

İntrasitoplazmik Sperm İnjesiyonu Sikluslarında İptal Nedenleri

Our Reasons for Cancellation During Intracytoplasmic Sperm Injection Cycles

Zehra Sema ÖZKAN, Mustafa EKİNCİ, Hüseyin TİMURKAN, Ekrem SAPMAZ

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Elazığ

Özet

Amaç: Yardımcı üreme teknikleri (YÜT) ile tedaviye alınan çiftlerde tedavinin yarıda bırakılması nadir görülen bir durum değildir. Stimülasyonun yarıda bırakılması veya embriyo transferine gidilememesi birçok farklı nedene bağlı olabilir. Bu yazıda Tüp Bebek Ünitemizde iptale giden olgularımızın özelliklerini irdeledik.

Gereç ve Yöntem: Hastanemiz Tüp Bebek Ünitesi'nde Mayıs 2010-Ekim 2012 tarihleri arasında tedaviye alınan 554 çiftin kontrollü overyan hiperstimülasyon-intrasitoplazmik sperm injeksiyonu (KOH-ICSI) tedavilerinin geriye dönük analizi yapıldı.

Bulgular: KOH-ICSI siklusuna alınan 554 çiftin 71'inde embriyo transferi yapılamadı. Bu 71 olgunun ortalama kadın yaşı, infertilite süresi ve daha önceki deneme sayıları sırasıyla 34.2 ± 6.1 yıl, 9.4 ± 6.7 yıl ve 1.4 ± 0.7 idi. Otuz bir olgu ile iptalin en sık sebebi testiküler sperm ekstraksiyonunda (TESE) sperm bulunamaması idi. Ardından 17 total fertilizasyon başarısızlığı ve sekiz boş folikül sendromu olguları ikinci ve üçüncü en sık iptal nedenleri idi. Geriye kalan 15 olgunun iptal nedenlerini ise matür oosit yokluğu (n=6), folikül gelişiminin olmaması (n=2), fragmanlı embriyo (n=3), overyan hiperstimülasyon sendromu (n=1), prematür luteinizasyon (n=1), prenatal genetik tanıda sağlıklı embriyo olmaması (n=1) ve kemoterapi öncesi total embriyo dondurulması (n=1) olarak tespit ettik.

Sonuç: ICSI sikluslarında en sık iptal nedeni TESE'de sperm çıkmayan azoospermi olguları olarak görünmektedir.

Anahtar sözcükler: ICSI; kontrollü overyan hiperstimülasyon; siklus iptali; TESE.

Summary

Background: Cycle cancellation is not a rare condition during assisted reproductive treatments. Cancellation of ovarian stimulation or embryo transfer may happen for different reasons. In this study we researched the characteristics of cancelled cycles that were performed in our in vitro fertilization (IVF) center.

Methods: The 554 controlled ovarian hyperstimulation- intracytoplasmic sperm injection (COH-ICSI) cycles performed during May 2010- October 2012 in our IVF Center were retrospectively analyzed.

Results: Among 554 COH-ICSI cycles, embryo transfer could not be performed in 71 cycles. Mean female age, infertility duration and previous cycle number of couples were 34.2 ± 6.1 years, 9.4 ± 6.7 years and 1.4 ± 0.7 respectively. The majority of cycle cancellation cases consisted of sperm absence after testicular sperm extraction (TESE) procedure. The second and third cancellation factors were total fertilization failure (n=17) and empty follicle (n=8), respectively. The remaining 15 cycle cancellation causes were as follows: absence of mature oocyte (n=6), absence of follicular development (n=2), fragment embryo (n=3), ovarian hyperstimulation syndrome (n=1), premature luteinization (n=1), absence of normal embryo after prenatal genetic diagnosis (n=1) and total embryo freezing before chemotherapy (n=1).

Conclusion: It was seen that our major factor of cycle cancellation in ICSI-ET cycles was sperm absence after TESE procedure.

Key words: ICSI; controlled ovarian hyperstimulation; cycle cancellation; TESE.

İletişim: Dr. Zehra Sema Özkan.
Fırat Üniversitesi Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum
Anabilim Dalı, 23119 Elazığ
Tel: 0424 - 237 11 80

Başvuru tarihi: 15.06.2013
Kabul tarihi: 21.08.2013
Online baskı: 20.11.2014
e-posta: zehrasema@yahoo.com



Giriş

Günümüzde yardımcı üreme teknikleri (YÜT) kullanılarak infertilite probleminin üstesinden gelinmeye çalışılmaktadır. Infertilite tedavisinin temel başarı göstergesi klinik gebelik oranı ve canlı doğumun komplikasyonsuz gerçekleşmesidir. Gebelik eldesi için başlanan tedavi süreci yarıda kesilebilmektedir.^[1] Tedavinin kesilmesine sebep embriyo transferinin (ET) gerçekleştirilememesidir. ET iptal sebepleri multifaktöryel olup, bu durum infertilite etiyojisinin kompleks ve YÜT'nin iatrojenik komplikasyonlara yatkın olmasından ileri gelmektedir. Bugün oosit eldesi için uygulanan stimülasyon tedavileri kimi hasta için overyan hiperstimülasyon sendromu (OHSS), kimi hasta için ise foliküler gelişimin olmaması riski taşımaktadır.^[1,2] Bu yüzden YÜT siklusuna başlanırken infertil çiftin özelliklerine en uygun tedavi protokolü seçilmektedir.^[3] Sperm eldesinin ejakulattan mümkün olmadığı erkek faktöründe başvuru testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE) prosedüründe sperm çıkmama riski bulunmaktadır.^[4] Oosit ve sperm eldesinde bir problemle karşılaşılması sağlıklı ET'ye gidiş olacağına göstergesi değildir. Fertilizasyon ve sonrasındaki süreç canlı doğuma ulaşmada önemli rol oynamaktadır. Fertilizasyonun gerçekleşmemesi ve embriyoner gelişimin duraklaması ET iptaline götüren bir diğer sebep grubudur. Görüldüğü üzere fertilitate beklentisi ile yola çıkan bu süreçte tedavinin yarıda bırakılmasına sebep olacak birçok faktör bulunmaktadır.

