

체외수정 및 배아이식:Ohio State University의 시술과정을 중심으로

충남대학교 의과대학 산부인과학교실

강 길 전

A Observation of IVF-ET Program in the Reproductive Center of the Ohio State University Hospital

Kil-Chun Kang, M.D.

Department of Obstetrics & Gynecology, College of Medicine, Chungnam National University

= Abstract =

This is a report concerning IVF-ET program and its outcomes of the reproductive center of the Ohio State University (OSU). The pregnancy rate/laparascopy in the OSU reproductive center was average 12.2%. However, the fertilization rate was lower than other reporters. The other problem of the OSU reproductive center was that there was no success in the field of cryopreserved embryo and donor embryo.

Therefore, many aspects such as hyperstimulation protocol, culture systems, and embryo transfer technique should have to be reevaluated in order to enhance the outcome of IVF-ET program in the OSU reproductive center.

서 론

1978년 사람에 있어서 처음으로 체외수정 및 배아이식(In vitro fertilization-embryo transfer, 이하 IVF-ET)의 성공에 의한 신생아가 태어난 이래(Stephoe et al., 1978), 불과 10년 사이에 지구상에는 IVF-ET를 시술하는 많은 불임 센터가 생겼으며 그 결과 지구상의 전체 인구의 1/100만이 IVF-ET에 의하여 태어난다고 하였다(Hodgen, 1987).

미국은 도시마다 최소 하나 정도의 IVF-ET 센터가 있으며 대학병원은 말할 것도 없고 일반종합병원 및 개인의원에서도 IVF-ET를 시술하고 있는 것으로 알려지고 있으며 1988년 통계에 의하면(Raymond, 1988; US Government, 1989), 미국에는 약 165개의 IVF-ET센터가 있고 이중 연간 200회 이상의 난자채취를 시술

하는 병원은 12개소이며, 100-199회 시술하는 병원이 28개소, 25-99회 시술하는 병원이 57개소이며, 25회 미만은 47개소이다.

오하이오 주립대학병원(Ohio State University, 이하 OUS)의 불임센터는 1982년 9월부터 IVF-ET를 시술한 이래 1988년 12월말까지 36명의 태아가 태어났으며, 연간 100회 이상의 난자채취를 시술하는 미국 40개센터중의 하나이다.

OUS불임센터는 방사면역측정에 의하여 혈중 E₂, LH, 및 progesterone을 매일(주말 포함) 측정할 수 있는 시설과 인원을 갖추고 있으며, 배아의 냉동보존이 가능하며, 인적구성엔 교수요원 5명, 연구원(fellow) 3명등 산부인과 전문의 8명과 생물학박사학위 소지자 1명, 석사 1명, 전담기사 3명 및 전담 간호원등으로 구성되어 있다.

본 논문은 저자가 OUS불임센터에서 실시하고 있는 IVF-ET시술과정을 관찰할 기회가 있었기에 이를 소개하고자 한다.

이 논문은 1988년도 문교부 국비해외과제연구 교수 지원에 의하여 이루어진 것임.

대상 및 시술방법

1. 대상환자 및 과배란유도

IVF-ET를 시술하는 대상환자는 주로 난관폐쇄환자이었으나 그 외에도 자궁내막증, 자궁경관인자, 남성불임, 항정자항체에 의한 불임, 및 원인불명의 불임인자를 시술대상으로 하였다.

과배란유도는 주로 human menopausal gonadotropin 및 human chorionic gonadotropin(이하 HMG/HCG)와 follicle stimulating hormone HMG 및 HCG(이하 FSH/HMG/HCG)를 사용하였으나 때로는 clomiphene 및 HCG(이하 CC/HCG), clomiphene, HMG 및 HCG(이하 CC/HMG/HCG)와 leuprolide, HMG 및 HCG(이하 Leu/HMG/HCG)등도 사용하였다.

HMG/HCG에 의한 과배란시에는 월경 제 3일부터 1일 2앰플의 pergonal을 투여하기 시작하여 환자의 치료반응에 따라서 증량하였으며, 월경 제 3일부터 매일 초음파 및 혈중 E_2 를 측정하여 난포성장을 감시하였고, 월경 제 6일부터 혈중 LH를 방사면역측정하였다.

FSH/HMG/HCG에 의한 과배란시에는 월경 제 3일과 제 4일에 각각 1-2앰플의 FSH를 추가하는 것 이외는 HMG/HCG와 동일하였다.

CC/HCG에 의한 과배란시에는 월경 제 3일부터 제 7일까지 1일 150mg의 clomiphene을 투여하였고, 월경 제 7일부터 초음파 및 혈중 E_2 를 측정하였다.

CC/HMG/HCG에 의한 과배란시에는 clomiphene을 CC/HCG법과 동일하게 투여하며, 추가로 월경 제 8일부터 1일 2앰플의 pergonal을 투여하기 시작하여 환자의 치료반응에 따라 증량하였다.

Leu/HMG/HCG에 의한 과배란시에는 월경 제 3일부터 leuprolide를 1일 500 μ g씩 피하주사하여 1개월간 투여한 다음 혈중 E_2 를 측정하여 30pg/ml이하이면 gonadotropin releasing hormone, (이하 GnRH)자극시험을 실시하였다. 즉 GnRH 100 μ g을 정맥주사한 다음, 주사후 0분, 30분, 60분, 및 90분 후에 채혈하여 혈중 LH가 주사전 보다 2배이상 증가하면 뇌하수체기능이 아직 완전억제가 되지 않은 것으로 판단하고 leuprolide를 동일 용량 혹은 1mg으로 증량하여 2주일간 더 투여한 다음, 다시 GnRH 자극시험을 실시하였다. GnRH자극시험에서 뇌하수체기능의 완전억제가 확인되면 HMG를 1일

2앰플씩 투여하고 환자의 치료반응에 따라서 증량하였으며 이때 leuprolide도 HCG투여시 까지 계속 주사 하였다. 그 외 난포성장의 감시는 HMG/HCG법과 동일하였다.

이상과 같이 여러가지 과배란유도에 의하여 난포성장을 유발시킨 다음 혈중 E_2 치가 500pg/ml이상이고 동시에 초음파상 직경 16-18mm 이상 크기의 난포가 2개이상 나타나면 과배란유도를 중단하고 HCG 5,000단위를 주사하였다. 이때 HCG는 마지막 HMG 투여 30시간 지나서, 그리고 난자채취 34시간 이전에 투여하였다.

경우에 따라서는 난관성형술, 자궁내막증환자의 수술적 치료 및 기타 불임치료를 위한 개복시에도 개복술과 동시에 IVF-ET를 시행하였는데, 이 경우에는 clomiphene을 월경 제 3일부터 제 7일까지 1일 150mg씩 투여하고 수술실사정에 따라 월경 제 13일 혹은 14일에 개복한 후 난자를 채취하였다. 이 방법은 난포성장에 필요한 감시를 하지 않기 때문에 HCG투여시간을 수술시간에 맞추어, 수술 32-34시간 이전에 투여 하였으며 과배란유도중 취소시키는 경우가 없이 예정날자에 개복하는 방법이였다.

난자채취는 1986년까지는 전신마취하에서 복강경을 사용하였으나 그 이후는 초음파유도에 의한 질식채취법과 복강경을 이용하는 방법을 병용하였다.

2. 체외수정 및 수정란 배양

배양액은 Ham F-10용액에 소혈청알부민(bovine serum albumin, 이하 BSA)을 첨가하여 사용하였으며, 수정용배양액은 BSA 0.5%를 첨가하였고, 배아성장용 배양액에는 BSA 1%를 첨가하여 사용하였다. 채취된 난자는 즉시 해부 현미경하에서 관찰하여 난구세포, 관상세포, 및 난자의 형태에 따라서 성숙난, 미성숙난, 중간형 및 퇴화난 등으로 구별하였고, 배양용기는 배양접시(Falcon 3037)을 사용하였으며 난자의 성숙도에 따라서 성숙난은 37 $^{\circ}$ C, 5% CO_2 배양기(Forma Scientific)에서 6-8시간 전배양 후 수정시켰으며, 미성숙난은 12-24시간 전배양 후 수정시켰다.

정액은 난자채취 4시간후 수음에 의하여 채취하여 액화를 기다린 다음, 정액의 양, 정충의 수, 운동성 및 형태등을 측정하고 혈청이나 알부민등을 첨가하지 않은 단순 Ham F-10용액

으로 정액과 혼합하여 300×g에서 7분간 2회에 걸쳐 원심분리 하였고, 마지막 정충의 pellet에는 1-2ml의 배양액을 섞이지 않도록 첨가하여 정충이 부유하기를 기다린 다음, 활동성이 강한 정충의 수가 ml당 100-200만이 되게 조정된 다음 각 난자에 1ml당 5만~10만 마리를 주입하여 수정시켰다. 난자와 정충이 혼합된 배양접시는 37°C, 5% CO₂배양기에서 배양을 시작하였으며 수정 12-16시간 후 해부현미경하에서 난자에 부착된 난구세포를 제거하고 진행형성 유무를 관찰한 다음 성장용 배양액에 옮겨 배양을 계속하였다. 난자채취 48시간후 2-6세포기의 배아가 확인되면 이식카테타(20G teflon catheter, Cook OB/GYN Bloomington, IN)을 사용하여 자궁강내에 이식하였다.

3. 황체기 보강

난자채취 후 3~5일째 HCG 3,000단위를 주사하거나 progesterone 질정 50mg을 1일 2회 질내 삽입하였다.

4. 임신확인

난자채취 12일후 최소 3일 간격으로 β-HCG를 측정하여 계속 증가하는 양상을 보이면서 초음파상에서 태반이 보이면 임신으로 진단하였다.

5. 냉동배아의 이식

OSU에서 사용하는 배아의 냉동보존법은 과거에는 Trounson(1983)의 DMSO를 이용한 방법과 Cohen(1985)의 glycerol을 이용한 방법을 사용하였으나 최근에는 Lassalle(1985)의 방법을 약간 수정한 1, 2-propanediol를 이용하여 4-세포기 까지의 초기배아를 냉동보존 하였다.

6. 기증배아의 이식

기증배아의 이식방법은 Lutjen(1984)의 방법을 약간 수정하여 사용하였다.

