

체외수정 후 태반단백들을 이용한 초기임신의 예후 추정

충북대학교 의과대학 산부인과학교실

김 학 순

서울대학교 의과대학 산부인과학교실

문 신 용 · 장 윤 석

Prediction of The Course of Early Pregnancy after In Vitro Fertilization by Placental Proteins

Hak Soon Kim, M.D.

Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Chungbuk National University, Chongju, Korea

Shin Yong Moon, M.D. and Yoon Seok Chang, M.D.

Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea

= Abstract =

Maternal serum β -specific human chorionic gonadotropin(β -hCG) and pregnancy-specific β_1 -glycoprotein(SP₁) levels were determined more than one per week during 11-41 days post embryo transfer(ET) in 21 consecutive pregnancies after in vitro fertilization(IVF), which included 8 normal singleton pregnancies, 3 twin pregnancies, 4 clinical abortions, 1 ectopic pregnancy, and 5 pre-clinical abortions. The sensitivity of serum β -hCG and SP₁ radioimmunoassays was 3mIU/ml and 0.7ng/ml relatively. At the 7th to 8th week of gestation, ultrasonographic confirmation of fetal pole and fetal heartbeat was performed.

Both serum β -hCG and SP₁ levels showed logarithmic increase, but log[SP₁] had more steep rising curve and had wider variation than log[β -hCG] in normal singleton pregnancies. In 3 twin pregnancies and one ectopic pregnancy, both serum β -hCG and SP₁ levels located within the 95% confidence interval of the mean levels of 8 normal singleton pregnancies(normal range). In 2 clinical abortions which had a fetal pole without heartbeat, serum β -hCG level showed lower limit of the normal range or just below, but all SP₁ levels showed within the normal range. In other 2 clinical abortions which were diagnosed as blighted ovum, both serum β -hCG levels from 11 days post-ET and serum SP₁ levels from later days compared with β -hCG were below the normal range. In 5 pre-clinical abortions, serum SP₁ levels were within the normal range but serum β -hCG levels were far below the normal range.

In conclusion, both serum β -hCG and SP₁ levels increased exponentially with similar pattern in normally conceived pregnancy after IVF-ET. Both serum β -hCG and SP₁ levels could predict outcome of early pregnancy to a certain degree, but log[β -hCG] levels had more significant correla-

*본 논문의 요지는 1988년 11월 25일 대한불임학회 제 16차 학술대회에서 발표되었음.

**본 논문의 요지는 1989년 4월 2-7일 예루살렘(이스라엘)에서 열린 VI WORLD CONGRESS IN VITRO FERTILIZATION AND ALTERNATE ASSISTED RERODUCTION 학술대회에서 발표되었음.

tion with outcome of pregnancy compared with log[SP₁] levels. In addition, ultrasonographic examination of fetal poles and fetal heartbeats gives very important clinical information and prognosis.

서 론

체외수정 및 배아의 자궁내이식(이하 시험관아기 시술로 약함) 후 착상 또는 임신이 되었는지, 또 그 임신이 정상적으로 잘 지속될 것 인지예측하고 결정할 수 있는 진단방법은 매우 중요한 것이다. 시험관아기 시술 후 임신율은 과배란유도 약제의 종류(Rosenwaks et al., 1986; Kerin & Warnes, 1986) 및 센타(Blankstein et al., 1986; Medical Research International, 1989)에 따라서 9-38%로 다양하게 보고되고 있지만, 이들 임신이 모두 만삭까지 유지되어 출산되는 것은 결코 아니다. 일시적인 임신 즉 화학적 임신(chemical pregnancy)이 종종 있으며(Lopata, 1983) 자연유산의 위험성도 상당하고(Jones et al., 1983; Frydman et al., 1986; Andrews et al., 1986) 심지어 자궁외 임신 때문에(Steptoe & Edwards, 1976; Smith et al., 1982) 정상임신의 지속에 실패할 수 있다. 또 임신율을 높이기 위하여 여러개의 배아를 동시에 자궁내에 이식하므로 다태아 임신의 가능성도 높아진다(Speirs et al., 1983). 그러므로 임신이 정상적으로 유지될 수 있는가에 대한 예후를 초기에 추정하는 것은 자연주기 임신에서보다 그 의의가 훨씬 더 크다고 할 수 있을 것이다.

자연적으로 임신된 주기에 있어서 혈청내 human chorionic gonadotropin beta subunit(이하 β -hCG로 약함)를 연속적으로 측정하면 임신의 예후판단에 상당한 도움이 된다는 보고들이 많으며(Braunstein et al., 1978; Batzer et al., 1981; Bremme et al., 1983; Pittaway et al., 1985), 임신 초기에 β -hCG는 임신의 진행과 더불어 비교적 지수적으로 증가한다고 알려져 있다(Lenton et al., 1982; Pittaway et al., 1985; Fritz & Guo, 1987). 한편 시험관아기 시술 후에는 자연주기 임신에 비하여 보다 정확하게 임신주령을 알 수 있으므로(Lopata et al., 1982) 임신의 예후를 보다 확실하게 판정할 수도 있을 것이다.

그래서 시험관아기 시술 후 혈청 β -hCG(Co-fino et al., 1986) 또는 다른 임신 특이물질(Sinosich et al., 1983, 1985; Deutinger et al.,

1986)등, 여러 태반단백들을 이용하여 임신의 예후를 좀 더 일찍 정확하게 판단하고자 하는 노력이 있어왔다. 이러한 태반단백들로서는 β -hCG, pregnancy-specific β_1 -glycoprotein(이하 SP₁으로 약함), pregnancy-associated plasma protein A(이하 PAPP-A로 약함)가 대표적이다. 이에 저자들은 시험관아기 시술 후 정상임신의 진행에 따른 혈청 β -hCG와 SP₁치의 일련의 변동을 알아보고, 임신의 결과에 따른 혈청 β -hCG와 SP₁의 변동이 임신의 결과를 얼마나 잘 예측할 수 있는지 확인하고 서로간에 비교해 보며, 장차 시험관아기 시술후 성공한 임신이 정상적으로 유지될 수 있는지에 대한 예후를 임신초기에 추정할 수 있도록 하기 위하여 본 연구를 시작하였다.

대상 및 방법

연구대상은 1988년 5월부터 동년 9월사이에 서울대학교병원 산부인과 시험관아기 시술팀에 의하여 시험관아기 시술을 받고 임신한 21명의 부인을 대상으로 하였다. 대상 환자들은 불임을 주소로 서울대학교병원 산부인과 불임증 상담실에 등록된 후 불임검사 결과, 정상배란성 월경주기를 가지나 치유될 수 없는 난관질환 등으로 판명되어 시험관아기 시술의 적응증이 되는 환자들이었다. 또 이들은 임신에 성공한 후 현재 임신상태가 소멸되어 결과가 밝혀졌거나 적어도 임신 제 12주 이후의 안정된 임신상태이었다.

