Poor responder 환자에서 Clomiphene Citrate 주기와 Controlled Ovarian Hyperstimulation 주기의 체외수정 결과 비교

성균관 대학교 의과대학 삼성제일병원 산부인과

송지홍 · 궁미경

Ji Hong Song, M.D., Mi Kyoung Koong, M.D.

Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Sungkyunkwan University, Samsung Cheil Hospital & Women's Healthcare Center, Seoul, Korea

= Abstract =

Efficacy of clomiphene citrate stimulated cycle in poor responders in in vitro fertilization

The purpose of this study is compare IVF cycle outcome in poor responders between clomiphene citrate (CC) stimulated and controlled ovarian hyperstimulation (COH) protocol. A total of 94 patients responding poorly in previous IVF cycles (estradiol < 600 pg/ml or less than 3 oocytes retrieved) subsequently underwent either COH (COH group: 122 cycles, 68 patients) or CC-stimulated cycles (CC group: 43 cycles, 26 patients). CC was administered for five consecutive days starting on cycle day 3 at a dose of 100 mg daily. Serial transvaginal ultrasound examination was done from cycle day 8. Urine was collected 3-4 times before hCG injection for the detection of LH surge. The hCG

was administered when serum estradiol reached greater than 150 pg/ml and mean follicle diameter > 16 mm. In CCH group, ovarian stimulation was done using short protocol (GnRH-a/FSH/HMG/hCG). No difference in age or number of transferred embryos was found between CC group and CCH group. CCH group had significantly ($p<0.05$) higher mean peak level of E_2 (810 ± 112 vs 412 ± 55 pg/ml) and greater number of retrieved oocytes (3.0 ± 0.2 vs 2.0 ± 0.2) than CC group. CC group had transferred embryos (1.8 ± 0.2) compared with (2.1 ± 0.2) in CCH group. However, CC group had higher pregnancy rate than CCH group per retrieval [26.9% (7/26) vs 6.2% (6/97)], or per transfer [31.8% (7/22) vs 7% (6/86)]. Although cycle cancellation rate in CC group (48.8%) was higher than that of CCH group (21.3%), the pregnancy rate per cycle in CC group was still higher (16.3%) than CCH group (4.9%). In addition, implantation rate in CC group was 17.5% (7/40), which was significantly ($p<0.01$) higher than 3.9% (7/180) in CCH group. These data suggest that oocyte and embryo quality are lower in CCH cycles of poor responders than CC cycles. We suggest that clomiphene citrate stimulated IVF cycle may be more efficient than CCH IVF cycle in poor responders in terms of lower costs and higher pregnancy performance.
Key Words: Poor responder, IVF-ET, Clomiphene citrate, Controlled ovarian hyperstimulation.

서론

1987년 체외수정시술로 첫 번째 아기가 분만된 이후로, 체외수정 시에는 다수의 난자를 얻기 위한 목적으로 성선자극 호르몬과 GnRH agonist를 병용 투여하는 과배란 유도법이 널리 사용되고 있다. 그러나 poor responder인

경우에는 다량의 약제를 사용하여도 난포가 잘 자라지 않으며 (Jenkins et al, 1991), 다량의 약제사용으로 인한 고비용과 환자의 불편함, 고농도의 혈중 에스트로겐 때문에 혈중 프로제스테론과 불균형을 초래하여 배아착상을 방해하기도 한다 (Gidleg Baird et al, 1986). 지금까지 poor responder의 치료를 위하여 여러 방법이 소개되었으나, 아직까지는 시작주기당 취소율이 높고, 또한 낮은 임신율을 보이고 있다 (Karande et al, 1996; Dor et al, 1995). 여러 저자들이 체외수정시술에 clomiphene citrate (CC)를 이용한 방법을 보고하였으나, poor responder에서의 CC의 잇점에 관해서는 소개되지 않았다. 본 연구는 poor responder로 판명된 환자에서 체외수정시 좀더 효용성 있는 배란유도를 하기 위해 controlled ovarian hyperstimulation (COH)주기와 clomiphene Citrate 주기의 임신율 및 착상율을 비교해 보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상

