

## 체외수정 및 배아의 자궁내 이식\*

계명대학교 의과대학 산부인과학교실

### 이 두 롱

=Abstract=

### In Vitro Fertilization and Embryo Transfer

Du Ryong Lee, MD

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Keimyung University School of Medicine, Taegu, Korea

Details are given of a preclinical pregnancy established by implanting in vitro fertilized two two-cell and four-cell embryos into the uterine cavity of an infertile woman with tubal factor. The embryos were obtained by in vitro fertilization of six preovulatory eggs aspirated at tuboplasty 34 hours 45 minutes after the injection of hCG during the patient's hyperstimulated menstrual cycle with clomiphene citrate with human menopausal gonadotropin(Pergonal). Increased levels of serum beta-hCG confirmed the presence of a preclinical pregnancy.

**Key Words:** Embryo transfer, In vitro fertilization, Preclinical pregnancy.

### 서 론

체외수정(in vitro fertilization, IVF) 및 배아의 자궁내 이식(embryo transfer, ET)은 오래전부터 생식생리 및 불임학자들의 관심의 대상이 되어왔으며 인간에서는 1965년에 Edwards<sup>1)</sup>가 체외수정에 성공하였다고 보고하였으며 그후에 Edwards 등<sup>2)</sup>은 자연배란주기에서 난자를 채취하여 체외수정에 의해 1978년에 세계 최초로 Louise Joy Brown양이 출생되었다고 보고하였다. 1982년 Trounson 등<sup>3)</sup>은 clomiphene citrate로서 정상 월경주기를 가진 부인에서 과배란을 유도한 후, 난자를 흡인하여 체외에서 수정시켜 배아를 자궁내에 이식 한 후 임신이 성립하였음을 보고하였다. 1983년 Garcia 등<sup>4)</sup>은 human menopausal gonadotropin(이하 hMG로 약함)을 이용하여

정상월경주기를 가지고 있는 부인에서 과배란을 유도하는 방법을 고안하였으며, Jones 등<sup>5)</sup>은 hMG로 과배란을 유도한 후 체외수정 및 배아의 자궁내 이식을 시행하여 임신이 성공되어 분만하였다고 보고하였다. 그외 과배란을 유도하는 방법으로는 Follicle Stimulating Hormone(FSH)과 함께 hMG로서 월경 3일째, 4일째 복용하고 5일째부터 hMG로서 하는 방법, 최근에는 Gonadotropin Releasing Hormone (GNRH) Agonist를 이용하여 과거의 과배란 주기에 서 premature LH surge가 있었거나, 과배란에서 난자가 잘자라지 않았던 poor response group에서 좋은 결과를 보고하고 있다. 체외수정 및 배아의 이식술은 양측 난관이 과거의 수술 등으로 없거나, 난관폐쇄의 경우 난관성형수술로써 복원이 불가능하여 다른 방법으로는 임신이 불가능한 불임증 치료방법으로 전 세계적으로 시술되고 있다. 저자는 양측 난관이 폐

\* 이 논문은 1989년도 계명대학교 갑종연구비에 의하여 이루어졌음.

쇄된 상태이고, 정상 월경주기를 갖고 있는 부인에서 clomiphene citrate 및 hMG를 사용하여 과배란을 유도한 후 개복하여 난자를 흡인하고 이어서 난관성 형수술을 시행한 후 흡인된 난자를 체외수정 및 배아를 자궁내 이식한 후 preclinical pregnancy를 경험하였기에 보고하는 바이다.

### 증례

환자는 27세 된 부인으로 1986년에 임신 3개월의 인공임신중절 시킨 후 본원을 처음 방문한 1990년 5월 8일까지 5년 여 동안 임신이 되지 않았다. 환자의 월경주기는 정상이었고 건강상태는 양호하였으며 이화학적 검사상 이상소견을 발견할 수 없었다. 내진소견상 자궁은 정상크기였으며 기타 특기 사항은 없었다. 남편의 정액검사 소견은 정상이었다.

자궁난관조영술상 자궁내강은 정상상태이었으며 좌측난관은 난관근위부 부터 폐쇄된 상태였고 우측 난관은 난관수종(hydrosalpinx) 상태이었다. 자궁경관을 통하여 methylene blue dye를 압력을 가하여 주입한 결과 양측난관에서 dye가 spillage 되지는 아니하였다. 난관성형술 및 체외수정의 시술을 권하였다.