시험관아기 시술은 이미 발표된 장(1987)의 방법과 유사하나 다음과 같은 점이 약간 달랐다. 프로그램 시행기간중 생리주기 제 1일과 2일에 환자등록을 받고 제 3일에 혈청 난포호르몬(estradiol, 이하 E₂로 약함), 황체형성호르몬(luteinizing hormone, 이하 LH로 약함) 및 난포자극호르몬(follicle-stimulating hormone, 이하 FSH로 약함)을 측정하였으며 또한 방광이 소변으로 충만된 상태에서 복벽을 통한 초음파단층촬영(Aloka SSD 630, 3.5 MHz abdominal sector scan)을 시행하여 골반내부 생식장기 및 주변의 이상유무를 확인하였다. 여기서 이상이 없다고 판단된 환자는 FSH(Metrodin, Serono, Switzerland) 150 IU와 human menopausal

gonadotropin(Pergonal, Serono, Switzerland, 이하 hMG로 약함) 150 IU를 근주하면서 과배란유도를 시작하였다.

과배란유도 감시방법은 경질 초음파 단층촬영(Kretz Combison 310, 5-7.5MHz transvaginal sector scan)을 시행하여 난포의 성장을 확인하면서 혈청 E₂와 LH를 매일 측정하였다. 난포성장이 이루어지면 인체 응모성 성선자극호르몬(human chorionic gonadotropin) 1만 IU를 근주하고 35시간후 국소마취를 하고 Kretz Combison 310을 이용한 경질 초음파유도하에 질후벽을 통하여 난자흡인을 시행하였다.

흡인된 난자의 분류는 Veeck등(1983)의 방법을 이용하여 배란직전의 성숙난자(preovulatory oocyte), 미성숙난자(immature oocyte), 퇴화된 난자(atretic oocyte) 및 과성숙난자(post-mature oocyte)로 분류하였다. 모든 난자는 난자-난구세포 복합체(oocyte-cumulus complex)와 난포액내 과립세포(granulosa cell)의 특징을 관찰하여 결정하였다.

난자는 Ham's F-10배양액에 신생아 제대혈청 7.5%를 첨가한 수정배양액내에서 적당히 추가배양을 하고나서 미리 준비해 놓은 정자를 넣어 수정을 시켰다. 그리고 6-18시간 후에 수정이 된 난자를 15%의 제대혈청이 포함된 성장배양액으로 옮겨 40-44시간 배양을 시행하였다. 수정된 난자는 난할이 일어나 흡인 2-3일 후에 난할이 된 배아를 자궁내에 이식하였으며 황체호르몬(progesterone, 푸로게스트, 삼일제약, 이하 P로 약함) 12.5mg을 배아이식 당일부터 매일 근육주사하였다.

임신의 진단은 배아의 자궁내이식 후 제 11일째(황체기 제 14일 또는 예정생리일) 혈청 β -hCG 측정치가 10mIU/ml이상이면서 그때까지 생리가 없는 경우로 하였다. 그리고 임신이 된 경우는 혈청 β -hCG와 SP₁치를 일주일에 1회이상 측정하여 배아이식 후 제 41일(임신 제 8⁺2주)까지 계속하였으며, 그전에 유산된 경우는 임신의 종결시까지 검사하였다. 임신이 지속된 대상은 임신 제 7-8주에 초음파검사를 실시하여 임신낭과 태아 및 태아의 심박동을 확인하였으며 필요에 따라 일주일 간격으로 추적검사를 하였다.

혈청 β -hCG의 측정은 hcg beta kit(Serono Diagnostic SA, Switzerland & International)를 이용한 방사면역측정법(radioimmunoassay)으로 검사하였으며, 민감도(sensitivity)가 높은

overnight incubation 방법으로 하였다. 이 측정법의 민감도는 3mIU/ml이며 intra-assay variability는 3.1%이었고 inter-assay variability는 6.0%이었다.

혈청 SP₁의 측정은 SP₁ kit(Diagnostic Products Corporation, Los Angeles)를 이용한 double antibody 방사면역측정법으로 검사하였으며, 민감도가 높은 sequential assay방법으로 하였다. 이 측정법의 민감도는 0.7ng/ml이며 intra-assay variability는 3.4%이었고 inter-assay variability는 3.3%이었다. 대상 임신의 분류는 정상 단태임신(normal singleton pregnancy), 쌍태임신(twin pregnancy), 임상적 유산(clinical abortion), 임상전기 유산(preclinical abortion) 및 자궁외 임신(ectopic pregnancy)으로 하였다.

정상 단태임신이란 초음파검사시 한개의 임신낭과 하나의 태아가 있으며 태아의 심박동이 확인되었고, 임신의 결과로 한 아이를 분만하였거나 임신 제 12주 이후의 안정된 임신상태에 있는 것을 뜻한다. 쌍태임신이란 초음파검사시 두개의 임신낭이 확인되고 임신의 결과로 한 아이 이상 분만한 경우들이다.

임상적 유산이란 임신 제 6주 내지 12주 사이에 임상적으로 인지될만한 유산과정을 겪은 경우로써, 임신 7-8주경에 시행한 초음파검사의 소견에 따라 다시 세분하였다. 4예의 임상적 유산에는 임신낭과 태아부분이 보이나 태아 심박동이 없는 경우가 2예, blighted ovum인 경우가 2예 있었다.

임상전기 유산이란 Jones등(1983)의 기준을 참조하여, 혈청 β -hCG검사상 임신은 되었으나 난자의 흡인 및 수정 후 14일부터 28일 이내(예정 생리일부터 14일 이내, 또는 배아의 자궁내이식 후 12일부터 26일 이내)에 생리 내지는 조금 많은 양의 하혈이 나오면서 임신이 종결되고 소파술 등의 어떤 임상적인 행위가 필요 없었던 경우로 정의하였다.

혈청 β -hCG치의 배증기간(doubling time)은 앞날[day 1]의 β -hCG치가 [β -hCG 1]이고 뒷날[day 2]의 농도가 [β -hCG 2]이라고 하면, 지수를 이용한 다음 식으로 계산한 후, 그 값들의 평균과 표준편차를 다시 산출하였다.

$$\text{배증기간 (days)} = \frac{(\text{Log } 2) \times ([\text{Day } 2] - [\text{Day } 1])}{\text{Log } \frac{[\beta\text{-hCG } 2]}{[\beta\text{-hCG } 1]}}$$

결 과

1. 시험관아기 시술 후 임신의 결과

시험관아기 시술 후 성공한 21예의 임신중에서 정상 단태임신이 8예, 쌍태임신이 3예로 11예에서 정상적인 아기를 분만하였으며, 나머지 중 4예는 임상적 유산으로 종결되고 5예는 임상전기 유산으로 판명되었으며 1예는 자궁외 임신으로서 임신지속의 실패율은 47.6%이었다. 임상적 유산의 경우를 보면 태아에코가 보였으나 심박동이 없었던 경우가 2예 있었고, blighted ovum으로 판명된 경우가 2예 있었다(표 1).