본 연구는 1994년 1 월부터 1997년 6월까지 삼성제일병원 불임클리닉에 내원한 환자중 110명의 poor responder 환자 224 주기를 대상으로 하였다. 대상환자는 난관요인, 복막유착, 원인불명인자, 자궁내막증 및 남성요인에 의한 불임환자였다. Poor responders 의 정의는 hCG injection 당일의 estradiol (E_2) 값이 600 pg/ml 이하이거나 과배란유도 주기에서 채취한 난자수가 3개 이하인 군으로 정의하였다. 이러한 poor responder 중 과배란유도에 실패한 68명의 환자 122주기는 다음 주기에서도 계속 과배란유도를 하였으며, 26명의 43주기 환자에서는 CC주기를 시행하였다. 대상환자들은 모두 월경주기 2일째 기본적인 질식초음파 검사와 혈청 E_2, LH, FSH를 측정하였고, 초음파에서 난소낭종이 3Cm 이상이거나 E_2 level이 50 pg/ml 이상이면

배란유도를 하지 않았다.

2. 연구방법

CC 주기에서 배란유도 방법은 월경주기 3일째부터 7일째까지 5일간 100 mg 씩 CC를 경구 투여하였고, 8일째부터 E_2와 함께 질식초음파를 실시하고 우성 난포 크기가 14mm 이상이면 매일 urine LH를 측정하였다. 직경이 16 mm 이상인 난포가 관찰되면 최종 난포 성숙을 위하여 hCG 10,000 IU를 근주하였다. 난자 채취 전에 urine LH가 양성으로 나오면 그 주기를 취소시켰다. 과배란유도 방법은 GnRH-a 병합한 short protocol로 시도하였다. 즉 월경주기 2일째부터 GnRH-a인 superfact 0.5mg을 피하주사하고, 월경주기 3일째부터 FSH 단독 혹은 FSH와 HMG를 병용 투여하였다. 질식초음파상 적어도 3개이상의 난포가 평균 지름 16mm에 도달하면 E_2 치를 고려하여 hCG를 10,000 IU를 근주하였고, hCG투여 34시간 후에 질식초음파를 이용하여 난자를 흡입하였다. 획득된 난자는 준비된 정자와 수정시킨 후 수정여부를 역반사 현미경으로 관찰하였고, 수정 42-48시간 후에 난할을 관찰하였다. 난활이 확인된 배아는 자궁내 이식을 시행하였다. 배아이식후 질식초음파 검사로 자궁내 태낭이 관찰된 경우에 임신으로 판정하였다.

통계처리는 chi-square test와 Student's t-test를 사용하였으며 유의 수준을 $p<0.05$인 경우 양군 사이에 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

결과

1. 대상환자의 특성

COH군과 CC주기군 환자의 평균 나이는 각각 36.2 (±0.8)세, 37.3 (±0.4)세로 유의한 차이가 없었고 ($p=0.95$, t-test), 이식한 배아수에서도 2.1±0.2, 1.8±0.2로 차이가 없었다. CC주기에서 LH surge가 발견된 경우는 26% (11/43)로 시작 주기당 취소율이 높았다. COH군과 CC주기군에서의 hCG

투여일 평균 E_2는 각각 810±112, 412±55pg/ml이었고, 성공한 주기에서의 채취한 평균난자수는 각각 3.0±0.2, 2.0±0.2로 유의한 차이를 보였다 ($p<0.05$, t-test)(Table 1).

2. 체외수정 결과에 따른 비교

COH군과 CC군에서의 주기당 임신율은 각각 6.2% (6/97), 26.9% (7/26)이었고, 배아이식 당 임신율은 각각 7% (6/86), 31.8% (7/22)로 COH군에 비해 CC군이 높았으며, 배아이식 당 착상율은 각각 3.9% (7/180), 17.5% (7/40)로 CC군에서 통계적으로 의의 있게 높은 것으로 나타났다 ($p<0.01$, chi-square test). 따라서 poor responder에서 CC주기는 COH주기에 비해 주기당 난자 채취 및 이식율은 다소 낮았으나, 주기당 및 배아이식당 임신율, 배아이식당 착상율은 통계적으로 의의 있게 높은 것으로 나타났다 (Table 2).

