

## 체외수정시술을 위한 과배란유도시 **Highly Purified Follicle Stimulating Hormone (HP-FSH)** 피하주사와 **Follicle Stimulating Hormone** 근육주사의 비교연구

연세대학교 의과대학 산부인과학교실

배상욱 · 김진영 · 원종건 · 정창진 · 장경환 · 이병석 · 박기현 · 조동제 · 송찬호

### **Subcutaneous Administration of Highly Purified-FSH(HP-FSH) versus Intramuscular Administration of FSH in Superovulation for IVF-ET**

**SW Bai, JY Kim, JG Won, CJ Jung, KH Chang, BS Lee, KH Park, DJ Cho and CH Song**

*Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea*

#### **=Abstract=**

The early studies demonstrated that the relative amount of FSH was important for stimulating normal ovarian activity and demonstrated the existence of a threshold level for FSH, above which follicular growth was activated. It was found that only a modest increase in circulating FSH level above the threshold (between 10 and 30%) was required to stimulate folliculogenesis. In addition, FSH is primary responsible for initiating estradiol production through the activation of the aromatase enzyme system in granulosa cells, follicular secretion and growth. LH on the other hand, plays a supportive role in ovarian steroidogenesis, stimulating the ovarian thecal cells to produce androgen, the precursor for estradiol synthesis. But there is now an increasing number of reports in the literature demonstrating an adverse effect of LH on fertility and miscarriage in infertile and fertile women. So HP-FSH is the drug of a highly purified FSH preparation which has a higher specific activity and far fewer impurities than FSH. This study was performed to evaluate the efficacy and safety of HP-FSH administered (SC; subcutaneous) versus FSH(IM; intramuscular) for ovulation induction. 20 candidates patients for ovulation induction were participated. All patients underwent pituitary desensitizing with a long gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist protocol and ovulation induction was started with HP-FSH SC (10 patients; group I) or FSH IM (10 patients; group II). After ovulation, outcome of ovulation induction and local reaction of injection site were compared. There were no difference of outcome of ovulation in two groups except pregnancy rate/embryo transfer. Group I had a higher pregnancy rate/ embryo transfer than Group II (44.4% Vs 28.6%). Pain, redness, tenderness, bruising and itching when the injection received on the first 5 days of treated (50 SC and 50 IM injections) were assessed. There were no significant difference ( $P>0.05$ ) in the incidence of tenderness, bruising and itching between the IM and SC injection. But IM injection (FSH) had a tendency of higher above incidence. The number of reports of pain, redness were significantly increased in IM injection group ( $P<0.05$ ). These results indicate that SC administration of HP-

FSH has been shown to be as effect for superovulation as traditional gonadotropins, with an improved safety profile due to the removal of extaneous proteins.

**Key Word:** HP-FSH, FSH, Efficacy, Safety.

## 서 론

폐경여성의 소변에서 추출한 FSH는 생식의학 분야에서 과배란 유도시 사용되는 대표적인 약제이다. 그러나 FSH자체가 많은양의 불순물을 함유하고 있기 때문에 피하주사를 하지 못하고 있으며 이로 인하여 환자들은 매일 근육주사를 맞는 불편을 감수 하여야 한다. 따라서 이 불순물의 양을 줄이면서 FSH의 함량이 증가된 신약의 개발연구가 지속적으로 이루어져 왔으며 그결과로 생성된 FSH제제가 Highly Purified-FSH(HP-FSH)이다. 이 제제는 기존의 FSH에 비해 불순물의 함량을 1/60로 감소 시켰으며 mg protein당 FSH의 함량도 기존의 FSH가 150IU/mg protein인데 반하여 HP-FSH는 9000IU/mg protein으로 월등히 FSH 함량이 높고 LH 함량은 FSH가 <0.7IU/amp 반하여 HP-FSH는 <0.0006IU/amp로 LH가 거의 없는 순수한 FSH 제제로 알려져 있다(Le Contonrec *et al.*, 1993). 한편 현재까지 과배란 유도시 사용되는 많은 배란 유도제제가 근육주사용으로 근육주사시 환자가 주사로 인한 통증, 근육주사부의 두드러기 및 주사를 시술받기 위하여 병원을 방문해야하는 불편함이 있었으며 이것들이 환자의 불임치료 적응도를 낮추는 요인으로 작용하여 왔다. 이와는 반대로 자가 피하주사 방법은 불임 치료 적응도를 높힐수 있을 뿐만 아니라 환자의 일상 생활에도 방해를 주지 않는 장점이 있다. 따라서 체외수정을 위한 과배란 유도시 FSH 근육주사 제제와 HP-FSH 피하주사 제제의 안정성과 약효능을 비교 하기 위하여 본 연구를 시행 하였다.