였다.

### 과배란 유도

1990년 7월 6일 월경이 시작되어 월경주기 제3일이 일요일이어서 제4일에 초음파 단층촬영을 실시하여 골반강내를 평가하였다. 월경주기 4일째부터 8일째 까지 clomiphene citrate 100mg/day을 투여하였고 동시에 hMG(FSH 75IU + LH 75IU) 2 ampoule/day을 격일 간격으로 근육주사하면서 초음파촬영, 혈중 estradiol(이하 E<sub>2</sub>로 약함)을 난자를 흡인할 때 까지 시행하였다. 초음파진단기는 Acuson 128, beta-mode이며, 환자의 치골결합연(symphysis pubis)으로부터 1cm 간격으로 횡단면의 초음파단층상을 관찰하여 난소난포의 직경을 측정하고, 복부정중부부위에서 좌측 혹은 우측으로 transducer를 기울여서 관찰되는 종단면의 초음파단층상에서의 차이가 1cm 미만인 경우를 택하여 평균치를 산출하였다. 혈중 E<sub>2</sub> 측정과 함께 luteinizing hormone(이하 LH로 약함)을 측정하여 LH surge 여부를 측정하였다. E<sub>2</sub> 및 LH 측정은 Radioimmunoassay법으로 하였다. 월경주기에 따른 난소난포의 직경크기의 변화는 Figure

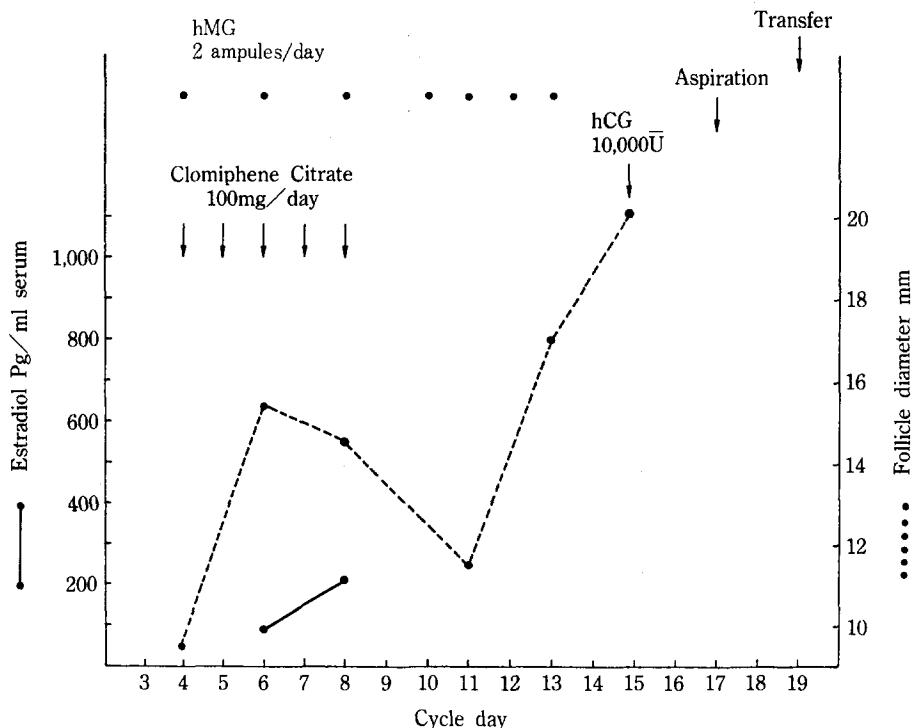


Fig 1. Changes of serum E<sub>2</sub> and USG diameter of leading follicle from last menstrual period(LMP).

1과 같다. 월경주기 15일째에 가장 큰 난소난포의 직경이 22.2mm이어서 같은날 밤 12시에 융모성선 자극홀몬(human chorionic gonadotropin, 이하 hCG로 약함) 10,000 I.U.를 근육주사하였다. hCG 근육 주사 36시간 45분후인 월경주기 17일째날 오전 10시 45분에 난자체취 및 난관성형술을 시행하였다.