결 과

결과는 OSU불임센터에서 지상에 발표한 논문(Awadalla et al., 1987; Dodds et al., 1987; Awadala et al., 1987; Roh et al., 1987; Roh et al., 1988; Dodds et al., 1989)과 미국 국회 청문회에 제출한 자료(US Government, 1989)를 이용하였다.

1. 시술환자의 수

시술환자의 수는 Table 1에서와 같이 1983-1986년의 4년간은 274명(년평균 68.5명), 1987년 65명 및 1988년은 90명이었고, 난자채취 회수는 1983-1986년은 334회로 년평균 83.5회 시술하여 환자 1명당 평균 1.2회의 시술을 하였고, 1987년은 79회의 난자채취를 시술하여 환자 1명당 평균 1.2회, 1988년은 102회의 난자채취를 시술하여 평균 1.1회의 시술을 하였다.

환자의 평균나이는 1983-1986년의 자료에 의하면 평균 31.8±3.9세이었고 1987년과 1988년은 30-40세군이 가장 많았으며 40세 이상의 고령환자도 다소 포함되어 있었다.

시술환자중 남성불임이 차지하는 비율은 1983-1988년은 약 9.3%이었고, 1987년 및 1988년은 각각 12% 및 15%이었다.

2. 과배란유도

과배란유도는 1983-1986년과 1987년은 주로 HMG/HCG법을 사용하였고, 1988년은 주로 FSH/HMG/HCG법을 사용하였다.

3. 취소율

과배란유도를 시작하였으나 도중에서 취소하게 된 경우는 Table 2에서와 같이 1983-1986년은 32.1%, 1987년은 24.8%, 그리고 1988년 25%로 평균 27.3%이었으며 취소의 이유는 Table 3과 같이 LH surge가 나타난 경우가 27.2%로 가장 많았다.

4. 난자채취 방법

난자채취 방법은 Table 4에서와 같이 1983-1986년은 주로 복강경을 이용하였고 그의 25회(7.5%)에서는 개복술을 통하여 시술하였으

Table 1. Number of patients

	1983-1986	1987	1988
No. of different patient	274	65	90
No. of aspirated cycles	334	79	102

Table 2. Cancellation rate

	1983-1986	1987	1988
Attempted cycles	492	105	136
Aspirated cycles	334	79	102
Cancellation rate(%)	32.1	24.8	25.0

며, 2회에서는 질식 채취를 시도하였고, 1987년은 72회(87.8%)는 복강경을 통하여 시술하였으며 나머지는 질식으로 하였다. 1988년부터 복강경 및 질식채취가 각각 50회 및 52회로 거의 비슷한 비율로 시술하였다.

5. 채취난자의 수 및 수정율

채취난자의 수는 Table 5에서와 같이 HMG/HCG법을 주로 사용한 1983-1986년 및 1987년은 평균 4.3개 및 4.9개이었고, FSH/HMG. HCG법을 주로 사용한 1988년은 평균 5.5개를 채취하였으며, 채취난자를 성숙도에 따라서 분류하면(Awadalla et al., 1987), 성숙난은 평균 2.58개이었고 미성숙난은 평균 2.96개로서 미성숙난이 더 많이 채취되었다.

수정율은 Table 5에서와 같이 1983-1986년은 52%, 1987년은 42%, 그리고 1988년은 43%로 평균 45.7%이었다. 그러나 남성불임인자의 수정율은 17%에 불과하였다(Awadalla et al., 1987).

Table 3. Causes of the cancellation

Causes	Percentage
Spontaneous LH surge	27.2
Dominant follicle	26.6
Poor estradiol response	22.8
Pre-existing ovarian cyst	17.1
Ovulation	4.4
Other	1.9

Table 4. Method of ovum aspiration

	1983-1986	1987	1988
Laparoscopic aspiration*	332	72	50
Transvaginal aspiration	2	7	52

*Some cases of laparotomy were included

Table 7. Clinical outcome of IVF treatment cycles

	1983-1986	1987	1988
Total No. of treated cycles commenced	492	105	136
Total No. of cycle proceeding to OPU	334	79	102
Total No. of clinical pregnancy	41	10	12
Clinical pregnancy rate/cycle commenced	8.3	9.5	8.8
Clinical pregnancy rate/OPU cycle	12.3	12.6	11.8
Clinical pregnancy rate/embryo transfer	16.1	18.2	18.2

*OPU:Ovum aspiration

6. 이식배아의 수 및 이식율

이식배아의 수는 Table 6에서와 같이 1983-1986년은 1.9개, 1987년은 1.7개, 그리고 1988년은 1.4개였으며, 이식율은 1983-1986년은 64.3%, 1987년은 69.6%, 그리고 1988년은 64.7%이었다.

7. 임신환자의 수 및 임신율

임신성공한 환자의 수는 Table 7에서와 같이 1983-1986년은 41명, 1987년은 10명, 그리고 1988년은 12명으로서 임신율은 취소환자를 포함하여 전체 과배란유도를 시작한 환자를 기준으로 하면 1983-1986년은 8.3%, 1987년은 9.5%, 그리고 1988년은 8.8%로서 평균 8.9%이었고, 난자채취가 가능하였던 환자의 수를 기준으로 하면 각각 12.3%, 12.6% 및 11.8%로 평균 12.2%이었고, 배아이식이 가능하였던 환자의 수를 기준으로하면 각각 16.1%, 18.2% 및 18.2%로서 평균 17.5%이었다. 특기할 사항은 1988년 1년간 질식으로 난자를 채취한 52명의 환자에 대하여 31명에게 배아이식을 시도하였으나 성공예가 없었다는 사실이었다.

Table 5. Number of the aspirated oocyte and fertilization rate

	1983-1986	1987	1988
Mean number of aspirated oocyte	4.3	4.9	5.5
Fertilization rate(%)	52	42	43

Table 6. Data of embryo transfer

	1983-1986	1987	1988
Mean number of transferred embryo	1.9	1.7	1.4
Embryo transfer rate(%)	64.3	69.6	64.7

Table 8. Rate of spontaneous abortion and ectopic pregnancy

	1983-1986	1987	1988
Rate of spontaneous abortion(%)	27.4	25.3	25.0
Rate of ectopic pregnancy(%)	4.2	9.0	8.3

Table 9. Outcome of cryopreserved embryo transfer

	1985	1986	1987	1988
Cycles of cryopreserved embryo transfer	1	1	9	7
Clinical pregnancy	0	0	0	0

8. 유산율 및 자궁외 임신율

유산율은 Table 8에서와 같이 1983-1986년은 27.4%, 1987년은 25.3%, 그리고 1988년은 25%로서 평균 25.9%이었으며 자궁외임신율은 1983-1986년은 4.2%, 1987년은 9.0% 그리고 1988년은 8.3%로서 평균 7.2%이었다.

9. 정상아 분만율

1988년 자료에 의하면(US Government, 1988) OSU의 1년간 IVF-ET에 의한 정상아 분만환자의 수는 6명이었다. 즉 136명이 과배란유도를 시작하여 34명이 과배란 도중에서 탈락되고, 102명에서 난자채취를 실시하였는데 이 중에서 난자채취가 실패한 경우, 수정이 실패한 경우, 수정은 되었으나 난황이 중단된 경우, 이식은 하였으나 임신성립이 안된 경우등을 제외하고 12명이 임신되었으며 12명중 유산된 경우, 자궁외 임신된 경우, 조산된 경우, 자궁내 태아사망된 경우등을 제외하고 만삭 정상아를 분만하여 애기를 집으로 데리고 갈 수 있었던 환자의 수는 6명이었다

10. 냉동배아의 이식에 의한 임신율

Table 9에서와 같이 1985년부터 배아의 냉동 보존후 이식을 시도하였으나 아직 성공에는 없었다.

11. 기증배아의 이식에 의한 임신율

Table 10에서와 같이 1987년부터 기증배아의 이식을 시도하였으나 아직 성공에는 없었다.

Table 10. Outcome of donor embryo transfer

	1987	1988
Cycles of donor embryo transfer	2	3
Clinical pregnancy	0	0

Table 11. Spontaneous pregnancy after cancelled IVF-ET program and its indication for IVF-ET

	Spontaneous pregnancy(%)
Endometriosis	9(50)
Male factor	4(22.2)
Unexplained infertility	2(11.1)
Cervical factor	1(5.6)
Pelvic adhesion	1(5.6)
Uterine factor	1(5.6)

12. IVF-ET 의 취소 및 실패후 자연임신된 환자의 수

1983-1986년 자료에 의하면 최소한 한쪽 난관이 정상이었으나 임신이 되지 않아 IVF-ET를 시술한 151명의 환자중 IVF-ET에 의하여 임신성공한 환자는 21명이었으며 나머지 130명은 임신실패한 환자이었다. 이들 임신실패한 환자 130명중 6개월 이내에 특별한 치료없이 저절로 임신된 환자가 18명(13.9%)이었다. 이들 치료없이 저절로 임신된 18명을 분석하면 Table 11에서와 같았다. 그리고 IVF-ET와 무관하게 임신된 환자중에는 취소 적응증에 의하여 과배란유도를 중간에서 취소하였으나 바로 그 취소한 주기에서 임신된 경우가 11.1%있었다.

고 찰

IVF-ET의 시술범위가 양측 난관폐쇄 환자 에게만 적용하던 고유의 적응증에서부터 자궁 내막증, 원인불명의 불임, 남성 불임인자, 자궁 경관인자 및 면역학적 인자등 다양하게 적용되는 것은 어쩔수 없는 추세이기는 하나 Boyers (1987)가 지적한 바와 같이 양측 난관폐쇄 이외의 환자에 대하여 IVF-ET를 시술하고자 할때는 확실히 IVF-ET이외는 치료방법이 없는 "불치의 불임"인 것을 반드시 확인한 후에 실시하는 것이 중요하리라 생각된다. 왜냐하면 Table 11에서 보는 바와 같이 OSU의 IVF-ET의 실패환자중 6개월

사이에 아무런 도움도 없이 저절로 임신된 환자가 130명중 18명(13.9%)으로 나타나 치료대상의 임신이 중요하리라 생각된다. 이들 13.9%의 환자는 배란유도를 끈기있게 시도하거나, 아니면 배란유도와 병행하여 자궁내 정충주입법을 시도했다라면 반드시 임신될 수 있었던 환자라고 생각된다. Table 11에서 보는 바와 같이 특히 자궁내막증환자 및 남성불임인자가 저절로 임신된 경우의 2/3를 차지하고 있어 이들 환자에게 IVF-ET를 시술하고자 할때는 다시 한번 적응증의 적부를 검토해 보는 것이 바람직하리라 생각된다.