## 연구 대상 및 방법

### 1. 대상

본 연구는 1995년 7월부터 1996년 6월까지 연세 대학교 산부인과 불임 클리닉에 내원한 환자 중 지원자 20명 20주기를 대상으로 하였다. 대상 환자는 난관 요인, 원인 불명 인자, 자궁 내막증 및 남성 요인에 의한 불임환자였다.

### 2. 방법

모든 환자들은 황체기 중기(midluteal phase)에 Decapeptyl(D-Trp-6 LHRH: Fering, Melmo, Sweden) 0.1 mg을 매일 피하주사하여 pituitary suppression 을 시작하였으며 과배란 유도전 난포 기초기 3일째에 난포 자극 호르몬, 난포 호르몬, 황체 호르몬을 측정 하였고 질식 초음파를 시행하여 10 mm 이상의 난소 낭종을 지닌 환자는 제외시켰다. 환자는 각각 10명씩 HP-FSH 및 FSH로 배란 유도할 군을 나누었으며 각군 환자는 난포 기초기 3일째에 HP-FSH 225IU(3 ampule) 및 FSH 225IU(3 ampule)을 각각 피하 및 근육주사로 배란 유도를 시작 하였다. 상기 용량은 첫5일 동안 지속 되었으며 그후 난소 반응에 따라서 용량을 조정 하였다. 근육 주사는 환자의 좌, 우측 둔부에 하였다. 배란 유도 5일째부터 혈중 난포 호르몬과 질식 초음파를 이용한 난포 크기를 측정 하였으며 질식 초음파상 적어도 2개이상의 난포가 평균지름 16 mm에 도달하면 사람 융모 성선 자극 호르몬(HCG) 10000IU를 근주 하였고 34-36시간후 질식 초음파를 이용하여 난자 채취를 시행 하였다. 난자 채취후 5-8시간의 전배양(preincubation)시간을 거친후 미리 준비된 정자로 수정(insemination)을 시도 하였고 수정후 15-18시간에 두 개의 전핵을 관찰함으로써 정상적인 수정(fertilization)이 일어났는지 확인하고 다음날 세포분열이 일어난 배아는 자궁내 이식(embryo transfer)을 시행 하였다. 배아의 자궁내 이식일 부터 황체 호르몬 50mg을 매일 근주 하였다. 대상 환자에 미세 조작술을 시행하지 않았으며 난자 채취후 17일째에 혈중  $\beta$ -HCG를 측정 하여 10mIU 이상이면 임신으로 판정하고 배아 이식후 질식 초음파를 시행하여 확인 하였다. clinical pregnancy는 질식 초음파를 통하여 태낭(gestational sac)이 존재 하는 경우로 정의하였다. 난포자극 호르몬(FSH) 와 황체 호르몬(LH)의 측정은 Amerlex FSH and LH radioimmunoassay kit (Amersham International PK, U.K.)를 이용한 double antibody technique을 시행 하였다. LH 측정의 민감도는 0-150 mIU/ml이고 interassay variance는 3.4%,

**Table 1.** Baseline characteristics of patients

	Metrodin-HP	Metrodin
Age(y)	31.5 ± 5.6	30.4 ± 4.7
*BMI(kg/m <sup>2</sup> )	2.12 ± 2.7	22.3 ± 3.0
Indication		
Tubal factor	4	5
Unexplained	3	3
Endometriosis	2	2
Male factor	1	0
Duration of infertility(y)	4.4 ± 3.2	4.1 ± 3.5