2. 정상 단태임신에서 혈청 β -hCG치의 증가도

정상 단태임신의 경우에 측정된 일련의 혈청

Table 1. Classification of study population by the results of ultrasonographic examination at the 7th to 8th week of gestation

Classification	No. of patient
Normal singleton pregnancy	8(38.1%)
Twin pregnancy	3(14.3%)
Clinical abortion	4(19.0%)
Fetal echo without heartbeat	2
Blighted ovum	2
Preclinical abortion	5(23.8%)
Ectopic pregnancy	1(4.8%)
Total	21(100.0%)

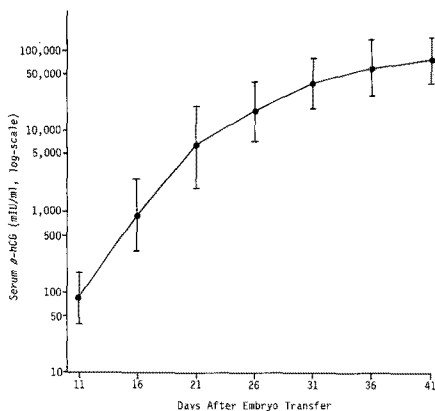


Fig. 1. Serum β -hCG levels(Mean \pm 2SD) of 8 normal singleton pregnancies after IVF.

β -hCG치의 평균치와 상하 각 2배의 표준편차를 지수함수적으로 나타내었다. 측정값을 보면 배아이식후 11일째 84mIU/ml, 16일째 900mIU/ml, 21일째 6,502mIU/ml, 26일째 17,756mIU/ml, 31일째 39,442mIU/ml, 36일째 62,169mIU/ml, 41일째 77,314mIU/ml이었다. 정상 단태임신의 경우 혈청 β -hCG치는 시간이 경과할수록 완만해지지만 비교적 지수적으로 증가하는 양상을 보였다(그림 1).

3. 정상 단태임신에서 혈청 SP₁치의 증가도

정상 단태임신의 경우에 측정된 일련의 혈청 SP₁치의 평균치와 상하 각 2배의 표준편차를 지수함수적으로 나타내었다. 측정값을 보면 배아이식후 11일째는 대부분 0을 기록하였으며, 16일째 3ng/ml, 21일째 42ng/ml, 26일째 221ng/ml, 31일째 678ng/ml, 36일째 1,520ng/ml, 41일째 2,947ng/ml이었다. 정상 단태임신의 경우 혈청 SP₁치는 혈청 β -hCG의 경우와 비슷하게 역시 지수적으로 증가하는 양상을 보여주고 있었으며 SP₁이 β -hCG보다 분산이 약간 더 넓지만 경사가 보다 급하게 증가하고 있는 것으로 나타났다(그림 2).

4. 정상 단태임신에서 혈청 β -hCG와 SP₁치의 배증기간

정상 단태임신의 경우에 혈청 β -hCG와 SP₁치의 평균치의 배증기간은 그림 1과 그림 2에서 Log[β -hCG]와 Log[SP₁]의 값이 0.301증가하는데 걸리는 시일과 동일하며 다음과 같았다. SP₁이 β -hCG보다 배증기간이 짧아서 SP₁이 좀 더 급하게 증가하는 것을 알 수 있었다(표 2).

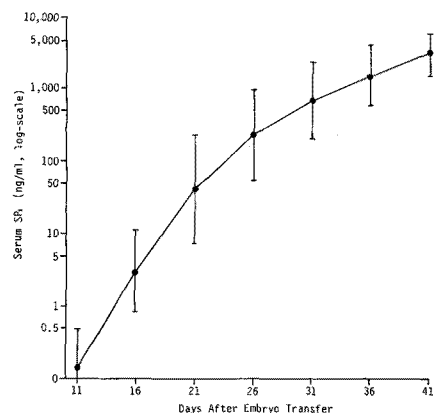


Fig. 2. Serum SP₁ levels(Mean \pm 2SD) of 8 normal singleton pregnancies after IVF.

Table 2. Doubling time(days) of the mean levels of serum β -hCG and SP₁ levels in 8 normal singleton pregnancies after IVF

Days post-ET	Doubling time(days)	
	β -hCG	SP ₁
#11-15	1.46	--
#16-20	1.75	1.30
#21-25	3.45	2.10
#26-30	4.34	3.09
#31-35	7.62	4.29
#36-40	15.90	5.23

5. 쌍태임신에서 혈청 β -hCG치의 증가도

쌍태임신의 경우에 측정된 일련의 혈청 β -hCG치의 평균치를 지수함수적으로 그림 1위에

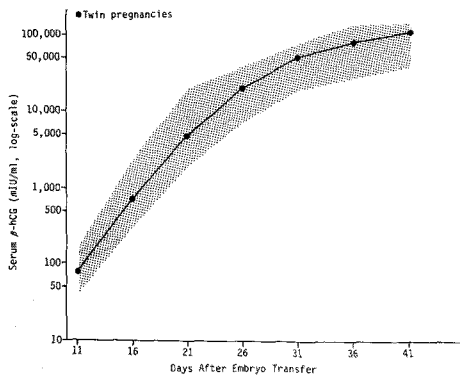


Fig. 3. The mean serum β -hCG levels of twin pregnancies after IVF. The hatched area represents the 95% confidence interval of the normal singleton pregnancies.

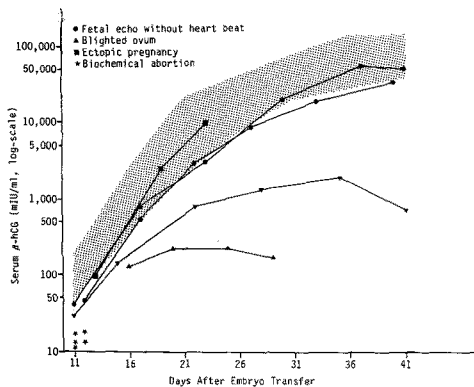


Fig. 5. Serum β -hCG levels of abortions after IVF. The hatched area represents the 95% confidence interval of the normal singleton pregnancies.