#### 난자의 흡인

전신마취하에서 개복수술을 시행하여 먼저 내경이 2.16mm이며 길이가 43cm인 12gauge 주사바늘로 난자의 흡인을 시행하였다. 난자를 포함하고 있는 난포액은 즉시 배양실에 옮겨서, 난포액의 양, 색깔을 기록하고 배양접시에(Falcon #3002)에 옮긴 후 해부현미경(Dissecting microscope) 하에서 난자의 존재여부를 확인하였다. 난자체취후 계속하여 난관성형술을 시행하였다.

#### 난자성숙도의 판정

6개의 난자가 확인되어 역반사현미경(Inverted microscope)으로 Sindow 6)의 방법에 의해 난자난구세포복합체(oocyte-cumulus complex)와 난포액내의 과립세포(granulosa cell)의 특징을 관찰한 결과 6개 모두 성숙된 배란직전의 난자(preovulatory oocyte)로 확인되었다.

#### 배양액

Ham's F-10 with glutamate 9.81g(Gibco #430-1200)을 이용하여 250ml의 Q water로 용해시킨 후, 여기에 penicillin G(Sigma) 75mg, Streptomycin sulfate(Hoechst) 75mg을 첨가한 후 monthly stock media를 만들고, 충분히 용해하도록 철저히 혼돈 후 0.2 micron Nalgene filter를 통하여 여과시킨 후 4°C 냉장고에 보관하였다. 이와같이 만들어진 monthly stock media 25ml에 Q water 75ml를 혼합하고, lactic acid ca salt(Hoechst) 27.87mg과 NAHCO<sub>3</sub>(Mallincrodt) 210.6mg, phenol red(Grand Island Biological Company) 25micro liter를 첨가한 후, 수소이온 농도(pH)는 7.4에 맞추고, 삼투압 280-284 mosm가 되도록 하여 CO<sub>2</sub> incubator 안에 보관해 두었다가, 신생아 제대 혈청의 농도가 수정배양액은 10%, 성장 배양액은 20%가 되도록 혈청을 첨가한 후 사용하였다. 매사용 직전 가압여과 시킨 후 사용하였다.

#### 추가배양

Jones 등<sup>7)</sup>의 방법을 이용하여 배란직전의 성숙된 난자를 10% 신생아 제대혈청(fetal cord serum)을 함유한 Ham's F-10 배양액내에서 8시간 동안 추가 배양을 시행하였다.

#### 정자의 준비 및 수정

남편의 정액을 수정 3-4시간 전에 수음(masterbation)으로 50ml 멀균 소독된 용기에 무균적으로 체취하여 액화되도록 실온에서 30-40분간 방치하였다. 액화후 기본적인 정액검사를 실시하여 정자의 수, 운동성, 형태등을 관찰한 후 과거에 시행한 정액검사와 비교검토하였다. 정자에 수정능력(capacitation)을 부여하기 위하여 액화된 정액을 동량의 수정배양액으로 희석하여 원심분리기에서 800×g로 10분간 원심분리를 시행하였다. 상층액을 제거하고 다시 2.5 ml의 수정배양액을 추가하여 원심분리를 되풀이 한 후, 이와같은 과정을 1회 더 반복한 후 정자의 원침(pellet)을 만들었다. 여기에 0.5ml의 수정배양액을 정자의 원침이 흔들리지 않도록 추가한 후 5% 탄산까스 37°C 배양기내에 2시간 동안 방치하였다. 운동성 정자가 상층액에 부유된 것을 확인한 후, 상층액만 모아 정자의 수와 운동성을 검사하였다. 추가배양이 끝난 난자를 함유하고 있는 수정배양액내의 정자의 농도가 0.5×10<sup>6</sup>/ml이 되도록 수정시켰다. 수정후 18시간 후에 20%의 신생아 제대혈청을 포함한 Ham's F-10 성장배양액으로 옮겼다. 성장배양액으로 옮긴 직후 난자의 수정여부를 역반사현미경으로 관찰하였다.

#### 배아의 자궁내이식

수정후 40시간 후인 1990년 7월 24일 오전 8시 30분에 난할(cleavage of oocyte)을 관찰하여 배아가 각각 4 세포기와, 2세포기, 2세포기에 도달한 것이 확인되어 Tomcat catheter를 이용하여 배아의 자궁내이식을 다음과 같이 시행하였다(Fig 2).