\*BMI: body mass index

**Table 2.** Outcome of patients

	Metrodin-HP	Metrodin
Total ampules	36.3 ± 14.2	37.8 ± 8.0
E2 on hCG day (pg/ml)	2197.2 ± 911.3	1919.2 ± 522.3
Cycles	10	10
Follicles	9.2 ± 3.8	8.8 ± 3.5
Oocytes	8.1 ± 3.0	7.9 ± 3.5
Mature oocytes	4.8 ± 1.5	4.5 ± 3.5
Fertilized oocytes	5.5 ± 3.1	5.4 ± 3.6
*PR/transfer(%)	44.8	28.6**

\*PR: pregnancy rate, \*\*P<0.05

intraassay variance는 3.3% 이었으며, FSH 측정의 민감도는 0-150mIU/ml이고 interassay variance는 1.6%, intraassay variance는 4.7% 이었다. 난포 호르몬(E2) 측정은 rabbit antiserum-17B-E2-(O-carboxy-methyl)oxime-bovine serum albumin을 이용한 방사면역 측정법(RIA)으로 estradiol-terkit(Serono Diagnostics, Switzerland & International)을 사용하였다. 이측정의 민감도는 20-2000ng/ml이고 estrone과의 교차 반응도는 1.3%, estriol과는 0.4% 이었다. E2 측정의 inter-assay variance는 4.2% 이고 intraassay variance는 5.5% 이었다. 대상 환자에서 사용한 약제의 용량, HCG 주입시의 혈중 최고 E2 농도, 1.6cm이상의 난포수, 채취한 난자수, 수정된 난자수 및 이식한 배아당 임신율을 측정하여 HP-FSH와 FSH의 체외수정 결과에 있어서의 약 효능을 비교 하였으며 첫 5일간 피하주사 및 근육주사시 나타나는 통증(pain), 발적(redness), 압통(tenderness), 좌상(bruising), 소양감(itching)을 측정하여 그 강도에 따라서 none, mild,

**Table 3.** Local reactions

	Metrodin-HP (n=50)				Metrodin (n=50)				*
	0	1	2	3	0	1	2	3	
Pain	16	34	0	0	16	20	9	5	**
Redness	34	15	1	0	36	6	4	4	**
Tenderness	32	18	0	0	28	20	2	0	***
Bruising	44	6	0	0	46	4	0	0	***
Itching	42	7	1	0	45	4	0	1	***

n: 주사 횟수, \*\*P < 0.05, \*: local reaction score, \*\*\*P > 0.05, 0: none 1: mild, 2: moderate, 3: severe

moderate, severe로 나누어 0-3 까지 점수를 부여 하여 HP-FSH와 FSH 주사시 국소 반응을 비교 하였다. 통계분석은 unpaired student t-test와 Wilcoxon rank sum test를 사용 하였으며 유의수준을 5%하여 P<0.05인 경우 양군사이에 유의한 차이가 있는 것으로 판정 하였다.

## 결 과

### 1. 대상 환자의 특성

대상 환자는 각각 10명씩으로 불임의 원인은 난관요인, 원인불명요인, 자궁 내막증, 남성요인 이었으며 평균연령, 신체질량지수 (Body Mass Index) 및 평균불임기간에는 차이가 없었다 (Table 1).

### 2. 체외 수정 결과에 따른 HP-FSH와 FSH의 효능비교

배란 유도 기간동안에 사용한 HP-FSH 및 FSH의 평균양은 각각 36.3 ± 14.2(amp), 37.8 ± 8.0(amp)으로 차이가 없었다. HP-FSH와 FSH투여군의 난자채취직전의 최고혈중 E2는 각각 2197.2 ± 911.3, 1919.2 ± 522.3(pg/ml)로 차이가 없었다. 양군에서의 지름 1.6 cm 이상의 난포수는 9.2 ± 3.8, 8.8 ± 3.5개로 차이가 없었다. 채취한 난자수, 성숙 난자수, 수정된 난자수 역시 양군에서 차이가 없었다(8.1 ± 3.0 vs 7.9 ± 3.4, 4.8 ± 1.5 vs 4.5 ± 3.5, 5.5 ± 3.1 vs 5.4 ± 3.6). 그러나 배아 이식당 임신율은 HP-FSH군이 FSH군에 비해 유의있게 높았다 (44.4% vs 28.6%) (Table 2).