또한 CC주기군에서의 임신군과 비임신군을 비교해 볼 때, 나이는 임신군에서 다소 젊었으나 통계적 의의는 없었고, 난자채취수와 배아 이식수에서는 임신군이 통계적 의의 있게 높았다 ($t<0.05$, t-test)(Table 3).

Table 1. Characteristics of CC versus COH cycle

	CC	COH	p-value
No. of cycles	43	122	
Age	37.3±0.8*	36.2±0.4	NS
E_2 on hCG day (pg/ml)	412±55	810±112	$p<0.05$
Spontaneous LH surge	11 (26%)	2 (1.6%)	
No. retrieved oocytes	2.0±0.2	3.0±0.2	$p<0.05$
No. of good embryo	1.4±0.1	1.8±0.2	NS
No. transferred embryos	1.8±0.2	2.1±0.2	NS

* Values are mean ± SEM
NS : not significant

Table 2. Comparison of cycle outcome

	CC n (%)	CCH n (%)	p-value
No. of cycle started	43	122	
Cancellation of COPU	17 (40)	25 (20)	NS
No. of ET cycle	22 (51)	86 (70)	NS
PR per cycle started	7/43 (16.3)	6/122 (4.9)	<0.05
PR per retrieval	7/26 (26.9)	6/97 (6.2)	<0.01
PR per transfer	7/22 (31.8)	6/86 (7.0)	<0.01
Implantation rate	7/40 (17.5)	7/180 (3.9)	<0.01

PR : pregnancy rate

Table 3. Response to clomiphene citrate stimulation in pregnant and nonpregnant cycles

	Pregnant (n=7)	Not pregnant (n=36)
Age	35.2 ±0.49	36.8 ±0.76
No. of oocyte retrieval	2.0* ±0.35	1.13 ±0.17
No. of transferred embryos	1.89* ±0.19	0.8 ±0.14

Values are mean ± SEM

* $p<0.05$

고 찰

자연배란주기를 이용한 체외수정시술이 1978년 처음 성공한 이래 체외수정시술시 난자채취율을 증가시키고 임신율을 높이기 위하여 과배란유도 방법이 연구되어 왔다. poor responder를 치료하기 위한 여러 방법이 시도되었으나 상대적으로 낮은 임신율을 보이고 있다. 이는 낮은 follicular recruitment와 난자 채취율이 낮고 (Sathanandan et al, 1989) 수정율과 cleavage rate도 떨어지기 때문이다 (Rysselberge et al, 1989). 체외수정시술시 2배 용량의 hMG를 사용하거나 (Van-Hooff et al, 1993), long (Dor et al, 1992), short (Karande et al, 1996; Tasdermir et al, 1996), ultrashort (Serafini et al, 1988) protocol에서 GnRH-a를 증량하거나, GnRH-a용량을 줄여보거나, 성장호르몬을 동시에 투여하는 여러 치료방법이 시도되었으나, 뚜렷이 좋은 효과는 보이지 않고 있다 (McKenna et al, 1989). Poor responder에서 가장 이상적인 ovarian stimulation protocol은 아직 명확하지 않은 상태이나, 심리적, 생리적, 경제적 측면에서 hMG를 증가시키면 (Jenkins et al, 1991) 그에 따라 난자채취율과 임신율도 향상되는 면을 고려해야 되겠고, assisted hatching이 도움을 줄 수도 있겠으나 (Cohen et al, 1992; Schoolcraft et al, 1994) embryo damage를 줄 수도 있다는 것을 고려해야겠다. 그런 면에서 임신율을 향상시킬수 있는 protocol은 poor responder에게는 많은 도움을 줄 수 있겠다. 많은 저자들이 CC를 이용한 자연주기 체외수정에 관한 보고 (Stenkampf et al, 1992; Hoult et al, 1992; Kellow et al, 1981)를 하였으며, 또한 자연주기를 이용한 체외수정에 관한 많은 보고를 하였으나 (Lindheim et al, 1997; Seibel et al, 1995; Daya et al, 1995; Hoult et al, 1992) poor responder에서 자연주기법을 적용시킨 보고로는, Lindheim이 poor responder에서 자연주기법이 난소의 과배란유도에 도움이 된다고 보고하였다 (Lindheim et al, 1997).