중복시켜서 나타내었다. 그림 3에서 작은 점들로 표시된 지역은 그림 1에서 나타난 정상 단태임신 β -hCG치의 95% 신뢰구간이다(이하 β -hCG의 신뢰구간으로 약함). 그림 3에서 보듯이 쌍태임신의 경우 혈청 β -hCG치의 평균치는 정상 단태임신의 범주내에 잘 합치되며 쌍태임신 3예를 각각 따로 표기해도 β -hCG의 신뢰구간 내에 모두 포함되었다(그림 3).

6. 쌍태임신에서 혈청 SP₁치의 증가도

쌍태임신의 경우에 측정된 일련의 혈청 β -hCG의 평균치를 지수함수적으로 그림 2위에 중복시켜서 나타내었다. 작은 점들로 표시된 지역은 역시 정상 단태임신 SP₁치의 95% 신뢰구간이다(이하 SP₁의 신뢰구간으로 약함.) 그림 4에서 보듯이 쌍태임신의 경우 혈청 SP₁치의

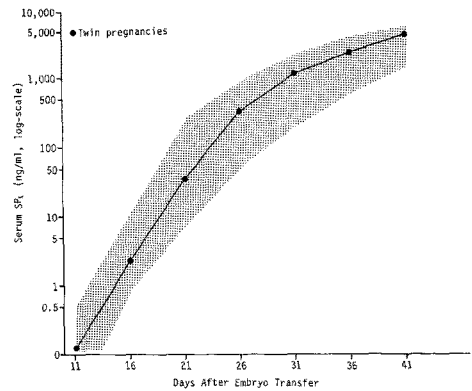


Fig. 4. The mean serum SP₁ levels of twin pregnancies after IVF. The hatched area represents the 95% confidence interval of the normal singleton pregnancies.

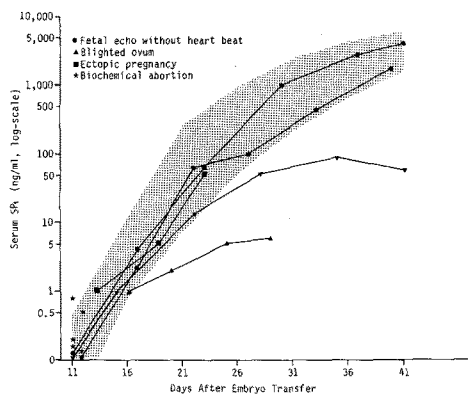


Fig. 6. Serum SP₁ levels of abortions after IVF. The hatched area represents the 95% confidence interval of the normal singleton pregnancies.

평균치는 정상 단태임신의 범주내에 잘 합치되며 쌍태임신 3예를 각각 따로 표기해도 SP₁의 신뢰구간내에 모두 포함되었다(그림 4).

7. 유산된 임신에서 혈청 β -hCG치의 증가도

임신지속에 실패한 경우들에서 측정된 각각의 혈청 β -hCG치를 그림 1위에 중복시켜서 나타내었다. 작은 점들로 표시된 지역은 β -hCG의 신뢰구간이다. 그림 5에서 보듯이 초음파 검사상 태아에코가 보이나 심박동이 없었던 임상적 유산 2예는 신뢰구간보다 약간 낮거나 아래 경계선 부위에 속하고 있었다. 이들 2예는 곧 이어 β -hCG치가 감소하였으며 소파수술을 받았다. Blighted ovum으로 판명된 2예는 처음에는 신뢰구간보다 약간 낮으면서 갈수록 현저한 차이를 나타내고 있었다. 임상전기 유산은 처음부터 신뢰구간보다 훨씬 낮았고 구분이 잘 되었다. 한편 자궁외 임신된 1예는 신뢰구간내에 속하며 전혀 구별이 되지 않았다(그림 5).

8. 유산된 임신에서 혈청 SP₁치의 증가도

임신지속에 실패한 경우들에서 측정된 각각의 혈청 SP₁치를 그림 2위에 중복시켜서 나타내었다. 작은 점들로 표시된 지역은 SP₁의 신뢰구간이다. 그림 6에서 보듯이 자궁외 임신 1예와 초음파 검사상 태아에코가 보이나 심박동이 없었던 임상적 유산 2예는 계속 신뢰구간내에 속하였으며 전혀 구별이 되지 않았다. Blighted ovum으로 판명된 2예는 처음에는 신뢰구간내에 속하여 있다가 시일이 경과하면서 신뢰구간 밑으로 떨어져 차이를 나타내었다. 임상전기 유산은 신뢰구간내에 속하였으나 SP₁치가 대부분 0으로 검출되지 않은 상태이었다(그림 6).

고 찰

Human chorionic gonadotropin(hCG)은 가장 먼저 알려진 태반단백 호르몬으로 Aschheim & Zondek(1927)에 의해 임신부의 요에서 처음 발견되었으며, 태반에서 생성되어 임신시 황체(corpus luteum)가 계속적으로 활동할 수 있도록 지지해주고 초기에 임신이 잘 유지될 수 있도록 해주는 역할을 하고 있다(Yen & Jaffe, 1986). 이것은 분자량이 36,000-40,000인 당단백 호르몬이며 생물학적 또는 면역학적으로 LH와 유사하다. 생성장소는 태반조직의

합포체성영양세포막(syncytiotrophoblast)이고(Gey et al., 1938; Midgley & Pierce, 1962), 정상임신 뿐만 아니라 포상기태나 용모상피암의 영양배엽에서도 생성되며 임신과 관계없이 발생하는 성선의 용모상피암에서도 나타난다.

다른 당단백 호르몬과 마찬가지로 hCG는 alpha와 beta의 두 subunit로 구성되어 있으며 beta subunit에 의해 hCG의 특이성이 나타나게 된다. 이 beta subunit에 있는 말단 30개의 아미노산이 LH와 다르기 때문에 검체측정시 LH와 반응하지 않는 특이한 항체를 만들 수가 있는 것이다. 자연주기 임신에서 hCG는 매우 일찍 생성되며, LH peak 9-11일 후, 즉 배란 7-9일 후 측정이 가능한데 바로 착상한 다음날에 해당된다. 이후 혈청 hCG치는 계속 증가하여 임신 제 10주경에 정점에 다다르고 그 이후는 감소하여 임신 제 12-14주부터 10,000-20,000mIU/ml로 유지된다(Speroff et al., 1989).

Pregnancy-specific β_1 -glycoprotein(SP₁)은 Tatarinov & Masyukevich(1970)에 의하여 태반과 임신부의 혈청중에서 처음 발견되었고 Bohn(1971, 1972)에 의하여 최초로 분리되었으며, Schwangerschafts-spezifisches Protein(SP₁) (Bohn, 1971), Pregnancy-associated plasma protein C(PAPP-C) (Lin et al., 1974), Pregnancy-specific β_1 -glycoprotein(PS β G) (Towler et al., 1976), Trophoblast-specific β_1 -glycoprotein(TBG) (Tatarinov, 1978)등으로 불리어져 왔다.

