen J, Westergaard JG. Ovarian volume in gynecologically healthy women using no contraception, or using IUD or oral contraception. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1997; 76: 784-9.
- Chuang CC, Chen CD, Chao KH, Chen SU, Ho HN, Yang YS. Age is a better predictor of pregnancy potential than basal follicle-stimulating hormone levels in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2003; 79: 63-8.
- Craft I, Brinsden P. Alternatives to IVF: the outcome of 1071 first GIFT procedures. *Hum Reprod* 1989; 4(8 Suppl): 29-36.
- Creus M, Penarrubia J, Fabregues F, Vidal E, Carmona F, Casamitjana R, Vanrell JA, Balasch J. Day 3 serum inhibin B and FSH and age as predictors of assisted reproduction treatment outcome. *Hum Reprod* 2000; 15: 2341-6.
- de Boer EJ, den Tonkelaar I, te Velde ER, Burger CW, Klip H, van Leeuwen FE. OMEGA-project group. A low number of retrieved oocytes at in vitro fertilization treatment is predictive of early menopause. *Fertil Steril* 2002; 77: 978-85.
- de Vet A, Laven JSE, de Jong FH, Themmen APN, Fauser BCJM. AntiMüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril* 2002; 77: 357-62.
- Dumesic DA, Damario MA, Session DR, Famuyide A, Lesnick TG, Thornhill AR, McNeilly AS. Ovarian morphology and serum hormone markers as predictors of ovarian follicle recruitment by gonadotropins for in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 2538-43.
- Eldar-Geva T, Robertson DM, Cahir N, Groome N, Gabbe MP, Maclachlan V, Healy DL. Relationship between serum inhibin A and B and ovarian follicle development after a daily fixed dose administration of recombinant follicle-stimulating hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 607-13.
- Engmann L, Sladkevicius P, Agrawal R, Bekir JS, Campbell S, Tan SL. Value of ovarian stromal blood flow velocity measurement after pituitary suppression in the prediction of ovarian responsiveness and outcome of in vitro fertilization treatment. *Fertil Steril* 1999; 71: 22-9.
- Fabregues F, Balasch J, Creus M, Carmona F, Puerto B, Quinto L, Casamitjana R, Vanrell JA. Ovarian reserve test with human menopausal gonadotropin as a predictor of in vitro fertilization outcome. *J Assist Reprod Genet* 2000; 17: 13-9.
- Fanchin R, de Ziegler D, Olivennes F, Taieb J, Dzik A, Frydman R. Exogenous follicle stimulating hormone ovarian reserve test (EFORT): a simple and reliable screening test for detecting 'poor responders' in in-vitro

- fertilization. *Hum Reprod* 1994; 9: 1607-11.
- Farhi J, Homburg R, Ferber A, Orvieto R, Ben Rafael Z. Non-response to ovarian stimulation in normogonadotrophic, normogonadal women: a clinical sign of impending onset of ovarian failure pre-empting the rise in basal follicle stimulating hormone levels. *Hum Reprod* 1997; 12: 241-3.
- Fawzy M, Lambert A, Harrison RF, Knight PG, Groome N, Hennelly B, Robertson WR. Day 5 inhibin B levels in a treatment cycle are predictive of IVF outcome. *Hum Reprod* 2002; 17: 1535-43.
- Frattarelli JL, Levi AJ, Miller BT, Segars JH. Prognostic use of mean ovarian volume in in vitro fertilization cycles: A prospective assessment. *Fertil Steril* 2004; 82: 811-5.
- Gulekli B, Bulbul Y, Onvural A, Yorukoglu K, Posaci C, Demir N, Erten O. Accuracy of ovarian reserve tests. *Hum Reprod* 1999; 14: 2822-6.
- Hall JE, Welt CK, Cramer DW. Inhibin A and inhibin B reflect ovarian function in assisted reproduction but are less useful at predicting outcome. *Hum Reprod* 1999; 14: 409-15.
- Hannoun A, Abu Musa A, Awwad J, Kaspar H, Khalil A. Clomiphene citrate challenge test: cycle to cycle variability of cycle day 10 follicle stimulating hormone level. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1998; 25: 155-6.
- Hansen LM, Batzer FR, Gutmann JN, Corson SL, Kelly MP, Gocial B. Evaluating ovarian reserve: follicle stimulating hormone and oestradiol variability during cycle days 2-5. *Hum Reprod* 1996; 11: 486-9.
- Hendriks DJ, Mol BW, Bancsi LF, Te Velde ER, Broekmans FJ. Antral follicle count in the prediction of poor ovarian response and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level. *Fertil Steril* 2005; 83: 291-301.
- Jain T, Soules MR, Collins JA. Comparison of basal follicle-stimulating hormone versus the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening. *Fertil Steril* 2004; 82: 180-5.
- Kim YK, Wasser SK, Fujimoto VY, Klein NA, Moore DE, Soules MR. Utility of follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), oestradiol and FSH:LH ratio in predicting reproductive age in normal women. *Hum Reprod* 1997; 12: 1152-5.
- Kwee J, Elting MW, Schats R, Bezemer PD, Lambalk CB, Schoemaker J. Comparison of endocrine tests with respect to their predictive value on the outcome of ovarian hyperstimulation in IVF treatment: results of a prospective randomized study. *Hum Reprod* 2003; 18: 1422-7.
- Kupesic S, Kurjak A, Bjelos D, Vujisic S. Three-dimensional ultrasonographic ovarian measurements and in vitro fertilization outcome are related to age. *Fertil Steril* 2003; 79: 190-7.
- Lambalk CB, de Koning CH. Interpretation of elevated FSH in the regular menstrual cycle. *Maturitas* 1998; 30: 215-20.
- Lass A, Skull J, McVeigh E, Margara R, Winston RM. Measurement of ovarian volume by transvaginal sonography before ovulation induction with human menopausal gonadotrophin for in-vitro fertilization can predict poor response. *Hum Reprod* 1997; 12: 294-7.
- Lass A, Silye R, Abrams DC, Krausz T, Hovatta O, Margara R, Winston RM. Follicular density in ovarian biopsy of infertile women: a novel method to assess ovarian reserve. *Hum Reprod* 1997; 12: 1028-31.
- Lee SJ, Lenton EA, Sexton L, Cooke ID. The effect of age on the cyclical patterns of plasma LH, FSH, oestradiol and progesterone in women with regular menstrual cycles. *Hum Reprod* 1988; 3: 851-5.