OSU의 IVF-ET성적을 보면 난자채취당 임신율은 평균 12.2%로서 타보고자의 성적(Garcia et al., 1981; Vargyas et al., 1984; Lopta, 1983; Fishel et al., 1984; Kruger et al., 1986)과 비슷하였다. 한가지 흥미있는 사실은 이러한 성적이 과배란유도후 난포성자의 감시에 필요한 아무런 검사도 하지 않고 맹목적으로 사전에 계획된 예정일에 난자를 채취하는 소위 "fixed schedule"에 의한 임신성공율인 Frydman(1986)의 21%, 및 Roh(1987)의 20%보다 다소 낮다는 사실이었다.

OSU의 수정율은 평균 45.7%로서 타보고자(Jones et al., 1982; Sher et al., 1984; Diamond et al., 1985)에 비하여 다소 낮은 편이었으며 이식하는 난자의 수도 평균 1.7개로서 다소 적은 편이었다. 문헌에서 지적한 바와 같이(Lopata, 1983; Edward et al., 1984; Trounson, 1984; Testart et al., 1986), 이식난자의 수가 많아야 임신성공율이 증가하기 때문에 이식난자의 수는 IVF-ET에서 매우 중요한 인자로 알려지고 있다.

OSU의 IVF-ET에 의한 유산율은 평균 25.9%, 그리고 자궁외임신율은 평균 7.2%로서 미국 전체평균(MRI. & AFS. 1987)과 비슷하였다.

OSU에서 질식으로 채취한 난자의 임신성공예가 없다는 것은 다소 이상한 일로 생각되었다. 질식난자채취는 다음과 같은 점에서 IVF-ET에서 중요한 비중을 차지하고 있다. (1) 전신마취가 필요없고, (2) 반드시 수술실을 이용하지 않아도 되기 때문에 수술비용을 절감할 수 있고, (3) 수술시간이 짧고, (4) 복강내 기복을 만들 필요가 없으므로 기복에 의한 난자의 손상을 피할 수 있고 그리고, (5) 심한 골반내 유착시에도 시술이 가능한 점 등이다.

OSU에서 냉동배아의 이식후 성공예가 아직 없는 것도 이상한 일이었다. 냉동배아의 이식은 다음과 같은 점에서 IVF-ET에서 중요한 비중을 차지 하고 있다(Trounson et al., 1983; Cohen et al., 1985; Lassalle et al., 1985; Frydman et al., 1988). (1) 한번의 난자채취에 의하여 과배란주기 및 차기 정상월경주기등 여러번에 걸쳐 이식을 할 수 있으므로 5-10%의 임신성공율 증가효과를 기대할 수 있고, (2) 정상월경주기에서 하나의 배아를 이식할 수 있으므로 다태임신을 피할 수 있으며 그리고, (3) 잉여 배아에 대하여는 기증하거나 혹은 몇 년 후 환자 자신이 이용할 수 있는 점등이다.

OSU에서 기증배아의 이식후 성공예가 없는 것도 이상한 일이었다. 기증배아의 이식은 다음과 같은 점에서 IVF-ET에서 필요한 것이다(Lutjen et al., 1984; Serhal et al., 1987; Droesch et al., 1988). (1) 매번 시도하는 과배란유도에서 난포성장기 만족스럽지 못하거나, (2) 매번 시도하는 체외수정에서 수정이 안되거나, 난황이 정지되는 경우, (3) 여성측 유전질환으로 환자 자신의 난자를 이용할 수 없는 경우 및 (4) 환자 자신의 난소에 난자가 없는 경우등에서는 기증배아를 이용하여야 하기 때문이다.

저자는 OSU에 가기전에 IVF의 성공예는 경험하지 못 하였으나 GIFT에 의한 2예의 정상아분만 경험을 갖고 있었기 때문에 OSU에서의 1년간 체험은 IVF를 이해하는데 도움이 되었다. 그러나 또 다른 한편으로는 이러한 것들이 IVF에 관한 고정관념을 형성하게 되어 OSU에서 시술하는 과정과 상반될 때는 어느 것이 옳은가 혼동을 일으키는 원인이 되기도 하였다. 따라서 본 고찰에서는 시술과정중 OSU의 특징적인 것들을 중심으로 논의하고자 한다.

OSU에서 주로 사용하는 과배란 유도법은 1987년까지는 HMG/HCG법이었고 1988년부터는 FSH/HMG/HCG법이었는데 이 protocol을 개발한 Norfolk group(Garcia et al., 1983; Garcia et al., 1983; Jones et al., 1984; Muasher et al., 1985)과는 다소 차이가 있었다. 즉 (1) Norfolk group에서는 HMG와 HCG투여시간과의 간격이 50-52시간인데 비하여 OSU에서는 약 30시간 간격이었고, (2) HMG를 중단하는 기준을 Norfolk group에서는 혈중 E₂, 생체측정치 및 초음파소견등을 종합하는데 비하여 OSU에서는 혈중 E₂와 초음파소견만으로 판정하였고, (3) HCG투여용량을 Norfolk group에서는

10,000단위를 주사하는데 비하여 OSU에서는 5,000단위를 주사하는 점등이다. 그러나 Table 5에서 보는 바와 같이 난자채취의 수는 4.3-5.5개로서 HMG/HCG 및 FSH/HMG/HCG법을 주로 사용하는 Norfolk group(Jones et al., 1984; Muasher et al., 1985), Yale대학(Laufer et al., 1984), 및 Pennsylvania대학(Ben-Raphael et al., 1986; Benadiva et al., 1988)등과 비슷하였으며 따라서 과배란유도의 감시장치의 안전역이 상당히 넓다는 것을 알 수 있었다.

OSU의 과배란유도후 취소율은 평균 27.3%로서 미국 전체 통계 (MRI, & AFS, 1989)에서 나타난 취소율 26.1%와 비슷하였다. 그러나 OSU의 Roh(1987)의 보고와 같이 취소자중 11.1%에서 과배란유도주기에서 자연임신되는 것으로 보아 다소 과잉취소를 하지 않나 하는 생각이 들었다.

OSU환자의 평균 나이는 31.8세이었으며 40세이상 환자도 다소 포함되어 있었으며, 나이가 IVF-ET성공과 무관하다는 보고가 있기는 하나(Mahadevan et al., 1983; Jones Jr., 1986), IVF-ET를 처음 시작하는 병원에서는 대상환자의 나이를 40세미만으로 제한하는 것이 바람직하리라 생각되었다(Fishell et al., 1985).

남성불임환자가 대상환자에 많이 포함되어 있으면 전체 수정율의 감소효과를 초래할 것으로 생각되며(Mahadevan et al., 1983; Marrs et al., 1983), OSU환자의 남성불임인자가 차지하는 비율은 9.3%-15%로서 문헌상 보고된 남성불임인자가 차지하는 비율 10-15%(Lopata et al., 1983; Edwards et al., 1984; Trounson et al., 1984)와 비슷하였다.

난자채취중 난포액에 함유된 혈액이 응고됨으로써 그것이 배양 및 수정에 영향을 미칠 가능성을 고려하여 난자채취용 배양액에 heparin을 혼합하여 사용하게 되며, 또한 heparin은 수정 및 난화에 아무런 영향을 주지 않는 것으로 알려져 있고(Boyers et al., 1987), 많은 IVF-ET센터에서 난자채취용 배양액에 heparin을 첨가하여 사용하고 있는데(Steptoe et al., 1970; Renou et al., 1981; Laufer et al., 1983; Quigley et al., 1984; Acost et al., 1986), OSU는 heparin을 첨가하지 않는 것이 특징이었다.

체외에서 정충의 침체반응을 유도하면 5-7시간후 불과 전체의 20-25%에서만 침체반응을 일으키는 것으로 알려져 있고(Talbot et al., 1981), 이때 배양액에 첨가하는 알부민의 농도

가 높아야 침체반응이 더 잘 일어나는 것으로 알려지고 있는데(Gould et al., 1983; Plachot et al., 1984; Mortimer et al., 1989), OSU에서는 정충처리에 사용하는 배양액에 알부민이나 혈청등을 첨가하지 않은 Ham F-10용액만을 사용하는 것이 특징이었다.

남성불임환자의 IVF-ET시 수정율이 많이 떨어진다는 사실은 잘 알려져있기 때문에(Edwards et al., 1984; Mahadevan et al., 1983; Marrs et al., 1983) 이를 극복하기 위하여 과소정자증인 경우는 수정시 정충의 수를 보통의 5만 마리 보다 10배 많은 50만 마리를 사용하며(Wolf et al., 1984), 운동성이 모자라는 정충의 경우에는 percoll(Berger et al., 1985) 및 glasswool(Rhemrev et al., 1989)을 사용하여 운동성이 부족한 정충을 걸러내는 방법을 사용하기도 하며 미세조작술(Laws-King et al., 1987; Bongso et al., 1989)에 의하여 하나의 정충을 투명대에 주입하는 방법을 사용하는데, OSU에서는 남성불임환자의 정충처리를 일반환자와 꼭 같이 2회의 정액세척후 부유시킨 다음 그중 1~10만마리의 정충을 수정에 사용하는 것이 특징이었다.