처음에는 SP₁은 임신에만 특이하게 관여하는 단백질이라고 생각되었으나 그후 용모성질환 및 다른 악성종양에서도 발견되었다. 또 정상 비임신여성의 혈중에서도 1.1-3.4ng/ml가 나타난다고 한다(Heikinheimo et al., 1985). SP₁은 분자량이 약 9,000dalton으로 다량의 탄수화물을 함유하는 당단백으로서 태반의 합포체성 영양세포막에서 형성되며(Tatarinov et al., 1976) 생화학적 반감기는 약 17-45시간으로 알려져 있다(Rutanen & Seppälä, 1980) 혈청 SP₁의 측정에는 보통 방사면역측정법(Gordon et al., 1977 a)과 효소면역측정법(MacDonald et al., 1979)이 있는데 둘다 특이성과 민감도가 높지만 효소면역측정법이 민감도 0.3ng/ml정도로 더욱 예민하다.

시험관아기 시술 후 배포(blastocyst)의 착상은 수정후 제 8-9일부터 시작하여, 제 12-13일

에 80%에서, 제 16-17일까지 100%에서 착상되었다고 하는데(Lopata et al., 1982), 이는 자연주기 임신보다 약간 늦어지는 것 같다. 따라서 시험관아기 시술 후 hCG는 자연주기 임신보다 늦게 나타나게 될 것이며, 실제로 Englert 등(1984)은 자연주기 임신보다 약 4일이 늦어졌다고 하였으나 아직 논란이 있다. 한편 SP₁은 자연주기 임신에서 hCG보다 약 7-8일 늦게 검출되며(Grudzinskas et al., 1977 a), 비임신여성에서도 미량 나오므로 임신한계를 2ng/ml로 정했을때 배란후 16-25일에 임신진단이 가능하다고 한다(Ho et al., 1988)

임신의 예후와 관련하여 자연주기 임신에서 β -hCG나 SP₁을 측정하여 임신지속의 예후판단에 도움이 된다는 보고가 많이 있었다. β -hCG는 임신초기 임신주수와 밀접하게 증가하며(Lenton et al., 1982; Pittaway et al., 1985; Fritz & Guo, 1987), 시험관아기 시술후 β -hCG로써 임신의 예후판정에 사용하고자 많은 노력이 있어왔다(Sinosich et al., 1983, 1985; Confino et al., 1986; Deutinger et al., 1986; 김 등, 1988; Liu et al., 1988; Yamashita et al., 1989).

SP₁도 임신주수가 증가하면서 지속적으로 증가하고(Towler et al., 1976) 임신주수와 비교적 밀접한 상관관계를 가지는 것으로 되어있다(Gordon et al., 1977 b; Tatarinov, 1978). 그래서 SP₁으로써 임신의 조기진단(Grudzinskas et al., 1977 a & b; Anthony et al., 1980) 및 임신지속가능성에 대한 예후판정을 하려는 노력이 많이 있었다(Jandial et al., 1978; Seppälä et al., 1980; Masson et al., 1983).

시험관아기 시술 후 임신을 진단하기 위하여 β -hCG를 측정하는데 시술 과정에 hCG를 다량 근주하므로 그 측정시기가 문제가 될 수 있다. 혈청 hCG는 6,000-10,000IU를 주사한 후 6-7일이면 거의 없어진다고 하며(Catt et al., 1975), 또 9일만 지나면 항상 5mIU/ml이하로 된다고 하였다(Englert et al., 1984). 따라서 본 연구에서 배아이식 후 제 11일(hCG 근주후 제 14-15일)에 혈청 β -hCG를 측정하여 10mIU/ml 이상을 임신으로 간주한 것은 무리가 없을 것으로 보인다.

시험관아기 시술 후 임신시 β -hCG는 수정후 9-10일이면 측정이 되기 시작하여 15-16일이면 100%에서 측정이 되므로 β -hCG로 초기에 임신진단이 가능한 것이다(Belaisch-Allart et al., 1983). 이때 SP₁으로 임신진단을 한다면

hCG주사의 영향을 받지 않으므로 더욱 좋을것 같으나 hCG에 비하여 초기 임신진단의 어려운 점이 있다. 그러나 특히 황체에 hCG로 황체보조를 할때는 SP₁이 유리할 것이다. SP₁은 방사면역측정법으로는 정상임신시 LH폭발(surge)후 18-23일(Grudzinskas et al., 1977 a) 또는 17-24일(Lenton et al., 1981)에 검출되며, 효소면역측정법으로는 배란후 6-14일 후면 가능하다고도 한다(Ahmed & Klopper, 1983).

시험관아기 시술 후 임신지속의 실패율이 높은 것은 모두 비슷하다. 미국 Norfolk의 Jones Institute에서는 시험관아기 시술 후 임신한 부인의 33-35%가 유산으로 종결되었고(Jones et al., 1983; Andrews et al., 1986), Frydman 등(1986)은 37%에서 임신지속에 실패하였다고 보고하였다. 본 연구에서는 좀 더 높아 47.6%가 실패하였다. 자연주기 임신에서도 실패율은 상당히 높아서 Miller 등(1980)은 착상된 후 43%에서 실패하였다고 하였으며 Edmonds 등(1982)은 61.9%의 임신이 12주 이전에 소멸되었다고 하였다. 이러한 높은 실패율은 임신을 발견하는 시점에 크게 좌우되며 임신진단의 기준과 검사의 민감도에도 영향이 있을 것이다.

임신초기 태반단백들의 생산은 태반의 양에 비례한다. 조직세포의 성장 및 분열은 어느정도 지수적으로 일어나므로 태반단백의 증가도 지수적으로 되리라고 짐작할 수 있다. 혈청 β -hCG가 지수적으로 증가한다고 하지만 그 증가율이 항상 같지만은 않아서, Pittaway 등(1985)과 Fritz & Guo(1987)에 의하면 증가율은 조금씩 둔해지는 것으로 나타났다.

본 연구에서도 정상 단태임신시 혈청 β -hCG와 SP₁치는 시일이 지나면서 완만해지지만 비교적 지수함수적으로 증가하는 것을 잘 보여주고 있었으며 SP₁이 분산이 약간 더 넓지만 좀 더 급하게 증가하고 있는 것으로 나타났다. Deutinger 등(1986)에 의하면 SP₁이 오히려 β -hCG보다 덜 급하게 상승하였다고 하는데, 실제 SP₁과 β -hCG의 증가양상은 거의 비슷하다고 볼 수 있을 것이다.