- Lawson R, El-Toukhy T, Kassab A, Taylor A, Braude P, Parsons J, Seed P. Poor response to ovulation induction is a stronger predictor of early menopause than elevated basal FSH: a life table analysis. *Hum Reprod* 2003; 18: 527-33.
- Licciardi FL, Liu HC, Rosenwaks Z. Day 3 estradiol serum concentrations as prognosticators of ovarian stimulation response and pregnancy outcome in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1995; 64: 991-4.
- Magarelli PC, Pearlstone AC, Buyalos RP. Discrimination between chronological and ovarian age in infertile women aged 35 years and older: predicting pregnancy using basal follicle stimulating hormone, age and number of ovulation induction/intra-uterine insemination cycles. *Hum Reprod* 1996; 11: 1214-9.
- Martin JS, Nisker JA, Tummon IS, Daniel SA, Auckland JL, Feyles V. Future in vitro fertilization pregnancy potential of women with variably elevated day 3 follicle-stimulating hormone levels. *Fertil Steril* 1996; 65: 1238-40.
- Menken J, Trussell J, Larsen U. Age and infertility. *Science* 1986; 233: 1389-94.
- Mukherjee T, Copperman AB, Lapinski R, Sandler B, Bustillo M, Grunfeld L. An elevated day three follicle-stimulating hormone:luteinizing hormone ratio (FSH:LH) in the presence of a normal day 3 FSH predicts a poor response to controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril* 1996; 65: 588-93.
- Nader S, Berkowitz AS. Use of the hormonal response to clomiphene citrate as an endocrinological indicator of ovarian ageing. *Hum Reprod* 1991; 6: 931-3.
- Navot D, Drews MR, Bergh PA, Guzman I, Karstaedt A, Scott RT Jr, Garrisi GJ, Hofmann GE. Age-related decline in female fertility is not due to diminished capacity of the uterus to sustain embryo implantation. *Fertil Steril* 1994; 61: 97-101.
- Ng EH, Yeung WS, Fong DY, Ho PC. Effects of age on hormonal and ultrasound markers of ovarian reserve in Chinese women with proven fertility. *Hum Reprod* 2003; 18: 2169-74.
- 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.
- Padilla SL, Bayati J, Garcia JE. Prognostic value of the early serum estradiol response to leuprolide acetate in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1990; 53: 288-94.
- Pan HA, Cheng YC, Li CH, Wu MH, Chang FM. Ovarian stroma flow intensity decreases by age: a three-dimensional power doppler ultrasonographic study. *Ultrasound Med Biol* 2002; 28: 425-30.
- Pellestor F, Andreo B, Arnal F, Humeau C, Demaille J. Maternal aging and chromosomal abnormalities: new data drawn from in vitro unfertilized human oocytes. *Hum Genet* 2003; 112: 195-203.
- Peñarrubia J, Fabregues F, Manau D, Creus M, Casals G, Casamitjana R, et al. Basal and stimulation day 5 anti-Müllerian hormone serum concentrations as predictors of ovarian response and pregnancy in assisted reproductive technology cycles stimulated with gonadotropin-releasing hormone agonist-gonadotropin treatment. *Hum Reprod* 2005; 20: 915-22.
- Ravhon A, Lavery S, Michael S, Donaldson M, Margara R, Trew G, Winston R. Dynamic assays of inhibin B and oestradiol following busarelin acetate administration as predictors of ovarian response in IVF. *Hum Reprod* 2000; 15: 2297-301.