### 3. HP-FSH 및 FSH 투여군에서의 국소반응 비교

주사시 통증을 느끼는 경우는 HP-FSH군에서

는 통증점수가 0,1로 전예에서 없거나 미약 하였으나 FSH군에서는 중등도이상(2이상)을 느끼는 경우가 14회로 HP-FSH군에 비하여 통증 발생율이 높았다( $P<0.05$ ). 발적 빈도 역시 FSH군에서 HP-FSH군에 비하여 중등도 이상의 발생율이 높았다( $P<0.05$ ). 압통, 좌상 및 소양감 발생빈도는 양군에서 차이가 없었다( $P>0.05$ )(Table 3).

## 고 찰

Human Menopausal Gonadotropin(HMG)는 시상하부성 무월경환자 임신 치료에 사용된 이후 지난 30년간 배란 유도제로서 가장 보편적으로 사용되어져 왔다. 최근에는 보조 생식술 도입후 이 약제의 사용은 더욱 많아졌다. 비록 HMG가 같은 비율의 FSH 및 LH를 함유하고 있으나 난포 성장을 자극하는 제제는 FSH이다. 따라서 난포의 성장을 위해서는 환자 혈중 FSH의 증가가 필수적이다(Brown, 1978). 한편 원시난포 및 성장난포에 LH 수용체가 없는 것으로 보아 LH가 원시난포를 성장난포 대열에 도달할 수 있게 하는 역할을 하는 것으로는 생각되지 않는다. 또한 난포초기의 과립막 세포 역시 난포후기 될 때 까지 LH 수용체가 발현되지 않는 것으로 알려져 있다(Zeleznik *et al.*, 1974; Peluso *et al.*, 1976; Siebers *et al.*, 1977; Erickson *et al.*, 1979). 이와는 반대로 포막세포는 LH 수용체를 지니고 있으며 전 난포 발달기 동안에 LH에 반응을 한다(Adashi *et al.*, 1991). 위 두가지 사실은 난포형성의 이론인 2-cell, 2-gonadotropin 이론의 근간을 이룬다(Falck B, 1959; Bjersing, 1967). 포막세포에서 LH 영향하에서 안드로젠이 형성되어 과립막 세포에서 FSH영향 하에서 aromatase 작용으로 에스트로젠으로 대사된다. 이과정에서 필요한 LH양은 아직까지 확실히 밝혀지지는 않았으나 아마도 매우 적은 양으로 생각하고 있다. 최근의 연구결과는 난포 발달기 동안에 높은 LH는 임신율 감소를 일으킨다고 보고하였다. 난포 발달기 및 배란전의 높은 LH는 수정, 배분할 및 배아질에 나쁜 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Stanger, 1985; Howles, 1987). 더 나아가서는 증가된 LH는 낮은 임신율과 높은 유산율과 관련이 있는 것으로 알려져 있다(Homburg *et al.*, 1988; Regan *et al.*, 1990). 위와같은 사실을 근거로 하여 외부에서 과배란 위하여 LH를 투여하는 것이 필요하지 않