Tomcat catheter 끝에 1ml tuberculin syringe를 부착하고 현미경하에서 10μl의 배양액, 공기 10μl, 3개의 배아를 포함한 배양액 30μl, 공기 10μl, 그리고 10μl의 배양액의 순으로 Tomcat catheter 속으로 배아를 흡인하였다. 환자는 복와위(prone position)의 자세를 하고 자궁경부를 tenaculum을 사용하여 노출시킨 후에 자궁경관의 접액을 가제로 닦아내고 Tomcat catheter를 자궁내강의 자궁저부 가까이 집어 넣고 Tomcat catheter에 연결된 tuberculin syringe를

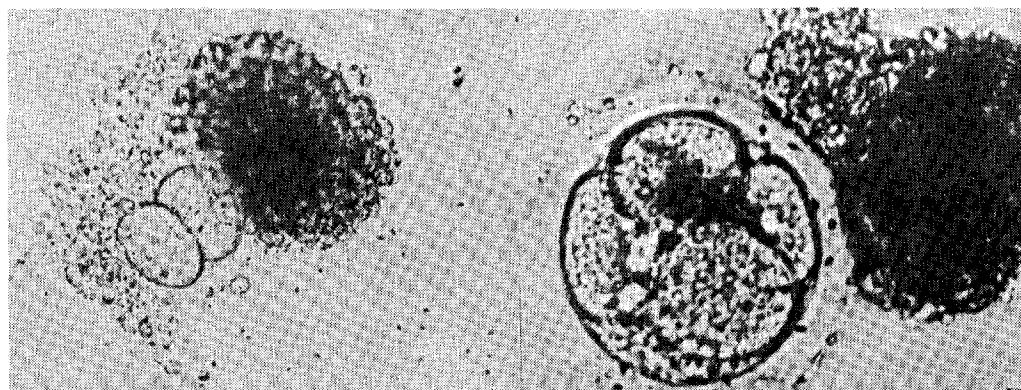


Fig 2. Photograph of 2-cell and 4-cell embryos

사용하여 배아를 이식 시킨 후 Tomcat catheter를 현미경으로 관찰하여 배아의 이식을 확인한 후에 약 6시간동안 안정을 취하게 하였다. 배아이식을 시행 한날로 부터 매일 progesterone 12.5mg씩을 근육주사하였다.

### 결 과

혈청  $\beta$ -hCG치가 배아이식후 11일째인 1990년 8월 4일 12.59mIU/ml이었으며, 그후 1990년 8월 11일에서 5일동안 월경이 나와버렸다.

### 고 찰

생체내에서 일어나는 자연적인 수정을 체외에서 인위적으로 재현시키는 것을 체외수정(*in vitro fertilization*)이라 한다. 1958년 McLaren과 Biggers<sup>8)</sup>가 쥐의 난자를, 1959년 Chang<sup>9)</sup>이 토끼의 난자를 체외수정후에 자궁내에 이식하여 임신이 되었다고 보고하였다. 인간에는 1965년에 Edwards<sup>10)</sup>에 의해 체외수정이 시도된 이후 Steptoe와 Edwards<sup>10)</sup>가 1976년에 인간의 난자를 체외수정하여 배아를 자궁내에 이식하여 자궁외임신이 되었다고 보고하였으며, 1978년 자연배란주기에서 난자를 흡인하여 체외수정에 의해 Louise Joy Brown양이 출생하였다고 보고하였다<sup>2)</sup>. 그러나 자연배란주기를 이용할 경우에는 50% 이하의 환자에서만 난자의 흡인이 가능하였으므로 과배란을 유도한 후 난자흡인을 시행하게 되었고, 이때 Lopata<sup>11)</sup>와 Marrs 등<sup>12)</sup>은 clomiphene citrate만 사용하거나, clomiphene citrate에 hMG를 추가하여 과배란을 유도하였다. Jones 등<sup>13)</sup>은 hMG를 사용하여 과배란을

유도하여 임신에 성공하였으며, 최근에는 follicle stimulating hormone(FSH)과 hMG를 동시에 사용하거나, FSH만 사용하여 과배란을 유도하였다.

또한 최근에는 과거 과배란유도중 LH surge가 와서 난자흡인이 되지 않았거나, 난자흡인이 되었다 하더라도 난자의 질(quality)이 좋지 않았든 경우라든지, 지난번 과배란 유도중 난자의 자라는 반응이 좋지 않았던 poor response group에서 gonadotropin releasing hormone(GNRH) agonist를 사용하여 좋은 결과를 보고하고 있다.