IVF-ET에 사용하는 배양액에 혈청을 첨가하는 것이 좋은가, 첨가하지 않는 것이 좋은가에 관하여는 상반된 문헌들이 많다. 그중에는 생쥐 몇마리를 실험해 보고 그 결과를 통해서 사람에게도 IVF-ET배양액에 혈청을 첨가할 필요가 절대로 없다고 주장하는 문헌도 있고, 반면에 성공율로 보아 세계 5위권 이내에 들어가는 IVF-ET센터에서는 배양액에 환자의 혈청 내지는 재대혈청을 첨가하여 사용한다고 보고하고 있다. 한편으로 배양액에 소혈청알부민(BSA)의 첨가가 성적에 유리하다는 보고가 있기는 하나(Ogawa et al., 1986), 미국에서는 AIDS의 위험 때문에 사람의 혈청을 기피하는 것도 사실이다. 이와 같이 어느 쪽이 타당한지 확실치 않는 상태에서 그래도 분명한 것은, (1) 사람에게 있어서는 4-세포기 이후부터 배양액에 혈청속에 포함되어 있는 어떤 형태의 미지의 성장인자(growth factor)가 꼭 필요한 것으로 알려져 있고(Heath et al., 1985), (2) 미성숙 난자가 체외에서 성숙하기 위해서는 배양액에 반드시 혈청이 첨가되어야 한다는 사실이다(Schroeder et al., 1984). 어쨌든 이러한 상반된 의견중에서도 OSU는 배양액에 BSA를 첨가하는 것이 특징이었다.

초음파용 gel이 난자 및 배아에 유독하다는 사실은 잘 알려져 있으며(Wikland et al., 1985; Sheean et al., 1986), 따라서 질식 난자채취시 채취용 바늘이 초음파용 gel에 접촉되지 않는 것이 좋은 것으로 알려지고 있는데, OSU의 몇몇 술자는 transducer에 콘돔을 끼우고 콘돔 안밖으로 gel을 바르는 것도 특징이었다.

수도물을 이용하여 제조한 배양액에서도 생쥐 배아가 발육한다는 보고는 있으나(Fukuda et al., 1987), 사람의 IVF-ET에서는 일단 사용하였던 난자채취용 바늘이나 기타 재사용 가능한 기기의 세척은 증류수로 세척하는 것이 좋은 것으로 알려지고 있는데(Dandekar et al., 1984), OSU에서는 수도물로 세척하는 것이 특징이었다.

Sher(1984) 및 Testart(1982) 등은 채취난자의 온도변화와 pH변화를 줄이기 위하여 배양실�험실 전체를 37°C로 유지되도록 설계하든지, 아니면 신생아 보육기를 개조하여 37°C로 맞추고 CO₂를 조절하고 그 속에 해부현미경을 넣도록 권고하는데, OSU에서는 이런 시설을 사용하지 않는 것이 특징이었다.

난자를 채취한 직후 난자의 성숙도를 정확히 측정하는 것은 수정의 성패를 좌우하는 중요한 요소로 알려져 있으며(Veeck et al., 1986; Trounson et al., 1982) 또한 현미경만으로 구별이 곤란할 때는 hyaluronidase를 처리함으로써 난자 성숙도의 위양성을 줄일 수 있는 것으로 알려지고 있는데(Laufer et al., 1984), OSU에서는 난자 성숙도가 확실치 않는 경우, 이상과 같은 방법을 사용하지 않는 것이 특징이었다.

HMG/HCG protocol을 사용하는 IVF-ET센터에서는 난자 채취시 성숙난자 보다 미성숙난자가 더 많이 채취되는 것으로 알려져 있으며 따라서 HMG/HCG protocol을 개발한 Norfolk group은 일찍부터 이들 미성숙 난자의 체외성숙에 관심을 가졌으며, 그 결과 미성숙 난자의 체외 성숙율이 82%나 되었고, 이들의 65~85%가 수정되었으며 이중 극히 소수이기는 하나 정상아도 분만하였다(Veeck, 1985). OSU에서는 미성숙 난자에 대하여 이러한 방법들을 구사하지 않는 것도 특징이었다.

복강경을 통하든, 질을 통하든 난자 채취시 병원마다의 방침에 따라서 난포를 flushing하는 병원도 있고, flushing후 황체기능의 장애를 우려하여 flushing을 하지 아니하는 병원도 있는데

OSU에서는 flushing을 하는 것이 특징이었다.

OSU의 Dodds(1989)의 보고에 의하면 HCG 투여 2-3일전 혈중 LH치가 비정상적으로 증가하는 환자가 임신실패한 환자중 상당수에서 발견되었다고 하였다. HCG투여전 LH가 증가하면서 동시에 혈중 progesterone치도 증가하면 난포가 조기황체화 되어 난자를 채취하여도 임신이 안되는 것으로 알려져 있고, LH가 증가하더라도 혈중 progesterone치의 증가를 동반하지 않으면 LH증가는 크게 문제가 되지 않는 것으로 되어있다(Trounson, 1984). 그러므로 OSU에서와 같이 비정상 LH증가 환자가 많은 경우에는 LH측정과 동시에 혈중 progesterone치도 같이 측정하는 것이 타당하리라 생각되나 OSU에서는 혈중 progesterone치를 측정하지 않는 것이 특징이었다.

Norfolk group은 배아이식 카테타내의 배양액을 90 μ l 사용하여도 좋은 성적을 내고 있는 반면, Meldrum(1987) 및 Poindexter(1986) 등을 이식 카테타내의 배양액의 양이 적을수록 임신성공에 유리하다고 하였는데, OSU에서는 100 μ l 이상을 사용하는 것도 특징이었다.

대부분의 IVF-ET센터에서는 이식용 배양액에 50-98% (Boyers & DeCherney, 1987)의 혈청을 첨가하는 반면, Norfolk group(Jones Jr., 1985)은 이식용 배양액에 고농도의 혈청을 사용하면 임신율이 떨어진다고 하였고, Chetkowske(1985)는 고농도 혈청을 사용하면 pH가 너무 높아진다고 하였는데, OSU에서는 70%의 혈청을 첨가하여 사용하는 것이 특징이었다.

이식하기 직전의 배아를 형태학적으로 그 생명력을 정확히 구별할 수 없기 때문에 배아가 자라던 배양액내의 platelet-activating factor (PAF)의 양을 측정하면 배아의 생명력을 알 수 있다고 하였는데(O'Neil et al., 1985; O'Neil et al., 1987; Downs et al., 1975; O'Neil, 1989), OSU에서는 이러한 방법을 사용하지 않는 것이 특징이었다.

Norfolk group(Garcia et al., 1983; Shenken et al., 1983; Ferraretti et al., 1983; Collins et al., 1984)은 IVF-ET의 과배란유도시 LH surge가 억제되어 나타나지 않는다고 주장하였고, 그 결과로 많은 IVF-ET센터가 LH surge유무를 검사하지 않고 HCG로 대처하였던 것이다. 그러나 Baird를 중심으로 하는 Edinburgh대학은 이 점에 대하여 꾸준히 반박논문을 게재하여(Messinis et al., 1985; Messinis et al., 1986;

Templeton et al., 1986; Baird, 1987; Glasier et al., 1988) 소수 환자를 제외하고는 과배란유도에 의하여 결코 LH surge가 없어지는 것이 아니라고 주장하였다. 그 결과로 최근에는 많은 IVF-ET 센터에서도 이를 인정하게 되었고(Nader et al., 1986; Wang et al., 1987; Mahadevan et al., 1987; Huan et al., 1987), 드디어는 Norfolk group에서조차 과배란유도시 20%에서는 LH surge가 나타나는 것으로 인정하게 되었다(Van Uem et al., 1987; Droesch et al., 1988). Baird group(Messinis et al., 1985)에 의하면 clomiphene/HCG에 의한 과배란시에는 100%에서 LH surge가 나타나며, HMG에 의한 과배란시에는 약 85%에서 LH surge가 나타난다고 하였다. Ben-Rafael(1986)에 의하면 HMG에 의한 과배란유도시 혈중 E₂가 과반응군과 저반응군으로 나누어 지는데, HCG 투여직전 LH양상 또한 구별되어 나타나며, 전자는 증가하고 후자는 전연 증가하지 않는다고 보고하였다. Ben-Rafael 자신은 과반응군에서 나타나는 HCG 투여직전의 LH 증가를 LH surge로 표현하지는 않았으나 이는 수치상으로 분명히 LH surge인 것이다. 이로 미루어 볼때 HMG protocol에서 LH surge가 나타나고 나타나지 않는 차이는 혈중 E₂의 반응의 차이와 일치함을 알 수 있다. 따라서 Baird group의 주장과 같이 과배란유도시 85~100%에서 LH surge가 나타난다면 과배란유도시 보다 감도가 좋은 LH 측정법을 이용하여 1일 3회이상 검사함으로써 LH를 철저히 감시할 필요가 있는 것이다. 그 이유는 LH surge가 나타난 후 너무 늦게 HCG를 주사하면 채취된 난자가 수정 및 난황이 잘 안되고(Edwards, 1985; Punnonen et al., 1988), 비록 수정 및 난황이 된다 하여도 자궁내막의 부실로 임신성공이 안 되기 때문이다(Howles et al., 1986). 그러나 OSU에서는 과배란유도시 LH surge가 억제된다고 믿고 있는 것이 특징이었다.

이상 OSU 불임센터의 IVF-ET 시술과정중 특이적인 면들을 기술하였다.

다음은 정통적인 IVF-ET의 기법에서 벗어난 다소 변칙적인 것으로 생각되나 그래도 장차 이런 방향으로 개선되었으면 좋겠다는 저자 자신의 개인적인 생각을 몇가지 개진하고자 한다.