으며 오히려 해롭다는 생각이 대두되기 시작하였다. 결과적으로 FSH만 함유하고있는 과배란 제제가 HMG 보다 과배란에 좋은 효과를 나타낼 수 있는 가능성을 보여 주었다. 한편 체외수정 시술 환자에서는 과배란을 위하여 과배란약을 매일 근육주사를 맞아야 하는 어려움이 있다. 이는 단지 근육주사를 맞아야 하는 고통뿐만 아니라 약을 주사할 병원을 방문해야 하는 번거로움이 있었다. 이와같은 두가지 사실로 인하여 FSH만 함유한 제제 및 환자 스스로가 피하여 주사할 수 있는 과배란 제제의 필요성이 대두되었으며 이로 인하여 만들어진 난소 과배란 제제가 HP-FSH이다. 이 제제는 기존의 FSH제제보다 고용량의 FSH를 함유하고 있으며 기존제제를 피하주사 할 수 없는 이유인 과량의 불순물을 함유하고 있다는 점을 보완하여 불순물 함유량이 거의 없는 제제이다. 기존의 FSH제제는 HMG에서 polyclonal antibody를 이용하여 LH를 제거하여 만든 것으로 mg protein당 150IU FSH 및 ampul당 0.7IU미만의 LH를 함유하고 있는 반면에 HP-FSH는 high performance liquid chromatography를 이용하여 LH를 제거하여 만든 것으로 mg protein당 9000IU FSH 및 ampul당 0.0006IU 미만의 LH를 함유하고 있는 제제로 FSH 함유량은 60배 많고 LH 함유량은 1170적은 가장 이상적인 과배란 제제이며 불순물 함유량도 FSH제제에 비하여 60배 적게 함유하고 있다. 따라서 FSH를 피하주사 하였을 때 나타날 수 있는 부작용인 주사부위의 통증, 발적, 압통, 좌상, 소양감 등이 거의 나타나지 않고 체외수정 결과는 FSH에 비하여 우수하다는 보고가 있다(Sharif *et al.*, 1993). 본 연구 결과에서도 총사용한 약용량, 최고 혈중 E2, 우성 난포수, 채취한 난자수, 성숙 난자수, 수정된 난자수는 HP-FSH군에서 차이가 없었지만 이식당 임신율은 HP-FSH군이 FSH군에 비하여 유의하게 높았다(44.4% VS 28.6%). 이는 위에서 밝힌바와 같이 LH가 수정, 배아분할 및 배아 발달에 나쁜영향을 미쳐서 결과적으로 임신율 감소를 초래한다는 이론으로 설명이 가능하리라 본다. 한편 시상하부를 제거한 쥐에 FSH만을 투여하였는데 난소 포막세포에서 안드로젠이 형성되고 난자에서 포막세포만을 분리 배양하면서 FSH만 투여 하였을 경우에도 안드로젠이 형성되는 것이 보고 되었다(Hillier *et al.*, 1995). 이들은 뇌하수체가 제거된 환자에서도 정밀한 검사에서도

측정되지않는 극소량의 내인성 LH가 존재하며 따라서 난소의 포막세포에서 안드로젠을 형성하는데는 FSH만 투여하여도 문제가 없다고 주장하였으며 난소 과립막 세포에서 분비되는 물질이 축분비적으로 포막세포에 영향을 주어 LH 없이 FSH 만으로도 안드로젠을 형성할수 있다고 하였다. 이 과정에 관여하리라고 생각되는 물질은 estrogen, IGF-BP, IGF-I, TGF, inhibin, activin, follistatin 등이 있으며 이물질들이 난소 포막 세포에 P-450c17의 발현을 증가 시킴으로써 안드로젠 생성을 증가시키는 역할을 한다고 하였다. 즉 내인성 LH가 존재하기 때문에 외부에서 LH를 공급하는 것이 불필요하며 오히려 임신율의 감소를 초래 할 수 있다. 비록 LH가 안드로젠 형성에 필요하지만 그양은 미소량이다. 이것은 난포형성 과정의 내분비적 조절이 축분비 및 자가분비에 의해서 이루어지며 따라서 제한된 양의 LH가 필요하다는 사실에 대한 좋은 증거이다. 과립막 세포 성장 및 분비에 대한 FSH 작용은 국소적으로 생성된 IGF에 의한 것으로 알려져 있다(Hammond *et al.*, 1988; Adashi *et al.*, 1991). 과립막 세포에 FSH투여후 IGF-I 수용체의 수가 크게 증가하며 IGF mRNA 및 IGF protein 형성은 고나도트로핀에 의해 조절된다(Hillier, 1995). 이와는 반대로 인간의 포막세포에서 IGF-I mRNA 발현양은 적으나 인슐린과 IGF-I수용체는 많이 존재 한다(Hammond *et al.*, 1988; Adashi *et al.*, 1991). 기저상태 및 LH로 처리된후의 포막세포에서의 안드로젠 형성은 IGF-I 및 인슐린 존재시 크게 증가한다. 한편 과립막 세포에서 형성된 IGF-II 역시 양성 축분비 기전으로 안드로젠 형성을 촉진 하는 것으로 알려져 있다. inhibin 과 activin 역시 난소 포막세포에서 안드로젠 생성을 직접 조절하는 것으로 알려져 있다. LH 와 IGF-I 에 자극된 사람의 난소 포막세포에서 안드로젠 생성이 recombinant activin A에 의해 억제됨이 증명 되었다(Hiller *et al.*, 1991). 이와는 반대로 recombinant inhibin A는 LH 및 IGF에 의한 난소 포막 세포에서의 안드로젠 생성을 촉진한다. 따라서 FSH 영향하에 난소 과립막 세포에서 inhibin 생성증가는 난포포막세포에서 지속적인 안드로젠 생성을 촉진하고 결과적으로 배란전 난포내의 지속적인 에스트로젠 생성을 가능케 하는 inhibin의 축분비적 역할이 제시되었다. 본 연구에서도 HP-FSH투여군에서 FSH투여군보다 혈중