과배란을 유도할 때, 혈중 E<sub>2</sub>치 및 LH치, 초음파를 이용하여 난포의 성장을 관찰한다. Clomiphene citrate와 hMG로서 과배란을 유도할 경우에 혈중 E<sub>2</sub>치가 350-500pg/follicle에 도달하거나, 최대난포의 직경이 18mm 이상인 경우, hCG를 5,000~10,000unit 근육주사한 후 36시간에 난포를 흡인하여 난자를 채취한다고 장 등<sup>14)</sup>은 보고하였다.

한편 luteinizing hormone(이하 LH로 약함)을 이용하여 배란을 탐지하는 경우에는 배란일이 가까워지면 4시간마다 노중 혹은 혈중 LH의 농도를 측정하여 LH가 상승하기 시작하면 약 26시간후에 난자의 흡인을 시행한다.

과배란 유도시 초음파를 사용하여 난포의 성장을 관찰하면 난포의 발달을 직접 관찰할 수 있다. 초음파를 이용하면 난소난포의 수와 크기를 알 수 있을 뿐만 아니라, 난소낭종의 발생 여부도 확인할 수 있고, 난포가 좌 우 어느쪽에서 발달하는지 확인할 수 있다. 본예의 경우는 clomiphene citrate와 hMG로 과배란을 유도하였고 2일에 한번 측정한 혈중 E<sub>2</sub>치와 LH치의 변화, 자궁여부 점액의 변화, 초음파에 의한 난소난포 직경을 측정하여 최대난포의 직경이 22.2mm인 월

경주기 15일째 날에 hCG 10,000 U를 근육 주사하고 34시간 45분후에 난자를 체취하였다.

난자의 흡인방법은 연구자에 따라 다르며 Lopata<sup>15)</sup>는 Teflon catheter가 내장된 흡인침을 사용하여 100 mmHg의 음압으로 난포를 흡인하였다. 난소주위의 유착이 심하여 복강경 혹은 질식 초음파를 통한 난자흡인이 불가능한 경우에 초음파상에 의하여 난소 난포를 확인하고 방광을 통하여 흡인침을 삽입해서 난자를 체취하는 방법이 보고되었으나<sup>16)</sup>, 본예는 양측 난관폐쇄증(우측 난관 수종, 좌측난관 근위부 폐쇄) 이어서, 개복수술을 시행하여 먼저 난자의 흡인을 시행한 후, 난관 성형술을 시행하였다. 난자흡인 직후 해부현미경 및 역반사현미경을 사용하여 난자를 확인하고 성숙도를 분류하는데 대기중의 노출시간을 최대한으로 단축해야 하고 이와같은 과정을 실내공기가 여과된 곳에서 시행하여야 하고, 바로 이미 완성된 수정배양액으로 옮겨야 한다.

난자의 배양액은 연구자마다 차이는 있으나 삼투 압은 280-284mosm, 수소이온 농도는 7.4에 맞추어 사용한다. 난자의 배양액은 Ham's F-10을 가장 많이 사용하고 있고<sup>17-20)</sup>, 연구자에 따라 모체 혈청을 불활성화 시켜서, 혹은 신생아 제대혈청을 불활성화시켜서 배양액에 추가하는 혈청으로 사용하나, 저자는 Jones 등<sup>5)</sup>이 사용하는 방법과 동일한 방법으로 신생아 제대혈청을 준비하여 배양액에 첨가하였다. 연구자에 따라서는 각각 7.5%, 10%, 15%, 20%의 혈청을 첨가한 경우도 있으나, 본 연구에서는 수정배양액에는 10%의 신생아의 제대혈청을 첨가하였고, 성장배양액내에서는 20%의 혈청을 첨가하였으나, 배양액에 따른 결과는 특별한 차이가 없다고 한다.