1) 배양액으로서의 양수의 이용

중기임신의 양수는 IVF-ET에서 흔히 사용하는 배양액보다 pH가 다소 높고(Dorfmann et

al., 1989), 단백질 및 포도당의 함량이 다소 낮기는 하나(Gianaroli et al., 1986), 생체내에서 정교하게 여과된 것이므로 수질의 잘못에 의하여 배양이 실패할 이유가 없고, 태아에 대한 독성이 없으며, 그 성분이 매우 일정하여 예기치 않던 불순물이 함유될 가능성이 적고, 삼투압이 비교적 일정한 것으로 알려지고 있어, 이론상으로는 IVF-ET의 배양액으로 가능성이 있는 것으로 생각된다. 실제로 Ball(1988;1989), Sueldo(1989) 및 Dorfmann(1989) 등은 중기임신의 양수를 이용하여 생쥐의 초기배아를 배양하여 좋은 성적을 얻은 바 있다. Sueldo(1988)는 양수를 이용하여 정충의 운동성을 조사한 결과, 24시간후에도 정충의 운동성이 감소되지 않는다고 하였으며 hamster egg test에서도 양수를 이용한 경우 보통 배양액과 비슷한 성적을 얻을 수 있다고 하였다. 양수를 이용한 사람의 IVF-ET에서는 Gianaroli(1986) 및 Sueldo(1988)는 좋은 성적을 얻었다고 한 반면, Dorfmann(1989)은 양수는 사람의 IVF배양액으로는 부적당하다고 하였다. Ball(1988)은 임신 35-39주의 양수보다 임신 15-19주의 양수가 생쥐 초기배아의 배양에 우수하다고 하였으나 저자의 경험으로는 만약임신환자중 진통이 있는 환자의 제왕절개시 양수를 채취하여(질식분만시 양수의 채취는 무균적 채취가 어려우며, 진통이 없는 경우는 성적이 달라짐) 이를 56°C 수조에서 45분간 비활성화 시키고 0.2 μ m의 millipore에 통과시켜 배양액으로 사용하여 좋은 성적을 얻을 수 있었다. 따라서 양수를 좀 더 개선하면 좋은 배양액으로 사용할 수 있을 것으로 생각되며 특히 배양액의 제조에 있어서 양질의 물을 구하기 어려운 병원에서는 양수를 이용하면 아주 편리할 것으로 생각된다.

2) 이식전 자궁강내 PAF의 주입

PAF는 동물 및 사람의 자궁내막(Yasuda et al., 1986; Angle et al., 1988; Kudolo & Harper, 1988; Kudolo et al., 1989; Alecozat et al., 1989), 난관(Kudolo & Harper, 1988), 및 정액(Kumar et al., 1988; Minhas et al., 1988; Harper et al., 1989)에서 발견되며, 임신초기에 난소 및 난관을 자극하여 EPF(Early Pregnancy Factor)의 분비를 촉진한다는 보고(Sueoka et al., 1988), 쥐에서 배란을 촉진한다는 보고(Abisogun et al., 1989), 사람의 정충의 운동을 촉진한다는 보고(Ricker et al., 1989), 저자의 경험에서 과

립막세포 배양시 progesterone분비를 촉진한다는 사실 및 PAF는 초기배아에서 생성분비되므로 그것이 배아의 생명력을 대변하는 물질이 될 수 있다는 보고(O'Neil, 1985; O'Neil, 1985b; O'Neil, 1985c; O'Neil, 1987; Collier et al., 1988) 등은 PAF가 동물 및 사람의 난여 생식기에서 모종의 중요한 기능을 하고 있음을 암시하는 것이다. 뿐만 아니라 Spinks(1987; 1988) 및 Acker(1988; 1989) 등은 동물실험에서 PAF길항체를 모체에 투여하면 착상이 방해됨을 보고한 바 있어, PAF는 착상시 자궁내막조직에 중요한 작용을 하는 것으로 생각할 수 있다. 따라서 PAF는 착상전 초기배아에서 합성분비되고, 그것이 자궁내막조직에 전달되어 착상할 수 있는 환경을 사전에 준비하는 것으로 이해할 수 있다. IVF-ET과정에서 자궁내막이 배아를 받아들일 수 있는 수용성의 중요성에 대해서는 너무나 많은 이야기를 해 왔지만 사실은 그 정체가 무엇인가에 대하여는 아는 바가 별로 없는 현 시점에서 PAF는 자궁내막의 배아수용성 증대에 이용할 수 있는 것으로 생각되며, 따라서 이식하기 1-2일전(1일전이 좋은가, 2일전이 좋은가는 사전에 충분한 동물실험을 해 봐야 되겠지만) PAF를 적당량 배양액에 첨가하여 이를 자궁강속에 주입하면 좋은 것으로 생각된다. 이러한 측면에서 Sher(Sher et al., 1984) 및 Bellinger(Bellinger et al., 1986) 등이 이식하기 직전 남편의 정액을 채취하여 질상부에 유치시킴으로서 이식의 효과를 증대시킨 방법은 일리가 있다고 생각된다. 왜냐하면 정액 속에는 prostaglandin이 다량 함유되어 있고 prostaglandin은 자궁내막조직에서 PAF의 합성을 촉진하는 것으로 알려져 있기 때문이다(Ben-Rafael et al., 1986; Alecozat et al., 1989).

3) 배아의 encapsulation

배아이식후 임신실패의 원인중에는 배아자체의 질적인 문제도 있겠으나 이식기법 자체에도 문제점이 많은 것이다. 즉 배아를 이식하는 매체를 배양액과 같은 액체를 사용하면 이식후 배아위치가 불안정하여 이식카테타가 통과하면서 만들어 놓은 통로를 통하여 자궁밖으로 흘러내릴 가능성이 있고, 배아가 점액이나 혈액 등에 쌓여서 착상하지 못하고 격리될 수 있고(Wood et al., 1981), 이식시 배아가 난관으로 주입되어 자궁외임신의 가능성이 5~10배나 높고(Martiner & Trounson, 1986), 그리고 이

식후 배아가 자궁강내에서 포배로 되어 착상할 때까지 모체의 백혈구 침습등을 받을 가능성이 있는 것이다(Moor et al., 1968).

이러한 관점에서 볼 때, Adaniya(1987)가 배아를 encapsulation시킨 연구는 고무적이라 할 수 있다. 즉 Adaniya(1987)는 생쥐2-세포기 배아, sodium alginate용액 및 CaCl₂용액을 이용하여 배아를 gel로 만들고, 이를 IVF-ET에서 흔히 사용하는 배양액에서 72시간 배양하여 포배가 형성되는 과정에서 대조군과 전연 차이가 없음을 관찰하였다. 뿐만 아니라 Adaniya(1987)는 이와 같은 방법으로 토끼의 초기배아를 encapsulation시킨 다음 capsule화된 배아를 토끼 자궁에 이식한 후 capsule의 용해시간을 관찰하였는데 이식후 2-6시간 후에 용해된다고 보고한 바 있다. Adaniya(1987)의 실험은 Cosby(1989)에 의해 추시되어 encapsulation은 배아에 독성이 없음이 증명되었고, 저자의 경험에서도 capsule화된 생쥐배아의 배양중 capsule내에 미세기포(배아의 호흡으로 생김)가 생겨 이것이 배아를 관찰하는데 약간의 지장을 초래할 뿐 배아성장에는 전연 독성이 없었다.

따라서 배아이식시 이식매체가 capsule화된 배아와 같이 어느 정도의 크기와 무게를 갖추게 되면 이식직후 무게에 의해서 자궁속에 우리가 원하는 위치에, 즉, 자궁저부에 안착시킬 수 있고, 자궁외임신도 방지할 수 있으며, 또한 배아이식중 온도변화와 물리적 손상등을 막을 수 있고, 이식후 모체의 백혈구 침습으로부터 보호할 수 있을 것으로 생각되어 배아의 encapsulation은 매우 도움이 될 것으로 생각된다.

4) 배양방법과 이식방법의 개선

Ahuja(1985)는 난자를 채취한 수시간 이내에 난자와 정충을 자궁강속에 주입하는 소위 IUGT(Intrauterine Gamete Transfer)를 시도하거나 혹은 전핵상태의 수정난을 자궁강속에 이식함으로써 임신성공된 예를 보고한 바 있다. 이는 자궁자체가 CO₂와 pH를 잘 조절할 수 있는 CO₂ incubator와 같은 역할과 생식세포가 자궁내막세포의 환경에서 자라므로 co-culture의 역할도 함을 알 수 있다. 그리고 저자의 경험에 의하면 독성검사에서도 독성만 없다면 어떤 종류의 가는 tube이든 20-30 μ l의 소량의 배양액으로 생쥐의 생식세포를 수정시키고 배아발육을 가능케 할 수 있었다.

이상과 같은 사실을 토대로 하였을 때, 독성이 없는 이식용 카테타에 20-30 μ l의 극소량의 배양액과 함께 난자 및 정충을 심고, 이를 처음부터 자궁강내에 6cm정도까지 삽입하여 48시간 보존시킨 다음, 48시간 후에 카테타 내용물을 자궁강속에 밀어 넣어주면 좋은 것으로 생각된다. 이런 방법으로 하면 수정후 12-16시간후 난자를 관찰하여 전핵형성 유무와 난구세포를 제거하는 조작이 없어짐으로서 다정배아(polyspermy)를 이식할 수 있는 위험과 난자 주위의 난구세포를 제거하지 못함으로서 수정에 불리할 것이라는 우려가 생길 수 있으나, 다정배아는 비록 착상된다 하더라도 그것이 생존하여 출생할 가능성이 거의 없으며, Ranoux 등(1988)에 의하면 성숙된 난자는 난구세포가 배양액에서 저절로 벗겨지게 되어 있으므로 인위적으로 난구세포를 벗길 필요가 없는 것이다.

이 방법의 장점은, (1) 자궁내막이라는 co-culture를 이용하여 수정 및 배아발달의 증대 효과를 기대할 수 있고, (2) 배아를 빛에 자주 노출시킴으로써 생길 수 있는 손상(Hirao et al., 1978; Fischer et al., 1988)을 피할 수 있는 것이다. 빛이 사람의 배아에 미치는 직접적인 영향에 관한 문헌은 말할 것도 없고, IVF-ET에 의하여 태어나서 자라는 아이들이 빛에 대하여 어떤 예민한 반응을 보이는지 어느 누구도 관심이 없으나, 사실 앞으로는 이 문제에 대해서 보다 깊이 있는 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결 론

본 논문은 저자가 1년간 OSU 불임센터에 체류할 기회가 있었기에, OSU 특이한 IVF-ET 시술과정과 OSU가 지상을 통하여 발표한 결과들을 중심으로 기술하였다.

IVF-ET에 관한 한 어느 한 분야에서도 서로 상반되는 논리가 대두하지 않는 곳이 없기 때문에 이를 처음으로 개설하고자 할 때는 외국의 어느 한 병원에서 시술하는 과정을 그대로 답습할 것이 아니라 충분한 문헌고찰을 통하여 취사선택하지 않으면 안될 것으로 사료되었다.

(OSU의 김문현선생님의 후의에 감사드립니다.)