최고 E2가 높은 경향과 함께 시술 주기당 임신율의 증가가 관찰 되었다. 이 사실은 위 이론으로 설명이 가능하리라 생각 된다. HP-FSH 투여군과 FSH투여군의 난자 수정율은 차이가 없으나 시술 주기당 임신율이 증가하는 사실로 보아 HP-FSH 투여군 배아의 착상율이 FSH투여군에 비하여 우수하며 이는 HP-FSH가 배아 착상시에 유리한 배아형성에 도움을 주는 것이 아닌가 생각된다. 또한 위의 사실은 난소에서 스테로이드 형성에는 최소한의 LH만이 필요하다는 사실을 암시 한다고 하겠다. 소량의 LH를 투여 하였을 때 난소 과립막 세포 증식을 방해하지 않고 스테로이드 형성이 증가 되었다는 보고가 있었다(Overes *et al.*, 1992). 이와는 반대로 과량의 LH를 투여 하였을 때 프로게스테론 생성은 증가하나 세포 성장은 억제되며 aromatase 활성도는 감소된다. 배란직전에 LH가 10 IU/L이상이면 이것은 임신율에 좋지않은 영향을 미치고 임신후에는 자연유산율을 증가시키는 것으로 알려져 있다(Regan *et al.*, 1990). 현재까지 보조 생식술에 사용되었던 FSH는 폐경여성의 소변에서 추출하여 사용되어왔으나 추출과정에서 많은 불순물이 섞이게 되어 피하로 투여하지 못하고 근육으로 투여 하였다(Traub AI, 1989). 이러한 불순물의 함유는 주사부위의 국소반응 및 주사를 시술받기 위하여 병원을 방문해야 하는 불편함이 수반 되었다. 그러나 정제기술의 발달에 따라서 liquid chromatography 방법을 이용하여 FSH를 폐경여성 소변에서 순수한 상태로 분리가 가능하게 되었고 이로 인하여 피하주사가 가능하게 되었다. 이 방법의 가장 큰 장점은 근육주사에 비하여 환자가 느끼는 주사시 통증 및 국소 반응이 적고 환자가 스스로 쉽게 시술할수 있고 더 나아가서는 체외 시술 성적이 좋다는 것이다. HP-FSH의 상기와 같은 장점은 본 연구에서도 증명 되었다. HP-FSH는 FSH에 비하여 주사시 통증이 적었으며 발적 발생율도 낮았다. 이상의 결과로 미루어 볼 때 HP-FSH는 기존의 FSH에 비하여 환자 자신이 손쉽게 부작용없이 자신이 피하에 주사 할 수 있을 뿐만 아니라 체외수정 시술의 결과 역시 FSH에 비하여 우수한 배란제재로 가격이 고가라는 문제만 해결 된다면 기존의 근육주사 과배란 제재를 대체할 제재라고 사료된다.

## 결 론

본 연구는 체외수정을 위한 과배란 유도시 기존 FSH 근육주사 제제와 HP-FSH 피하 주사제제의 약효능과 안전성을 비교하기 위하여 본연구를 시행 하였으며 다음과 같은 결과를 얻었다.