본 연구는 poor responder군에서 자연주기법의 효과를 이용하면서, 취소율을 줄이기 위해서 clomiphene citrate를 이용하였는데, clomiphene citrate 주기군에서의 체외수정시술이 과배란 유도방법보다 E_2 치와 난자 채취율, 이식한 배아수 등에서 낮은 경향을 보이고, 주기당 취소율이 높았으나, 주기당임신율, 배아이식당 임신율, 배아이식당 착상율은 통계적으로 의미 있게 높았다. 이상의 결과로 과배란유도 주기에서 난자와 수정란의 질의 저하를 예상할 수 있으며, 과배란주기가 착상율이 떨어지는 점으로 보아 endometrial receptivity가 떨어짐을 예상할 수 있겠다.

CC군에서 임신된 경우 비임신군보다 나이가 젊었으며 채취한 난자수와 배아이식수는 통계적 의미 있게 높았다. 이는 다른 관찰자에서도 비슷한 결과를 보였다 (Stenkampf et al, 1992; Seibel et al, 1995).

결론적으로 poor responder 군에서 CC주기는 고비용, 장시간의 소요 등으로 긴장을 초래하는 과배란유도를 하기전에 시행하기에 타당성이 있는 것으로 사료된다.

결론

본 연구는 1994년 1 월부터 1997년 6월까지 삼성제일병원 불임클리닉에 내원한 환자중 110명의 poor responder환자 224 주기를 대상으로 하였다. poor responders 의 정의는 hCG injection 당일의 E_2 값이 600 pg/ml 이하이거나 과배란유도 주기에서 채취한 난자수가 3개이하인 군으로 정의하였다. 이러한 poor responder 중 과배란유도에 실패한 68명의 환자 122주기는 다음 주기에서도 계속 과배란유도를 하였으며, 26명의 43주기 환자에서는 CC 주기를 시행하였여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. CCH군과 CC주기군 환자의 평균 나이는 각각 36.2세, 37.3세로 유의한 차이가 없었고, 이식한 배아수에서도 2.1 ± 0.2, 1.8 ± 0.2로 차이가 없었다.

2. CC주기에서 LH surge가 발견된 경우는 26% (11/43)로 시작 주기당 취소율이 높았다.

3. COH군과 CC주기군에서의 hCG 투여일 평균 E_2는 810±112, 412±55pg/ml이었고, 성공한 주기에서의 채취한 평균난자수는 각각 3.0±0.2, 2.0±0.2로 유의한 차이를 보였다.

4. COH 군과 CC 군에서의 주기당 임신율은 각각 6.2% (6/97), 26.9% (7/26)이었고, 배아이식 당 임신율은 각각 7%(6/86), 31.8%(7/22)로 COH군에 비해 CC군이 높았다.

5. 배아이식 당 착상율은 각각 3.9% (7/180), 17.5% (7/40)로 CC군에서 통계적으로 의의 있게 높은 것으로 나타났다.

6. CC 주기군에서의 임신군과 비임신군을 비교해 볼 때, 나이는 임신군에서 다소 젊었으나 통계적 의의는 없었고, 난자채취수와 배아 이식수에서는 임신군이 통계적 의의 있게 높았다.

본 연구 결과로 볼 때, poor ovarian responder인 경우에는 COH 주기보다 CC 주기로 배란유도 하는 것이 더 높은 착상율을 가지므로, 적절한 환자의 선택을 통하면 clomiphene citrate를 이용한 배란유도 방법이 임상적으로 유용할 것으로 사료된다.

인용문헌

Cohen J, Alikani M, Trowbridge J, Rosenwaks Z: Implantation enhancement by selective assisted hatching using zona drilling of human embryos with poor prognosis. Hum Reprod 1992, 7, 685-691.

Daya S, Gunby J, Hughes EG, Collins JA, Sagle MA, YoungLai EV Natural cycles in vitro fertilization: Cost effectiveness analysis and factors influencing out come. Hum Reprod 1995, 10, 1719-1714.