참 고 문 헌

- Abisogun, A.O., Braquet, P. and Tsafiriri, A.: *The involvement of platelet-activating factor in ovulation. Science* 243:381, 1989.
- Acker, G., Braquet, P. and Mencia-Huerta, J. M.: *Role of platelet-activating factor(PAF) in the initiating of the decidual reaction in the rat. J. Reprod. Fertil.* 85:623, 1989.
- Acker, G., Hecquet, F., Etienne, A., Braquet, P. and Mencia-Huerta, J.M.: *Role of platelet-activating factor(PAF) in the oovimplantation in the rat; effect of the specific PAF-acether antagonist, BN 52021. Prostaglandins* 35:233, 1988.
- Acosta, A.A., Chillik, C. and Lim, H.: *Laparoscopic harvest of eggs. In: In vitro fertilization: Norfolk, Ed. Jones, H.W. Jr. Jones, G. S., Hodgen, G.C., Rosenwaks, Z. Baltimore, Williams and Wilkins, 1986, pp 52.*
- Adaniya, G.K., Rawlins, R.G., Miller, I.F. and Zaneveld, L.J.D.: *Effect of sodium alginate encapsulation on the development of preimplantation mouse embryos. J. IVF. ET.* 4:343, 1987.
- Adaniya, G.K., Rawlins, R.G. and Zaneveld, L. J.D.: *Comparison of the in vitro and in vivo degradation rates for encapsulated preimplantation embryos. Biol. Reprod.* 36(Suppl. 1):181, 1987.
- Ahuja, K.K., Smith, W., Tucker, M. and Craft, I.: *Successful pregnancies from the transfer of pronucleate embryos in an outpatient in vitro fertilization program. Fertil. Steril.* 44:181, 1985.
- Alecozat, A.A., Schenken, R.S., Hanahan, D.J., Nouchi, T., Silva, M. and Harper, M.J.K.: *Paracrine interactions between platelet-activating factor and prostaglandin E₂(PGE₂) in human luteal phase endometrial cell cultures. Endocrine Society 71th Ann. Meeting 1989 (Abst).*
- Angle, J., Byrd, W. and Johnston, J.M.: *Embryonic production of platelet-activating factor in culture. Fertil. Steril. 44th Ann. Meeting 1988(Abst.) ppS96.*

- Angle, M.J., Jones, M.A., McManus, L.M., Pinckard, R. N. and Harper, M.J.K.: *Platelet-activating factor in the rabbit uterus during early pregnancy. J. Reprod. Fertil.* 83:711, 1988.
- Awadalla, S.G., Friedman, C.I., Chin, N., Dodds, W.G., Park, J.M. and Kim, M.: *Follicular stimulation for in vitro fertilization using pituitary suppression and human menopausal gonadotropin. Fertil. Steril.* 48:811, 1987.
- Awadalla, S.G., Friedman, C.I., Schmidt, G., Chin, N. and Kim, M.: *In vitro fertilization and embryo transfer as a treatment for male factor infertility. Fertil. Steril.* 47:807, 1987.
- Ball, B.D. and Aaker, D.V.: *Human fetal cord serum vs amniotic fluid as an embryo culture medium. SSR 1989(Abst.)* pp66.
- Ball, G.D., Arneson, B.W., Aaker, D.V. and Bend, A.R.: *Human amniotic fluid as a medium for 2-cell murine embryos. SSR 1989 (Abst.)* pp76.
- Baird, D.T.: *A model for follicular selection and ovulation; Lessons from superovulation. J. Steroid Biochem.* 27:15, 1987.
- Bellinge, B.S., Copeland, C.M. and Thomas, R.D. et al.: *The influence of patient insemination on the implantation rate in an in vitro fertilization and embryo transfer program. Fert. Steril.* 46:252, 1986.
- Benadiva, C.A., Ben-Raphael, Z., Blasco, L., Tureck, R., Mastroianni, L. Jr. and Flickinger, G.L.: *An increased initial follicle-stimulating hormone/luteinizing hormone ratio does affect ovarian response and the outcomes of in vitro fertilization. Fertil. Steril.* 50:777, 1988.
- Ben-Raphael, Z., Kopt, G.S., Blasco, L., Flickinger, G.L., Tureck, R.W., Strauss, J. F. and Mastroianni, L., Jr.: *Follicular maturation parameters associated with the failure of oocyte retrieval, fertilization, and cleavage in vitro. Fertil. Steril.* 45:51, 1986.
- Ben-Rafael, Z., Straus, J.F. III, Mastroianni, L. Jr. and Flickinger, G.L.: *Differences in ovarian stimulation in human menopausal gonadotropin treated women may be related to follicle-stimulating hormone accumulation. Fertil. Steril.* 46:586, 1986.
- Berger, T., Marrs, R.P. and Moyer, D.L.: *Comparison of techniques for selection of motile spermatozoa. Fertil. Steril.* 43:268, 1985.
- Bonogso, T.A., Sathanathan, A.H., Wong, P.C., Ratnam, S.S., Ng, S.C., Anandakumar, D. and Gantra, S.: *Human fertilization by micro-injection of immotile spermatozoa. Human Reprod.* 4:175, 1989.
- Boyers, S.P. and DeCherney, A.H.: *Human in vitro fertilization and embryo transfer; An overview. Obstet. Gynecol. Year Book 1987,* pp 413.
- Boyers, S.P., Tarlatzis, B.C., Stronk, J.M. and DeCherney, A.H.: *fertilization and cleavage rates of heparin-exposed human oocytes in vitro, and the effect of heparin on the acrosome reaction. Fertil. Steril.* 48:628, 1987.
- Chetkowske, R.J., Nass, T.E., Matt, D.W., Hamilton, F., Steingold, K.A., Tandle, D., Meldrum, D.R.: *Optimization of hydrogen-ion concentration during aspiration of oocytes and culture and transfer of embryos. J. IVF. ET.* 2:207, 1985.
- Cohen, J., Simons, R.F., Edwards, R.G., Fehilly, C.B. and Fishell, S.B.: *Pregnancies following the frozen storage of expanding human blastocysts. J. IVF. ET.* 2:59, 1985.
- Collier, M., O'Neil, C., Ammit, A.J. and Saunders, D.M.: *Biochemical and pharmacological characterization of human embryo-derived platelet-activating factor. Human Reprod.* 3:993, 1988.
- Collins, R., Williams, R.F. and Hodgen, G.D.: *Endocrine consequences of prolonged ovarian hyperstimulation, hyperprolactinaemia, follicular atresia and premature luteinization. Fertil. Steril.* 40:436, 1984.
- Consumer protection issues involving in vitro fertilization clinics; Hearing before the committee on small business house of representatives. US Government Printing Office 1989.
- Cosby, N.C., Ye, L. and Dukelow, W.R.: *Development of multiple encapsulated mouse embryos in sodium alginate. Biol. Reprod.* 40(Suppl. 1):110, 1989.

- Dandekar, P.V. and Quigley, M.M.: *Laboratory setup for human in vitro fertilization. Fertil. Steril.* 42:1, 1984.
- Diamond, M.P., Webster, B.W., Garner, C.H., Vaughn, W.K., Maxson, W.S., Herbert, C. M., Osteen, K.G., Rogers, B.J. and Wentz, A.C.: *Selection of superior stimulation protocols for follicular development in a program for in vitro fertilization. Fertil. Steril.* 43: 251, 1985.
- Dodds, W.G., Chin, N., Awadall, S.G., Miller, F., Friedman, C.I. and Kim, M.: *In vitro fertilization and embryo transfer in patients with one ovary. Fertil. Steril.* 48:249, 1987.
- Dodds, W.G., Awadalla, S.G., Hixson, C., Roh, S. I., Friedman, C.I. and Kim, M.: *Atypical luteinizing hormone rise and associated fertilization failure in non-male factor in vitro fertilization patients. Obstet. Gynecol.* 73:191, 1989.
- Dorfmann, A.D., Bender, S.D., Robinson, P., Fugger, E.F., Bustillo, M., Reed, G. and Schylman, J.B.: *Cell-free human amniotic fluid as culture medium for mouse and human embryos. Fertil. Steril.* 51:671, 1989.
- Downs, S.M., Coleman, D.L., Ward-Bailey, P.F. and Eppig, J.J.: *Hypoxanthine is the principal inhibitor of murine oocyte maturation in a low molecular weight fraction of porcine follicular fluid. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:454, 1985.
- Droesch, K., Muasher, S.J., Kreiner, D., Jones, G.S., Acosta, A.A. and Rosenwaks, Z.: *Timing of oocyte retrieval in cycles with a spontaneous luteinizing hormone surge in a large in vitro fertilization program. Fertil. Steril.* 50:451, 1988.
- Droesch, K., Navot, D., Scott, R., Kreiner, D., Lin, H-C. and Rosenwaks, Z.: *Transdermal estrogen replacement in ovarian failure for ovum donation. Fertil. Steril.* 50:931, 1988.
- Edwards, R., Fishel, S., Cohen, J., Fehilly, C., Purdy, J., Slater, J., Steptoe, P. and Webster, J.: *Factors influencing the success of in vitro fertilization for alleviating human infertility. J. IVF. ET.* 1:3, 1984.
- Edwards, R.G.: *In vitro fertilization and embryo replacement. Ann. NY Acad. Sci.* 442:7, 1985.
- Ferraretti, A.P., Garcia, J.E., Acosta, A.A. and Jones, G.S.: *Serum luteinizing hormone during ovulation induction with human menopausal gonadotropin for in vitro fertilization in normally menstruating women. Fertil. Steril.* 40:742, 1983.
- Fischer, B., Schumacher, A., Hegele-Hartung, C. and Beier, H.M.: *Potential risk of light and room temperature exposure to preimplantation embryos. Fertil. Steril.* 50:938, 1988.
- Fishel, S.B., Edwards, R.G. and Purdy, J.M.: *Analysis of 25 infertile patients treated consecutively by in vitro fertilization at Bourn Hall. Fertil. Steril.* 42:191, 1984.
- Fishel, S.B., Edwards, R.G., Purdy, J.M., Steptoe, P.C., Webster, J., Walters, E., Cohen, J., Fehilly, C., Hewitt, J. and Rowland, G.: *Implantation, abortion, and birth after in vitro fertilization using the natural menstrual cycle or follicular stimulation with clomiphene citrate and human menopausal gonadotropin. J. IVF. ET.* 2:123, 1985.
- Frydman, R., Forman, R., Rainhorn, J-D., Belaisch-Allart, J., Hazout A. and Testart, J.: *A new approach to follicular stimulation for in vitro fertilization; programmed oocyte retrieval. Fertil. Steril.* 46:657, 1986.
- Frydman, R., Forman, R.G., Belaisch-Allart, J., Hazout, A. and Testart, J.: *An assessment of alternative policies for embryo transfer in an in vitro fertilization-embryo transfer program. Fertil. Steril.* 50:466, 1988.
- Fukuda, A., Noda, Y., Tsukui, S., Matsumoto, H., Yano, J. and Mori, T.: *Influence of water quality on in vitro fertilization and embryo development for the mouse. J. IVF. ET.* 4:40, 1987.
- Garcia, J., Jones, G.S., Acosta, A.A. and Wright, G.L. Jr.: *Corpus function after follicle aspiration for oocyte retrieval. Fertil. Steril.* 36: 565, 1981.
- Garcia, J.E., Jones, G.S., Acosta, A.A. and Wright, G. Jr.: *Human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin follicular maturation for oocyte aspiration: Phase I,*