임상적으로는 임신의 예후에 배증기간이 흔히 사용되고 있는데 배증기간 역시 임신주수와 β -hCG농도의 증가에 따라 비교적 꾸준히 길어진다고 밝혀져 있다(Pittaway et al., 1985; Fritz & Guo, 1987). Pittaway 등(1985)이 정상임신의 배증기간에 대하여 보고한 것을 보면 임신 제 4-5주에서 1.5일, 임신 제 5-6주에서

2일이라고 하였으며, Daya(1987)는 임신주수에 따라 거의 일정한 지수적 증가가 있다고 하며 임신 제 6주까지 배증기간은 2.55일 이라고 하였다. 본 연구에서도 배증기간은 임신주수의 증가에 따라 길어지는 추세가 있었으며, β -hCG의 경우 임신 제 4-5주에서 1.5일, 제 5-6주에서 3일, 제 6-7주에서 5일 정도이었다. SP_1 의 경우는 배증기간이 보다 짧아서 임신 제 5-6주에서 2일, 제 6-7주에서 3-4일 정도이었다.

쌍태임신의 경우 김등(1988)의 보고에서 보면 β -hCG의 분비가 다태임신보다 약간 더 높게 나타났으며 부분적으로는 단태임신과 구별될 때도 있었지만 전체적으로는 정상 단태임신과 의미있게 구분되지는 못하였다. 본 연구에서도 쌍태임신은 β -hCG와 SP_1 의 경우 모두 정상단태임신의 범주내에 속하였다. Liu등(1988)은 단태임신의 정상범위를 정해놓았을때 다태임신의 60%가 정상범위 이상이어서 부분적으로는 구별이 가능하다고 하였으나 다태임신의 β -hCG치는 변동이 심하여 예측이 불량하다고 하였다.

자연주기 임신에서 Masson등(1983)은 임신 초기 질출혈이 있는 환자들에서 태아 생존가능 여부를 예측하는데 있어서는 β -hCG, SP_1 , PAPP-A중 SP_1 이 가장 좋아서 β -hCG보다 약간 더 낫다고 하였다. 시험관야기 시술 후에도 여러가지 임신특이 변수들을 이용하여 임신지속의 예후판정을 하고자 하는 노력이 있었다. Sinosich등(1983, 1985)의 의하면 PAPP-A가 임신후 한달이 되어야 혈중에 나타나지만 장기적인 예보적 가치가 아주 높으며 비정상적인 임신의 진단이나 위험도를 나타내주는 좋은 척도라고 하였다. 한편 Deutinger등(1986)은 P, SP_1 과 β -hCG의 비교연구에서 P는 임신의 예후판정에 거의 의미가 없었고, SP_1 은 임신의 결과와 상당히 의미있는 상관관계가 있었으나, β -hCG가 임신의 예후를 가장 잘 반영하였으며 특히 수정후 제 15-30일에 β -hCG로 예후판정을 하는 것이 가장 효과적이라고 하였다.

본 연구에서 보면 SP_1 보다는 β -hCG가 임신의 예후를 더욱 잘 반영하였으며 SP_1 은 좀더 시일이 경과하고 나서 유산될 임신을 구별할 수 있었다. 그런데 장차 유산될 임신이라 하더라도 태아에코가 있는 경우는 β -hCG나 SP_1 치가 거의 정상범위내에 속하였으며, blighted ovum인 경우는 β -hCG로는 임신 4주경부터, SP_1 으로는 임신 5-6주가 되어야 정상 단태임

신과 구별될 수 있었다. 임상전기 유산의 경우에는 β -hCG로는 확인이 될 수 있으나 SP_1 으로는 검사상 검출이 되지 않기 때문에 확인이 될 수 없을 것이다. 자궁의 임신의 경우에는 본 연구에서 β -hCG와 SP_1 모두 정상 범위내에 있었다. Sinosich등(1985)도 β -hCG나 SP_1 으로 자궁의 임신을 구분할 수 없었다고 하며 단 PAPP-A가 상당히 좋은 상관관계를 나타냈다고 하였다.

이와같이 시험관야기 시술후 혈청 β -hCG와 SP_1 치는 모두 정상임신의 지속과 더불어 지수적으로 증가하며 임신결과에 대한 예후 판정에 도움이 될 수 있을것이다. 그러나 β -hCG가 임신의 결과에 더욱 의미있고 예민한 것으로 나타났으며, 김등(1988)과 Confino등(1986)의 결과를 같이 고려하면 배아이식후 17-18일부터는 임신지속에 대한 예후판단이 가능할 것으로 보인다. 그렇지만 임신 7주경에 초음파검사를 시행하여 태아에코 및 태아심박동을 확인하는 것이 무엇보다도 중요한 임상적 예후가 될 수 있다는 점을 간과하지 말아야 될 것으로 사료된다.

결 론

체의수정 및 배아의 자궁내이식 후 임신 성공율은 약제의 종류 및 센타에 따라서 다양하지만 그렇게 높은 편은 아니다. 더구나 이들 임신이 모두 만삭까지 유지되어 출산하는 것은 결코 아니며, 일시적인 임신이나 자연유산 심지어 자궁의 임신으로도 임신지속에 실패할 수 있다. 또 여러개의 배아를 자궁내에 이식하므로 다태아 임신의 가능성도 높다. 그러므로 장차 임신이 정상적으로 유지될 수 있는가에 대한 예후를 임신초기에 추정하는 것은 큰 도움이 될 수 있을 것이다.

이에 본 연구는 혈청 β -hCG와 SP_1 의 측정이 시험관야기 시술후 성공한 임신의 예후 판정에 어떠한 의의를 갖는지를 알아보고, 또한 임신의 예후 판정에 어떻게 유용하게 쓰일 수 있는가를 확인하고자 기획하였으며, 1988년 5월부터 동년 9월까지 서울대학교병원 산부인과 시험관야기 시술팀에 의하여 시술을 받고 성공한 21예의 임신을 대상으로, 배아이식 후 제 11일부터 41일까지 주 1회이상 혈청 β -hCG와 SP_1 을 측정하고 임신의 결과와 비교 분석하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

체외수정 및 배아의 자궁내이식 후 성공한 임신에서 임신지속의 실패율은 47.6%(10/21)로서 임상적 유산이 4예, 임상전기 유산이 5예, 자궁외 임신이 1예 있었다. 임상적 유산은 임신 7-8주경에 시행한 초음파검사 결과, 태아에코가 있으나 심박동이 없는 경우 2예와 blighted ovum으로 판명된 경우 2예로 세분할 수 있었다.