- Ranieri DM, Quinn F, Makhlof A, Khadum I, Ghutmi W, McGarrigle H, Davies M, Serhal P. Simultaneous evaluation of basal follicle-stimulating hormone and 17 beta-estradiol response to gonadotropin-releasing hormone analogue stimulation: an improved predictor of ovarian reserve. *Fertil Steril* 1998; 70: 227-33.
- Scheffer GJ, Broekmans FJ, Dorland M, Habbema JD, Looman CW, te Velde ER. Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility. *Fertil Steril* 1999; 72: 845-51.
- Scott RT, Toner JP, Muasher SJ, Oehninger S, Robinson S, Rosenwaks Z. Follicle-stimulating hormone levels on cycle day 3 are predictive of in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1989; 51: 651-4.
- Scott RT Jr, Hofmann GE, Oehninger S, Muasher SJ. Intercycle variability of day 3 follicle-stimulating hormone levels and its effect on stimulation quality in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1990; 54: 297-302.
- Scott RT, Hofmann GE. Prognostic assessment of ovarian reserve. *Fertil Steril* 1995; 63: 1-11.
- Seifer DB, Lambert-Messerlian G, Hogan JW, Gardiner AC, Blazar AS, Berk CA. Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome. *Fertil Steril* 1997; 67: 110-4.
- Seifer DB, Scott Jr. RT, Bergh PA, Abrogast LK, Friedman CI, Mack CK, et al. Women with declining ovarian reserve may demonstrate a decrease in day 3 serum inhibin B before a rise in day 3 follicle-stimulating hormone. *Fertil Steril* 1999; 72: 63-5.
- Seifer DB, MacLaughlin DT, Christian BP, Feng B, Shelden RM. Early follicular serum müllerian-inhibiting substance levels are associated with ovarian response during assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril* 2002; 77: 468-71.
- Sharara FI, Lim J, McClamrock HD. The effect of pituitary desensitization on ovarian volume measurements prior to in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1999; 14: 183-5.
- Smotrich DB, Widra EA, Gindoff PR, Levy MJ, Hall JL, Stilman RJ. Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1995; 64: 1110-36.
- Syrop CH, Dawson JD, Husman KJ, Sparks AE, Van Voorhis BJ. Ovarian volume may predict assisted reproductive outcomes better than follicle stimulating hormone concentration on day 3. *Hum Reprod* 1999; 14: 1752-6.
- Tepper R, Zalel Y, Markov S, Cohen I, Beyth Y. Ovarian volume in postmenopausal women--suggestions to an ovarian size nomogram for menopausal age. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1995; 74: 208-11.
- te Velde ER, Pearson PL. The variability of female reproductive ageing. *Hum Reprod Update* 2002; 8: 141-54.
- Tinkanen H, Blauer M, Laippala P, Tuohimaa P, Kujansuu E. Prognostic factors in controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril* 1999; 72: 932-6.
- Tomas C, Nuojua-Huttunen S, Martikainen H. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1997; 12: 220-3.
- Urbancsek J, Hauzman E, Klinga K, Rabe T, Papp Z, Strowitzk T. Use of serum inhibin B levels at the start of ovarian stimulation and at oocyte pickup in the prediction of assisted reproduction treatment outcome. *Fertil Steril* 2005; 83: 341-8.
- van Montfrans JM, Hoek A, van Hooff MH, de Koning CH, Tonch N, Lambalk CB. Predictive value of basal follicle-stimulating hormone concentrations in a general subfertility population. *Fertil Steril* 2000; 74:

97-103.

- van Rooij IAJ, Broekmans FJM, te Velde ER, Fauser BCJM, Bancsi LFJMM, de Jong FH, et al. Serum anti-Müllerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Hum Reprod* 2002; 17: 3065-71.
- van Rooij IA, Bancsi LF, Broekmans FJ, Looman CW, Habbema JD, te Velde ER. Women older than 40 years of age and those with elevated follicle-stimulating hormone levels differ in poor response rate and embryo quality in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2003; 79: 482-8.
- Watt AH, Legedza AT, Ginsburg ES, Barbieri RL, Clarke RN, Homstein MD. The prognostic value of age and follicle-stimulating hormone levels in women over forty years of age undergoing in vitro fertilization. *J Assist Reprod Genet* 2000; 17: 264-8.
- Winslow KL, Toner JP, Brzyski RG, Oehninger SC, Acosta AA, Muasher SJ. The gonadotropin-releasing hormone agonist stimulation test--a sensitive predictor of performance in the flare-up in vitro fertilization cycle. *Fertil Steril* 1991; 56: 711-7.
- Yanushpolsky EH, Hurwitz S, Tikh E, Racowsky C. Predictive usefulness of cycle day 10 follicle-stimulating hormone level in a clomiphene citrate challenge test for in vitro fertilization outcome in women younger than 40 years of age. *Fertil Steril* 2003; 80: 111-5.
- Yeh J, Bowman MJ, Browne RW, Chen N. Reproductive aging results in a reconfigured ovarian antioxidant defense profile in rats. *Fertil Steril* 2005; 84 (Suppl 2): 1109-13.
- Yong PY, Baird DT, Thong KJ, McNeilly AS, Anderson RA. Prospective analysis of the relationships between the ovarian follicle cohort and basal FSH concentration, the inhibin response to exogenous FSH and ovarian follicle number at different stages of the normal menstrual cycle and after pituitary down-regulation. *Hum Reprod* 2003; 18: 35-44.