1981. *Fertil. Steril.* 39:167, 1983.
- Garcia, J.E., Jones, G.S., Acosta, A.A. and Wright, G. Jr.: *Human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin follicular maturation for oocyte aspiration: Phase II, 1981. Fertil. Steril.* 39:174, 1983.
- Gianaroli, L., Seracchioli, R., Ferraretti, A.P., Trounson, A., Flamigni, C. and Bovicelli, L.: *The successful use of amniotic fluid for mouse embryo culture and human in vitro fertilization, embryo culture and transfer. Fertil. Steril.* 46:907, 1986.
- Glasier, A., Thatcher, S.S., Wickings, E.J., Hiller, S.G. and Baird, D.T.: *Superovulation with exogenous gonadotropins does not inhibit the luteinizing hormone surge. Fertil. Steril.* 49:81, 1988.
- Gould, J.E., Overstreet, J.W., Yanagimachi, H., Yanagimachi, R., Katz, D.F. and Hanson, F.W.: *What functions of the sperm cell are measured by in vitro fertilization of zona-free hamster egg? Fertil. Steril.* 40:344, 1983.
- Harper, M.J.K., Woodard, D.S. and Norris, C.J.: *Spermicidal effect of antagonists of platelet-activating factor. Fertil. Steril.* 51:890, 1989.
- Heath, J.K. and Rees, A.R.: *Growth factor in mammalian embryogenesis. Ciba Foundation Symposium 116:3, 1985.*
- Hirao, Y. and Yanagimachi, R.: *Detrimental effects of visible light on meiosis of mammalian eggs in vitro. J. Exp. Zool.* 206:365, 1978.
- Hodgen, G.D.: *Infertility, Year 2001. 2nd Annual conference for IVF Nurse-coordinators. Norfolk, VA April 1987.*
- Howles, C.M., MacNamee, M.C., Edwards, R.G., Goswamy, R. and Steptoe, P.E.: *Effect of high tonic levels of luteinizing hormone on outcome of in vitro fertilisation. Lancet* 2:521, 1986.
- Huan, K-E, Chang, S.Y., Muechler, E.K. and Graham, M.C.: *The outcome of continued treatment of luteinizing hormone-surged cycles in vitro fertilization with the use of human menopausal gonadotropin. Fertil. Steril.* 47:816, 1987.
- Jones, H.W., Jones, G.S. and Andrews, M.C.: *The program of in vitro fertilization at Norfolk. Fertil. Steril.* 38:14, 1982.
- Jones, H.W. Jr., Acosta, A.A., Andrews, M.C., Garcia, J.E., Jones, G.S., Mayer, J., McDowell, J.S., Rosenwaks, Z., Sandow, B.A., Veeck, L. and Wilkes, C.A.: *Three years on in vitro fertilization at Norfolk. Fertil. Steril.* 42:826, 1984.
- Jones, H.W. Jr.: *Embryo Transfer. Ann. NY Acad. Sci.* 442:375, 1985.
- Jones, H.W. Jr.: *Indications for in vitro fertilization. In: Jones, H.W. Jr., Jones, G.S., Hodgen, G.D., Rosenwaks, Z. Ed. In vitro Fertilization Norfolk. Baltimore, Williams and Wilkins, 1986.*
- Kruger, T.F., Van Der Merwe, J.P., Stander, F. S.H., Menkveld, R., Van Den Heever, A.D., Kopper, K., Odendaal, H.J., Van Zyl, J.A. and De Villiers, J.N.: *Results of the in vitro fertilization programme at Tyerberg Hospital, phases II and III. South Africa Med. J.* 69:297, 1986.
- Kudolo, G.B. and Harper, M.J.K.: *Binding parameters of rabbit uterine PAF-receptors: pilot study. Biol. Reprod.* 38(Suppl. 1):153, 1988.
- Kudolo, G.B. and Harper, M.J.K.: *Characterization of platelet-activating factor binding sites on uterine membranes from pregnant rabbits. Biol. Reprod.* 40(Suppl. 1):78, 1989.
- Kumar, R., Harper, M.J.K. and Hanahan, D.J.: *Occurrence of platelet-activating factor in rabbit spermatozoa. Arch. Biochem. Biophys.* 260:497, 1988.
- Laufer, N., DeCherney, A.H., Haseltine, F.P., Polan, M.L., Mezer, H.C., Dlugi, A.M., Sweeney, D., Nero, F. and Naftolin, F.: *The use of high-dose human menopausal gonadotropin in an in vitro fertilization program. Fertil. Steril.* 40:734, 1983.
- Laufer, N., DeCherney, A.H., Tarlatzis, B.C., Zuckerman, A.L., Polan, M.L., Dlugi, A.M., Graebe, R., Barnea, E.R. and Naftolin, F.: *Delaying human chorionic gonadotropin administration in human menopausal gonadotropin-induced cycles decreases successful in vitro fertilization of human oocytes. Fertil. Steril.* 42:198, 1984.
- Laufer, N., Tarlatzis, B.C. and Naftolin, F.: *In*

- vitro fertilization: State of the art. Semin. Reprod. Endocrinol.* 2:197, 1984.
- Lassalle, B., Testart, J. and Renard, J.P.: *Human embryo features that influences the success of cryopreservation with the use of 1, 2 propanediol. Fertil. Steril.* 44:645, 1985.
- Laws-King, A., Trounson, A.O., Sathananthan, H. and Kola, I.: *Fertilization of human oocytes by microinjection of a single spermatozoon under the zona pellucida. Fertil. Steril.* 48:637, 1987.
- Lopata, A.: *Concepts in human in vitro fertilization and embryo transfer. Fertil. Steril.* 40:289, 1983.
- Lutjen, P., Trounson, A., Leeton, J., Findley, J., Wood, C. and Renou, P.: *The establishment and maintenance of pregnancy using in vitro fertilisation and embryo donation in a patient with primary ovarian failure. Nature* 307:174, 1984.
- Mahadevan, M.M., Trounson, A.O. and Leeton, J.F.: *The relationship of tubal blockage, infertility of unknown cause, suspected male infertility, and endometriosis to success of in vitro fertilization and embryo transfer. Fertil. Steril.* 40:755, 1983.
- Mahadevan, M.M., Fleetham, J., Taylor, P.J., Leader, A. and Pattinson, A.H.: *The effect of the day of initiation of ovarian stimulation in the day of luteinizing hormone surge and outcome of in vitro fertilization. Fertil. Steril.* 47:976, 1987.
- Marrs, R.P., Vargyas, J.M., Gibbons, W.E., Saito, H. and Mishell, D.R.: *A modified techniques of human in vitro fertilization and embryo transfer. Am J. Obstet. Gynecol.* 147:318, 1983.
- Martiner, F. and Trounson, A.O.: *An analysis of factors associated with ectopic pregnancy in a human in vitro fertilization program. Fertil. Steril.* 45:79, 1986.
- Meldrum, D.R., Chetkowski, R., Steingold, K.A., De Ziegler, D., Cedars, M.I. and Hamilton, M.: *Evolution of a highly successful in vitro fertilization-embryo transfer program. Fertil. Steril.* 48:86, 1987.
- Messinis, I.E., Templeton, A.A. and Baird, D.T.: *Endogenous luteinizing hormone surge in women during induction of multiple follicular development with pulsatile follicle stimulating hormone. Clin. Endocrinol.* 24:193, 1986.
- Messinis, I.E., Templeton, A.A. and Baird, D.T.: *Endogenous luteinizing hormone surge during superovulation induction with sequential use of clomiphene citrate and pulsatile human menopausal gonadotropin. J. Clin. Endocrinol. Metab.* 61:1076, 1985.
- Minhas, B.S., Kumar, R., Dodson, M.G., Palmer, T.V., Harrill, J.L. and Robertson, J.L.: *The presence of platelet-activating factor (PAF)-like activity in human spermatozoa and its implications concerning male infertility. Fertil. Steril.* 44th Ann. Meeting 1988 (Abst.) pp522.
- MRI and AFS: *In vitro fertilization/embryo transfer in the United States; 1987 results from the National IVF-ET registry. Fertil. Steril.* 51:13, 1989.
- Moor, N.W., Adams, C.E. and Rowson, L.E.A.: *Development potential of single blastomeres of the rabbit egg. J. Reprod. Fertil.* 17:527, 1968.
- Mortimer, D., Curtis, E.F., Camenzind, A.R. and Tanaka, S.: *The spontaneous acrosome reaction of human spermatozoa incubated in vitro. Human Reprod.* 4:57, 1989.
- Muasher, S.J., Garcia, J.E. and Rosenwaks, Z.: *The combination of follicle-stimulating hormone and human menopausal gonadotropin for the induction of multiple follicular maturation for in vitro fertilization. Fertil. Steril.* 44:62, 1985.
- Nader, S., Berkowitz, A.S., Ochs, D., Wolf, D., PL., Maklad, N. and Held, B.: *Patterns of estradiol response in patients with endogenous gonadotropins surges during follicular recruitment in an in vitro fertilization and embryo transfer program. Fertil. Steril.* 46:448, 1986.
- Ogawa, T. and Marrs, R.P.: *The effect of protein supplementation on single-cell mouse embryo in vitro. Fertil. Steril.* 47:156, 1986.
- O'Neil, C., Pike, I.L., Porter, R.N., Gidley-Baird, A.A., Sinosich, M.J. and Saunders, D.M.: *Maternal recognitions of pregnancy prior to*