체외수정 및 배아의 자궁내이식 후 임신한 정상 단태임신과 쌍태임신에서 혈청 β -hCG와 SP₁치는 비슷한 양상을 띄면서 지수함수적으로 증가하는 것을 알 수 있었다. 유산된 경우에서와 같이 혈청 β -hCG와 SP₁치는 모두 어느 정도 임신의 결과를 예측할 수 있었다. 그러나 혈청 SP₁치 보다는 혈청 β -hCG치가 임신의 결과와 더욱 의미있는 상관관계를 나타내었다. 그리고 임신 7주경에 초음파검사를 시행하여 태아에코 및 태아심박동을 확인하는 것이 무엇보다도 중요한 임상적 예후가 된다는 점을 간과하지 말아야 될 것으로 사료되었다.

인 용 문 헌

Ahmed AG, Klopper A: Diagnosis of early pregnancy by assay of placental proteins. *Br J Obstet Gynaecol* 1983, 90, 604-611.

Andrews MC, Muasher SJ, Levy DL, Jones HW Jr, Garcia JE, Rosenwaks Z, Jones GS, Acosta AA: An analysis of the obstetric outcome of 125 consecutive pregnancies conceived in vitro and resulting in 100 deliveries. *Am J Obstet Gynecol* 1986, 154, 848-854.

Anthony F, Masson GM, Wood PJ: The radioimmunoassay of a pregnancy specific- β_1 -glycoprotein in plasma as a pregnancy test for subfertile women. *Br J Obstet Gynaecol* 1980, 87, 496-500.

Aschheim S, Zondek B: Anterior pituitary hormone and ovarian hormone in the urine of pregnant women. *Klin Wochenschr* 1927, 6, 1322. Cited from Yen SSC, Jaffe RB: Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology and Clinical Management. 2nd ed, *WB Saunders Company, Philadelphia*, 1986, 758-762.

Batzer Fr, Schlaff S, Goldfarb AF, Corson SL:

Serial β -subunit human chorionic gonadotropin doubling time as a prognosticator of pregnancy outcome in an infertile population. *Fertil Steril* 1981, 35, 307-312.

Belaisch-Allart JC, Testart J, Frydman R: To the editor; Detection of plasmatic hCG following transfer of embryos conceived in vitro. *Fertil Steril* 1983, 40, 701-702.

Blankstein J, Mashiach S, Lunenfeld B: Ovulation Induction and In Vitro Fertilization. *Year Book Med Pub. Chicago* 1986, 155, 200.

Bohn H: Nachweis und Charakterisierung von Schwangerschafts-Proteinen in der menschlichen Plazenta, sowie ihre quantitative immunologische Bestimmung im Serum schwangerer Frauen. *Arch Gynäkol* 1971, 210, 440-457.

Bohn H: Isolierung und Charakterisierung des schwangerschafts-spezifischen beta₁-Glykoproteins. *Blut* 1972, 24, 292-302.

Braunstein GD, Karow WG, Gentry WC, Rasor J, Wade ME: First-trimester chorionic gonadotropin measurements as an aid in the diagnosis of early pregnancy disorders. *Am J Obstet Gynecol* 1978, 131, 25-32.

Bremme K, Eneroth P, Nord E: An Evaluation of Early Pregnancy hCG Determination as a Prognostic Tool for Fetal Outcome. *Gynecol Obstet Invest* 1983, 16, 160-171.

Catt KJ, Dufau ML, Vaitukaitis JL: Appearance of hCG in pregnancy plasma following the initiation of implantation of the blastocyst. *J Clin Endocrinol Metab* 1975, 40, 537-540.

장윤석: 체외수정에 관한 연구. 대한산부회지 1987, 30(No2, 부록), 1-76.

Confino E, Demir RH, Friberg J, Gleicher N: The predictive value of hCG β -subunit levels in pregnancies achieved by in vitro fertilization and embryo transfer: an international collaborative study. *Fertil Steril* 1986, 45, 526-531.

Daya S: Human chorionic gonadotropin increase in normal early pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1987, 156, 286-290.

Deutinger J, Neumark J, Reinthaller A, Riss P,

- Müller-Tyl E, Fischl F, Bieglmayer C, Janisch H: Pregnancy-specific parameters in early pregnancies after in vitro fertilization: predication of the course of pregnancy. *Fertil Steril* 1986, 46, 77-80.
- Edmonds DK, Lindsay KS, Miller JF, Williamson E, Wood PJ: Early embryonic mortality in women. *Fertil Steril* 1982, 38, 447-453.
- Englert Y, Roger M, Belaisch-Allart J, Jondet M, Frydman R, Testart J: Delayed appearance of plasmatic chorionic gonadotropin in pregnancies after in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 1984, 42, 835-838.
- Fritz MA, Guo S: Doubling time of human chorionic gonadotropin(hCG) in early normal pregnancy: relationship to hCG concentration and gestational age. *Fertil Steril* 1987, 47, 584-589.
- Frydman R, Belaisch-Allart J, Fries N, Hazout A, Glissant A, Testart J: An obstetric assessment of the first 100 births from the in vitro fertilization program at Clamart, France. *Am J Obstet Gynecol* 1986, 154, 550-555.
- Gey GO, Seegar GM, Hellman LM: The production of a gonadotrophic substance(Prolan) by placental cells in tissue culture. *Science* 1938, 88, 306-307.
- Gordon YB, Grudzinskas JG, Jeffery D, Chard T, Letchworth AT: Concentrations of pregnancy-specific β_1 -glycoprotein in maternal blood in normal pregnancy and in intrauterine growth retardation. *Lancet* 1977 a, 1, 331-333.
- Gordon YB, Grudzinskas JG, Lewis JD, Jeffrey D, Letchworth AT: Circulating levels of pregnancy specific β_1 -glycoprotein and human placental lactogen in the third trimester of pregnancy: their relationship on parity, birth weight and placental weight. *Br J Obstet Gynaecol* 1977 b, 84, 642-647.
- Grudzinskas JG, Lenton EA, Gordon YB, Kelso IM, Jeffrey D, Sobowale O, Chard T: Circulating levels of pregnancy-specific β_1 -glycoprotein in early pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1977 a, 84, 740-742.
- Grudzinskas JG, Gordon YB, Jeffrey D, Chard T: Specific and sensitive determination of pregnancy-specific β_1 -glycoprotein by radioimmunoassay. *Lancet* 1977 b, 1, 333-335.
- Heikinheimo M, Wahlström T, Lehto VP, Steenman UH: Evidence for the presence of oncoplental SP1-like protein in normal non-pregnant serum. *J Clin Endocrinol Metab* 1985, 61, 188-191.
- Ho PC, Chan SYW, Tang GWK: Diagnosis of early pregnancy by enzyme immunoassay of Schwangerschafts-protein 1. *Fertil Steril* 1988, 49, 76-80.
- Jandial V, Towler CM, Horne CHW, Abramovich DR: Plasma pregnancy-specific β_1 -glycoprotein in complications of early pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1978, 85, 832-836.
- Jones HW Jr, Acosta AA, Andrews MC, Garcia JE, Jones GS, Mantzavinos T, McDowell J, Sandow BA, Veeck L, Whibley TW, Wilkes CA, Wright GL Jr: What is a pregnancy? A question for programs of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1983, 40, 728-733.
- Kerin JF, Warnes GM: Monitoring of Ovarian Response to Stimulation in In-Vitro Fertilization Cycles. *Clin Obstet Gynecol* 1986, 29, 158-170.
- 김학순, 문신용, 장윤석: 인간난자의 체외수정 및 배아의 자궁내 이식 후 β_1 -hCG에 의한 임신예후 판정에 관한 연구. *대한산부회지* 1988, 31, 795-804.
- Lenton EA, Grudzinskas JG, Gordon YB, Chard T, Cooke ID: Pregnancy specific β_1 -glycoprotein and chorionic gonadotrophin in early human pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1981, 60, 489-492.
- Lenton EA, Neal LM, Sulaiman R: Plasma concentrations of human chorionic gonadotropin from the time of implantation until the second week of pregnancy. *Fertil Steril* 1982, 37, 773-778.
- Lin TM, Halbert SP, Kiefer D, Spellacy WN, Gall S: Characterization of four human pregnancy-associated plasma proteins. *Am*