첫째 HP-FSH 주사군은 기존의 FSH 주사군에 비하여 채취한 난자수, 성숙 난자수, 수정된 난자수에서는 차이가 없었으며 시술 주기당 임신율은 HP-FSH군에서 의의 있게 증가 하였다.

둘째 HP-FSH 주사시 환자가 느끼는 통증 및 발적은 FSH에 비하여 오히려 감소함을 보였다.

따라서 이와같은 사실로 볼 때 HP-FSH는 체외수정을 위한 과배란 유도시 매우 이상적인 약제라고 사료된다.

## 참 고 문 헌

- Adashi EY, Resnick CE, Hurwitz A, Ricciarelli E et al: Insulin-like growth factor: The ovarian connection. *Hum Reprod* 1991, 6,1213.
- Bjersing I: On the morphology and endocrine function of granulosa cells in ovarian follicles and corpora lutea. *Acta Endocrinol* 1967, 125(suppl), 1.
- Brown JB: Pituitary control of ovarian function-concepts derived from gonadotropin therapy. *Aust NZ J Obstet Gynecol* 1978, 18, 47.
- Erickson GF, Wang C, Hsueh AJW: FSH induction of functional LH receptors in granulosa cells cultures in a chemically defined medium. *Nature* 1979, 279, 336.
- Falk B: Site of production of estrogen in rat ovary as studied in microtransplants. *Acta Physiol Scand* 1959, 47(suppl), 1.
- Hammond JM, Hsu CJ, Mondschein JS, Canning SH: Gonadotropin increase concentration of immunoreactive insulin-like growth factor I in porcine follicular fluid in vivo. *Biol Reprod* 1988, 38, 304.
- Hillier SG, Smith CD, Whitelaw PF, Miro F: Gonadotropin control of follicular function. *Horm Res* 1995, 43, 216.
- Hillier SG, Yang EL, Illingworth PI, Baird DT: Effect of recombinant inhibin on androgen synthesis in cultured human theca cells. *Mol Cell Endocrinol* 1991, 75, R1.
- Homburg R, Armar NA, Eshel A, Adams J, Jacobs HS: Influence of serum luteinizing hormone concentration on ovulation, conception and early pregnancy loss in PCO syndrome. *Br Med J* 1988, 297, 1024.
- Howler C, Macamee MC, Edwards RG: Follicular development and early luteal function of conception and non-conceptional cycles after human in vitro fertilization: Endocrine correlates. *Hum Reprod* 1987, 2, 17.
- LeCotonec JY, Porchet HC, Beltramiv: Comparative pharmacokinetics of two urinary human follicle stimulating hormone preparations in healthy female and male volunteers. *Hum Reprod* 1993, 8, 1604.
- Overes HW, de Leese R, Kloosterboer HJ: Regulation of aromatase activity in FSH-primed rat granulosa cells in vitro by FSH and various amount of human chorionic gonadotropin. *Hum Reprod* 1992, 7, 191.
- Peluso TJ, Steger RW, Hafez ESE: Development of gonadotropin-binding sites in the immature rat ovary. *J Reprod Fertil* 1976, 47, 55.
- Regan L, Owen EJ, Jacobs HS: Hypersecretion of luteinizing hormone, infertility and miscarriage. *Lancet* 1990, 336, 1141.
- Sharif M, Barrett P, Sharma V, Hindle J: Subcutaneous versus intramuscular self administration of highly purified FSH in superovulation for IVF. *Br J of Clin R* 1993, 4, 183.
- Siebers JW, Peters F, Zenes MT, Schmidtke J, Engel W: Biding of human chorionic gonadotropin to rat ovary during development. *J Endocrinol* 1977, 73, 495.
- Stanger J, Yovich JJ: Reduced in vitro fertilization of human oocytes from patients with raised basal luteinizing hormone levels during the follicular phase. *Br J Obstet Gynecol* 1985, 92, 385.
- Traub AI: Therapeutic focus :Metrodin. *Br J Clin Prac* 1989, 43, 193.
- Zeleznik AJ, Midgley AR, Reichert LE: Granulosa cell maturation in the rat: Increased binding of

human chorionic gonadotropin following treatment with follicle-stimulating hormone in vivo.

*Endocrinology* 1974, 95, 818.

---