- implantation—methods for monitoring embryo viability *in vitro* and *in vivo*. *Ann NY Acad. Sci.* 442:429, 1985.
- O'Neil, C.: Examination of the cause of early pregnancy-associated thrombocytopenia in mice. *J. Reprod. Fertil.* 73:567, 1985a.
- O'Neil, C.: Partial characterization of the embryo-derived platelet-activating factor in mice. *J. Reprod. Fertil.* 75:375, 1985b.
- O'Neil, C.: Embryo-derived platelet-activating factor; a preimplantation embryo mediator of maternal recognition of pregnancy. *Domestic Anim. Endocrinol.* 4:69, 1987.
- O'Neil, C.: Thrombocytopenia is a initial response to fertilization in mice. *J. Reprod. Fertil.* 73:559, 1985c.
- O'Neil, C., Gidley-Baird, A.A., Pike, I.L. and Saunders, D.M.: Use of a bioassay for embryo-derived platelet-activating factor as a means of assessing quality and pregnancy potential of human embryos. *Fertil. Steril.* 47:969, 1987.
- O'Neil, C.: PAF: Its role in implantation. *SGI 36th Ann Meeting 1989 (Abst.) pp38.*
- Plachot, M., Madelbaum, J. and Junca, A.M.: Acrosome reaction of human sperm used for *in vitro* fertilization. *Fertil. Steril.* 42:418, 1984.
- Poindexter, A.N. III, Thompson, D.J., Gibbons, W. E., Findley, W.E., Dodson, M.G. and Young R.L.: Residual embryos in failed embryo transfer. *Fertil. Steril.* 46:262, 1986.
- Prins, G.S., Wagner, C., Weidel, L., Gianfortoni, J., Marut, E. and Scommegna, A.: Gonadotropins augment maturation and fertilization of human immature oocytes cultured *in vitro*. *Fertil. Steril.* 47:1035, 1987.
- Punnonen, R., Ashorn, R., Vilja, P., Heinonen, P.K., Kujansuu, E. and Tuohimaa, P.: Spontaneous luteinizing hormone surge and cleavage of *in vitro* fertilized embryos. *Fertil. Steril.* 49:479, 1988.
- Quigley, M.M. and Wolf, D.P.: Human *in vitro* fertilization and embryo transfer at the University of Texas, Houston. *J. IVF. ET.* 1:29, 1984.
- Ranoux, C., Aubriot, F.X., Dubuisson, J.B., Car-done, V., Foulot, H., Poirot, C. and Chevalier, O.: A new *in vitro* fertilization technique; intravaginal culture. *Fertil. Steril.* 49:654, 1988.
- Raymond, C.A.: *In vitro* fertilization enters stormy adolescence as experts debate the odds. *JAMA* 259:464, 1988.
- Renou, P., Trounson, A.O., Wood, C. and Leeton, J.F.: The collection of human oocytes for *in vitro* fertilization. I. An instrument for maximizing oocyte recovery rate. *Fertil. Steril.* 35:409, 1981.
- Rhemrev, J., Jeyendran, R.S., Vermeiden, J.P. W. and Zaneveld, L.J.D.: Human sperm selection, by glass wool filtration and two-layer discontinuous percoll gradient centrifugation. *Fertil. Steril.* 51:685, 1989.
- Ricker, D.D., Minhas, B.S., Kumar, R., Randall, G.W., Dodson, M.G., Harill, J.L. and Robertson, J.L.: The effects of platelet activating factor on the motility of human spermatozoa. *Theriogenology* 31:247 (Abst.) 1989.
- Roh, S.I., Awadalla, S.G., Friedman, C.I., Park, J.M., Chin, N., Dodds, W.G. and Kim, M.: *In vitro* fertilization and embryo transfer: Treatment-dependent versus-independent pregnancies. *Fertil. Steril.* 48:982, 1987.
- Roh, S.I., Awadalla, S.G., Dodds, W.G., Friedman, C.I., Park, J.M. and Kim, M.: *In vitro* fertilization with concurrent pelvic reconstructive surgery. *Fertil. Steril.* 49:96, 1988.
- Schroeder, A.C. and Eppig, J.J.: The developmental capacity of mouse oocytes that matured spontaneously *in vitro* is normal. *Devel. Biol.* 102:493, 1984.
- Serhal, P.F. and Craft, I.L.: Ovum donation—simplified approach. *Fertil. Steril.* 48:265, 1987.
- Sheean, L.A., Goldfarb, J.J., Kiwi, R. and Utian, W.H.: Arrest of embryo development of ultrasound coupling gels. *Fertil. Steril.* 45:568, 1986.
- Shenken, R.S. and Hodgen, G.D.: Follicle stimulating hormone induced ovarian hyperstimulation in monkeys; blockade of the luteinizing hormone surge. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 57:50, 1983.
- Sher, G., Knutzen, V., Straaton, C.J., Montakhab,

- M.M., Allenson, S.G., Mayville, J., Rubenstein, J.A., Glass, M.J. and Bilach, S.M.: *The development of a successful non-university-based ambulatory in vitro fertilization/embryo transfer program: Phase I. Fertil. Steril. 41:511, 1984.*
- Spinks, N.R. and O'Neil, C.: *Embryo-derived platelet-activating factor is essential for establishment of pregnancy in the mouse. Lancet 1:106, 1987.*
- Spinks, N.R. and O'Neil, C.: *Antagonists of embryo-derived platelet-activating factor prevent implantation in the mouse. J. Reprod. Fertil. 84:89, 1988.*
- Stephoe, P.C. and Edwards, R.G.: *Laparoscopic recovery of preovulatory human oocytes after priming of ovaries with gonadotrophins. Lancet 1:683, 1970.*
- Stephoe, P.C. and Edwards R.G.: *Birth after re-implantation of a human embryo. Lancet 2:366, 1978.*
- Sueldo, C., Montoro, L., Young, P., Kelly, E., Subias, E., Baccaro, M., Swanson, J. and Lambert, H.: *The use of amniotic fluid in in-vitro fertilization. AFS 1988 44th Ann. Meeting (Abst.) S70.*
- Sueoka, K., Dharmarajan, A.M., Miyazaki, T., Atlas, S.J. and Wallach, E.E.: *Platelet activating factor-induced early pregnancy factor activity from the perfused rabbit ovary and oviduct. Am. J. Obstet. Gynecol. 159:1580, 1988.*
- Talbot, P. and Chacon, R.S.: *Observation on the acrosome reaction of human sperm in vitro. Am. J. Primatol. 1:211, 1981.*
- Templeton, A.A., Messinis, I.E. and Baird, D.T.: *Characteristics of ovarian follicles in spontaneous and stimulated cycles in which there was an endogenous luteinizing hormone surge. Fertil. Steril. 46:1113, 1986.*
- Testart, J., Lassalle, B. and Frydman, R.: *Apparatus for the in vitro fertilization and culture of human oocytes. Fertil. Steril. 38:375, 1982.*
- Testart, J., Belaisch-Allart, J. and Frydman, R.: *Relationships between embryo transfer results and ovarian response and in vitro fertilization rate; Analysis of 186 human pregnancies. Fertil. Steril. 45:237, 1986.*
- Trounson, A.O., Mohr, L.R., Wood, C. and Leeton, J.F.: *Effect of delayed insemination of in vitro fertilization, culture and transfer of human embryos. J. Reprod. Fert. 64:285, 1982.*
- Trounson, A.O. and Morh, H.: *Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an 8-cell human embryo. Nature 305:305, 1983.*
- Trounson, A.O. and Wood, C.: *In vitro fertilization results, 1979-1982, at Monash University, Queen Victoria, and Epworth Medical Center. J. IVF. ET. 1:42, 1984.*
- Trounson, A.O.: *Factors controlling normal embryo development and implantation of human oocytes fertilized in vitro. In: Beier, H., Lindner, H. Ed. Fertilization of the human egg in vitro. Berlin, Springer-Verlag, 1984, pp 235.*
- Van Uem, JFHM, Garcia, J.E., Liu, H.C. and Rosenwaks, Z.: *Clinical aspects with regard to the occurrence of an endogenous LH surge in gonadotropin-induced normal menstrual cycles. J. IVF. ET. 3:345, 1987.*
- Vargyas, J.M., Morente, C., Shangold, G. and Marrs, R.P.: *The effect of different methods of ovarian stimulation for human in vitro fertilization and embryo replacement. Fertil. Steril. 42:745, 1984.*
- Veeck, L.L.: *Morphological estimation of mature oocytes and their preparation for insemination. In: Jones, H.W.Jr., Jones, G.S., Hodgen, G.D., Rosenwaks, Z. Ed. In vitro fertilization: Norfolk. Baltimore, Williams and Wilkins, 1986, pp81.*
- Veeck, L.L.: *Extracorporeal maturation: Norfolk 1984. Ann. NY Acad. Sci. 442:357, 1985.*
- Wang, T-A, Armant, D.R., Taymor, M.L. and Seibel, M.M.: *The influence of exogenous human chorionic gonadotropin cycles with spontaneous luteinizing hormone surges on the outcome of in vitro fertilization. Fertil. Steril. 48:613, 1987.*
- Wikland, M., Enk, L. and Hamberger, L.: *Transvesical and transvaginal approaches for the aspiration of follicles by use of ultrasound.*

Ann. NY Acad. Sci. 442:182, 1985.

Wolf, D.P., Byrd, W. Dandekar, P. and Quigley, M.M.: *Sperm concentration and the fertilization of human eggs in vitro.* *Biol. Reprod.* 31: 837, 1984.

Wood, C., Trounson, A.O., Leeton, J., Talbot, J. M., Buttery, B., Webb, J., Wood, J. and

Jessup, D.: *A clinical assessment of nine pregnancies obtained by in vitro fertilization and embryo transfer.* *Fertil. Steril.* 35:502, 1981.

Yasuda, K., Satouchi, K. and Saito, K.: *Platelet-activating factor in normal rat uterus.* *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 138:1231, 1986.