Dor J, Seidman DS, Amudai E, Bider D, Levran D, Mashiach S: Adjuvant growth hormone therapy in poor responders to invitro fertilization: A prospective randomized placebo-controlled double blind study. Hum Reprod 1995, 10, 40-43.

Hoult IJ, de Crespigny LC, O'Herlithy C, Speirs AL, Lopata A, Paulson RJ, Sauer MV, Frances MM, Macaso TM, Lobo RA: In vitro fertilization in unstimulated cycles: The University of Southern California experience. Fertil Steril 1992, 57, 290-293.

Jenkins JM, Davies DW, Devonport H, Anthony FW, Gadd SC, Watson RH, Masson GM: Comparison of poor responders with good responders using standard buserelin/human menopausal gonadotropin regime for in vitro fertilization. Human Reprod 1991, 6, 918-921.

Gidley-Baird AA, O'neil LC, Simosich M, Porter RN, Pik IL, Saunders DM Failure of implantation in human in vitro fertilization and embryo transfer patients: the effects of altered progesterone/estradiol ratios in human and mice. Fertil Steril 1986, 45, 69-74.

Karande VC, Rinehatt J, Miller EC, Prett DE, Morris R, Levrant S, Rao Balin M, Bricksin M, Gleicher N: The value of stimulation poor responders using flare protocol in cycles with low basal FSH concentrations during IVF. 12th Annual Meeting of the EHSRE, Maastricht, Belgium. Hum Reprod 1996, 11, 200.

Kellow G, johnstone I, Robinson HP: Ultrasound control of clomiphene/human chorionic gonadotrophin stimulated cycles for oocyte recovery and in vitro fertilization. Fertil Steril 1981, 36, 316-319.

Lindheim SR, Vidali A, Ditkoff E, Sauer MV: Poor responders to ovarian hyperstimulation may benefit from an attempt at natural-cycle oocyte retrieval. J Reprod Med 1997, 14, 174-176.

McKenna KM, Foster P, McBain J, Martin M, Johnston WI: Combined treatment with gonadotropin releasing hormone agonist and gonadotrophins in poor responders hyperstimulation for in vitro fertilization: Clinical and endocrine results. Aust NZ J Obstet Gynecol 1989, 29, 428-432.

Rysselberge M, Puissant f, Barlow P, Lejeune B, Delvigne A, Leroy F: Fertility prognosis in IVF treatment of patients with cancelled cycles. Hum Reprod 1989, 4, 663-666.

Sathanandan M, Warners GM, Kirby CA, Petrucco OM, Matthews CD: Adjuvant leuprolide in normal, abnormal, and poor responders to controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization/gamete intrafallopian transfer. Fertil Steril 1989, 6, 998-1006.

Schoolcraft WB, Schlenker T, Gee M, Jones GS, Jones HW: Assisted hatching in the treatment of poor prognosis in vitro fertilization candidates. Fertil Steril 1994, 62, 551-554.

Seibel MM, Kearman M, Kiessling A: Parameters that predict success for natural cycle in vitro fertilization-ET. Fertil Steril 1995, 63, 1251-1254.

Serafini P, Stone B, Kerin J, Batzofin J, Quinn P, Marrs RP: An alternative approach to controlled ovarian hyperstimulation in Poor responders : pre-treatment with gonadotrophin releasing hormone analogue. Fetil Steril 1998, 49, 90-95.

Stenkampf MP, Kretzer PA, McElroy E, Conway-Myers BA: A simplified approach to in vitro fertilization. J Reprod Med 1992, 37, 199-204.

Tasdermir M, Tasdermir I, Kodama H, Fukuda J, Tanaka T: Short protocol of gonadotropin releasing hormone agonist administration gave better results in long protocol poor responders in IVF-ET. J Obstet Gynecol Res 1996, 1, 73-77.

Van-Hooff NH, Alberda AT, Hursman GJ, Zeilmaker GH, Leerentveld RA: Doubling the human menopausal gonadotropin dose in the course of an IVF treatment cycle in low-responders in in vitro fertilization treatment. J Assist Reprod Genet 1992, 9, 228-232.