- J Obstet Gynecol* 1974, 118, 223-236.
- Liu HC, Jones G, Kreiner D, Jones H Jr, Muasher SJ, Rosenwaks Z: β -human chorionic gonadotropin as a monitor on pregnancy outcome in in vitro fertilization-embryo transfer patients. *Fertil Steril* 1988, 50, 89-94.
- Lopata A, Martin M, Oliva K, Johnston I: Embryonic development and blastocyst implantation following in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 1982, 38, 682-687
- Lpata A: Concepts in human in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 1983, 40, 289-301.
- MacDonald DJ, Belfield A, Steele CJ, Mack DS, Shah MM: The quantitation of pregnancy specific beta₁-glycoprotein by enzyme linked immunoassay. *Clin Chim Acta* 1979, 94, 41-49.
- Masson GM, Anthony F, Wilson MS, Lindsay K: Comparison of Serum and Urine hCG Levels with SP₁ and PAPP-A Levels in Patients With First-Trimester Vaginal Bleeding. *Obstet Gynecol* 1983, 61, 223-226.
- Medical Research International and the Society of Assisted Reproductive Technology, The American Fertility Society: In vitro fertilization/embryo transfer in the United States: 1987 results from the National IVF-ET Registry. *Fertil Steril* 1989, 51, 13-19.
- Midgley AR Jr, Pierce GB Jr: Immunohistochemical localization of human chorionic gonadotropin. *J Exp Med* 1962, 115, 289-294.
- Miller JF, Williamson E, Glue J, Gordon YB, Grudzinskas JG, Sykes A: Fetal loss after implantation: A prospective study. *Lancet* 1980, 2, 554-556.
- Pittaway DE, Reish RL, Wentz AC: Doubling times of human chorionic gonadotropin increase in early viable intrauterine pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1985, 152, 299-302.
- Pittaway DE, Wentz AC, Maxson WS, Herbert C, Daniell J, Fleischer AC: The efficacy of early pregnancy monitoring with serial chorionic gonadotropin determinations and real-time sonography in an infertile population. *Fertil Steril* 1985, 44, 190-194.
- Rosenwaks Z, Muasher SJ, Acosta AA: Use of hMG and/or FSH for Multiple Follicle Development. *Clin Obstet Gynecol* 1986, 29, 148-157.
- Rutanen EM, Seppälä M: Pregnancy specific beta₁-glycoprotein in trophoblastic disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1980, 50, 57-61.
- Seppälä M, Venesmaa P, Rutanen EM: Pregnancy-specific beta-1 glycoprotein in ectopic pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1980, 136, 189-193.
- Sinosich MJ, Smith DH, Grudzinskas JG, Saunders DM, Westergaard JG, Teisner B: The prediction of pregnancy failure by measurement of pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) following in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 1983, 40, 539-541.
- Sinosich MJ, Ferrier A, Saunders DM: Monitoring of post-implantation embryo viability following successful in vitro fertilization and embryo transfer by measurement of placental proteins. *Fertil Steril* 1985, 44, 70-74.
- Smith DH, Pike I, Tucker M, Sinosich MJ, Kemp JF, Picker RH, Saunders DM: Tubal pregnancy occurring after successful in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 1982, 38, 105-106.
- Speroff L, Glass RH, Kase NG: Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. 4th ed, Williams & Wilkins. Baltimore, 1989, 329-332.
- Speirs AL, Lopata A, Gronow MJ, Kellow GN, Johnston WIH: Analysis of the benefits and risks of multiple embryo transfer. *Fertil Steril* 1983, 39, 468-471.
- Steptoe PC, Edwards RG: Reimplantation of a human embryo with subsequent tubal pregnancy. *Lancet* 1976, 1, 880-882.
- Tatarinov YS, Masyukevich VN: Immunological identification of a new beta₁-globulin in the blood serum of a pregnant woman. *Byull eksp Biol Med (USSR)* 1970, 69:66-68.

- Cited from Tatarinov YS: Trophoblast Specific Beta₁-Glycoprotein as a Marker for Pregnancy and Malignancies. *Gynecol Obstet Invest* 1978, 9, 65-97.
- Tatarinov YS, Falaleeva DM, Kalashnikov VV, Toloknov BO: Immunofluorescent localisation of human pregnancy-specific β -globulin in placenta and chorioepithelioma. *Nature* 1976, 260, 263.
- Tatarinov YS: Trophoblast Specific Beta₁-Glycoprotein as a Marker for Pregnancy and Malignancies. *Gynecol Obstet Invest* 1978, 9, 65-97.
- Towler CM, Jandial V, Horne CHW, Bohn H: A serial study of pregnancy proteins in primigravidae. *Br J Obstet Gynaecol* 1976, 83, 368-374.
- Veck LL, Wortham JWE Jr, Witmyer J, Sandow BA, Acosta AA, Garcia JE, Jones GS, Jones HW Jr: Maturation and fertilization of morphologically immature human oocytes in a program of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1983, 39, 594-602.
- Yamashita T, MacLachlan V, Okamoto S, Healy DL, Thomas A: Predicting pregnancy outcome after in vitro fertilization and embryo transfer using estradiol, progesterone, and human chorionic gonadotropin β -subunit. *Fertil Steril* 1989, 51, 304-309.
- Yen SSC, Jaffe RB: Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology and Clinical Management. 2nd ed, *WB Saunders Company, Philadelphia*, 1986, 758-762.
-