흡인된 난자의 추가배양은 배란직후의 난자이므로 체외에서 더욱 성숙되기를 기다리며 배양액과 난자의 평형상태가 이루어 지기를 기대해서 시행하였다. 성숙된 난자의 경우 수정하기전 6-8시간 추가배양을 실시하는것이 보통이고<sup>14)</sup>, 중간상태의 난자는 6-12시간, 미성숙 난자는 12-24시간 동안 추가배양 하는 것이 보통이라고 구 등<sup>21)</sup>은 보고하고 있다. 현재까지 체외수정을 성공시키기 위해서 필요한 정자의 수는 정확히 알려지지 않고 있으나, 대부분의 연구자들은 난자당  $1 \times 10^5$  이하의 정자로 수정이 가능하다고 보고하고 있다. 수정후 12-16시간 동안 수정배양액에서 배양후 성장배양액으로 옮기는데, 본예는 수정후 16시간후에 성장배양액으로 옮겼다. 성장배양액으로 옮기기 전에 수정배양액내의 운동성정자의 존재여

부를 확인하고, 과립세포의 확산여부를 관찰하였다. Pipette을 사용하여 난자를 성장배양액으로 옮긴 후 수정여부를 확인하였다. 경우에 따라서는 과립세포가 수정란을 둘러싸고 있어 전핵의 형성여부를 관찰하는 방법을 사용하지 않고, 수정후 45시간 정도지나서 성장배양액내에 들어있는 수정란의 난할을 관찰하였다. 일반적으로 수정후 36-40시간 후에는 4-6세포기에 도달하나<sup>22)</sup>, 난할이 빨리 일어나는 경우에는 8-16세포기에 도달하기도 한다<sup>14)</sup>. 본예는 수정후 40시간 12분후에 관찰한 결과 배아가 각각 2세포기, 2세포기, 4세포기에 도달하였다.

배아의 자궁내이식을 언제 시행하면 가장 임신의 가능성이 높은지는 아직 불확실하다. Edwards 등<sup>2)</sup>은 8-16세포기의 배아를 이식하여 임신을 성공시켰고, Jones 등<sup>5)</sup>은 수정후 42-72시간후에 배아를 자궁에 이식한다고 하였으며, Trounson<sup>23)</sup>은 1-8세포기의 배아를 이식한다고 보고하였다.

배아의 자궁내이식은 대부분의 체외수정 센터에서는 자궁경관을 통해 시행하며 이때 사용하는 이식관과 이식방법은 여러가지 방법이 사용되고 있으나<sup>24-27)</sup>, 본예는 Tomcat catheter를 사용하였다.

배아의 자궁내 이식 직후에 환자의 안정이 필요 한지는 확실하지 않으나, 대부분의 체외수정 센터에서는 3-4시간의 안정을 취하게 하며, 본예는 난관성형술을 동시에 시행 하였으므로 일주일동안 안정을 취하게 되었다.

황체홀몬의 투여에 대하여는 아직 논란이 많은데, Alan 등<sup>28)</sup>은 복강경시기와 황체기의 황체홀몬인 progesterone이 체외수정의 성공율에 크게 관여를 하지 않는다고 보고하였고, 한편 Garcia 등<sup>29)</sup>은 황체기의 결손이 생기므로 황체홀몬의 보강이 필요하다고 보고하였다. 본 중례에 있어서는 배아이식한 날부터 계속해서 매일 progesterone 12.5mg씩을 근육주사하였다.

## 요약

저자는 최근 난관인자에 의한 불임부인에 clomiphene citrate와 hMG를 사용하여 과배란 유도를 시행하고, 6개의 성숙된 배란직전의 난자를 체취하여 체외수정 시킨후에 2개의 2세포기, 한개의 4세포기의 배아를 자궁내 이식하여, 이식후 11일째 날  $\beta$ -hCG 12.59mIU/ml의 preclinical pregnancy를 경험하였기에 문현고찰과 함께 보고하는 바이다.

## 참 고 문 헌

1. Edwards RG: Maturation in vitro of human ovarian oocytes. *Lancet* 1965; 2: 926-927.
2. Edwards RG, Steptoe PC, Purdy JM: Establishing full term human pregnancies using cleaving embryos grown in vitro. *Br J Obstet Gynecol* 1980; 87: 737-738.
3. Trounson AO, Mohr LR, WOO DC, et al: Effect of delayed insemination on in vitro fertilization, culture. *J Reprod fertil* 1982; 64: 285-286.
4. Garcia JE, Jones GS, Acosta AA, et al: Human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin follicular maturation for oocyte aspiration Phase II. *Fertil Steril* 1983; 39: 174-175.
5. Jones HW Jr, Jones GS, Andrews MC, et al: The program for in vitro fertilization at Norfolk. *Fertil Steril* 1982; 38: 14-15.
6. Sandow BA: Characteristics of human oocytes aspirated for in vitro fertilization. *Infertil* 1983; 6: 143-144.
7. Jones HW Jr, Acosta AA, Garcia JE: On the transfer of conception from oocytes fertilized in vitro. *Fertil Steril* 1983; 39: 241-242.
8. McLaren A, Biggers J: Successful development and birth of mice cultivated in vitro as early embryos. *Nature* 1959; 182: 877-878.
9. Chang MC: Fertilization of rabbit ova in vitro. *Nature* 1959; 184: 466-467.
10. Steptoe PC, Edwards RG: Reimplantation of a human with subsequent tubal pregnancy. *Lancet* 1976; 1: 880-881.
11. Lopata A: Concepts in human in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 1983; 40: 289-290.
12. Marrs PR, Vargyas JM, Gibbons WE, et al: A Modified technique of human in vitro fertilization and embryo transfer. *Am J Obstet Gynecol* 1983; 141: 318-325.
13. Jones HW Jr, Jones GS, Andrews MC, et al: The program for in vitro fertilization at Norfolk. *Fertil Steril* 1982; 38: 14-19.
14. 장윤석, 이진용, 문신용, 김정구: 인간 난자의 체외수정 및 배아의 자궁내 이식에 의한 임신 및 분만. 대한산부인과학회 잡지 1986; 29: 354-361.
15. Lopata A: Concepts in human in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 1983; 40: 289-290.
16. Wikland M, Nilsson L, Hansson R, et al: Collection of human oocytes by the use of sonography. *Fertil Steril* 1983; 39: 603-604.
17. Trounson AQ, Wood C: In vitro fertilization results 1972-1982 at MONASH University, Queen Victoria and Epworth Medical Centers. *J In Vitro Fert Embryo Transfer* 1984; 1: 42-43.
18. Marrs RP, Vargyas JM, Gibbons WE, et al: A modified technique of human in vitro fertilization and embryo transfer. *Am J Obstet Gynecol* 1983; 141: 329-330.
19. Robert DV, Harold AM, Marry Hagger RW: In vitro fertilization in community hospital. *Fertil Steril* 1985; 44: 822-823.
20. Mark IE, Anill BM, Joseph DS: Human in vitro fertilization. *Obstet Gynecol Surv* 1980; 35: 71-72.
21. 구병삼, 유동화, 이규완, 나중열, 홍성봉: 체외수정과 배아식에 의한 임신 성공예에 관한 연구. 대한불임학회 잡지 1986; 13: 121-127.
22. Jones III HW, Wentz AC, Burnett LS: *Novak's Textbook of Gynecology*, ed 11. Baltimore, Hong Kong, London, Sydney, Williams & Wilkins Co, 1988, p 299.
23. Trounson A: Factors controlling normal embryo development and implantation of human oocytes fertilized in vitro, in Beier HM, Lindner HR(eds) *Fertilization of the Human Egg in Vitro: biological basis and clinical applications*. Berlin, Heiderberg, New York, Springer-Verlag, 1983, p 233.
24. Steptoe PC, Edwards RG, Purdy JM: Clinical aspects of pregnancies established with cleaving embryos grown in vitro. *Br J Obstet Gynecol* 1980; 87: 757-758.
25. Lopata A, Kellow GN, Johnston WIH, et al: Human embryo transfer in the treatment of infertility. *Aust NZ J Obstet Gynecol* 1981; 21: 156-157.
26. Graft I, McLeod F, Green S, et al: Human pregnancies following oocyte and sperm transfer to the uterus. *Lancet* 1982; 1: 1031-1032.
27. Kerin JFP, Warner GM, Broom TJ, et al: A simple technique for human embryo transfer into the uterus. *Lancet* 1981; 1: 726-727.
28. Alan T, Donna H, Peter R, et al: The effect of progesterone supplementation around the time of oocyte recovery in patient superovulated for IVF. *Fertil Steril* 1986; 45: 532-533.
29. Garcia J, Jones GS, Acosta AA, et al: Corpus luteum function after follicle aspiration for oocyte retrieval. *Fertil Steril* 1981; 36: 565-566.