Bu çalışmada, hastanemiz Tüp Bebek Merkezi'nde tedavilerine başlanıp yarıda bırakılan çiftlerin siklus özelliklerini incelemeyi amaçladık.

Hastalar ve Yöntem

Bu geriye dönük çalışmada Tüp Bebek Merkezi'mize Mayıs 2010-Ekim 2012 tarihleri arasında başvuran ve kontrollü overyan hiperstimülasyon-intrasitoplazmik sperm injeksiyonu (KOH-ICSI) siklusuna alınan 554 çiftin tedavi sonuçları incelenerek siklus iptaline giden 71 olgunun dosyası incelendi.

Çiftler Tüp Bebek Ünitimizde yapılan infertilite incelemelerinin ardından KOH-ICSI kararı verilerek bir sonraki aşamaya geçtiler. Yapılan infertilite incelemeleri şöyle sıralanabilir: erkekte üç-beş günlük cinsel perhizi takiben spermogram tahlili; kadında menstrüel siklusun üçüncü günü (D3) yapılan jinekolojik muayene ve transvajinal ultrasonografiyi takiben folikül stimulan hormon (FSH), lüteinizan hormon (LH), tiroid stimulan

hormon (TSH), estradiol (E2) ve prolaktin serum düzeylerine bakılmasıdır. Uterin kavite ve tubal pasajın değerlendirimi için yerine göre histerosalpingografi veya ofis histeroskopi yapıldı. Azoospermi veya ciddi oligospermi saptanan hastalarda kromozom analizi ve Y kromozom mikrolelesyon genetik incelemeleri yapıldı. Yapılan incelemelerin ardından KOH-ICSI siklusuna alınan hastalar gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) agonist veya antagonist protokolüne göre stimülasyona alındı. Stimülasyona hastanın over kapasitesine göre rekombinant FSH, human menopozal gonadotropin veya letrozol ile menstrüel siklusun ikinci ya da üçüncü günü başlandı. En az üç tane 17 mm ve üstü folikül varlığında final maturasyon için rekombinant human koryonik gonadotropin (hcG) injeksiyonu uygulandı. HcG uygulamasının 35/36. saatinde oosit pick-up (OPU) işlemi ile yumurtalar toplandı. Ardından ejakulat veya TESE spermeleri ile ICSI işlemi yapıldı. ICSI'yi takip eden üçüncü veya beşinci gün ET yapıldı. Kadın yaşı, erkek yaşı, infertilite süresi, over kapasitesi, stimülasyon süresi, spermogram özellikleri, sperm elde etme yöntemleri, toplanan oosit sayısı, matür oosit sayısı, fertilize oosit sayısı, erkek karyotip analizi ve Y mikrolelesyon sonuçları incelendi. Çalışmadaki ana veri siklus iptal nedenleridir. Veriler SPSS 15.0 paket programı (Inc., Chicago, USA) kullanılarak bilgisayar ortamına aktarıldı. Sürekli değişkenler datanın dağılım özelliğine göre Student's t-test veya Mann Whitney U-test ile, kategorik değişkenler ise ki kare veya Fisher kesin testi ile değerlendirildi. P<0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Dosyaları incelenen 554 çiftin ortalama kadın yaşı, erkek yaşı, infertilite süresi, daha önceki tüp bebek deneme sayısı, D3 FSH düzeyi, TSH düzeyi ve antral folikül sayısı sırasıyla 31.9.2±5.6 yıl, 35.3±6 yıl, 6.6±4.9 yıl, 1.6±0.9, 7.7±6 mIU/mL, 1.6±0.9 mIU/mL ve 11.1±7.3 idi. Bu 554 çiftin 71'ine ET yapılmadı. ET yapılan ve yapılmayan çiftlerin klinik özellikleri Tablo 1'de sunuldu. Karşılaştırmada ET yapılmayan çiftlerde kadın yaşı, erkek yaşı, infertilite süresi, beden kitle indeksi ve D3 FSH düzeyi ET yapılan çiftlerden daha yüksek (p<0.05); antral folikül sayısı ise daha düşük (p<0.05) idi. ET yapılmayan grupta total oosit sayısı, matür oosit sayısı ve fertilize oosit sayısı ET yapılan gruptan daha düşük idi (p<0.01). ET yapılmayan grupta TESE oranı %47 iken; ET yapılan grupta bu oran %6 idi. TESE yapılan 62 olgunun 31'inde sperm elde edildi (%50).

Tablo 1. Tüm olguların klinik özellikleri

Parametre	Emriyo transferi (-) (n=71)			Emriyo transferi (+) (n=483)			p
	n	%	Ort.±SS	n	%	Ort.±SS	
Kadın yaşı (yıl)			34.2±6.1			31.5±5.5	<0.01
Erkek yaşı (yıl)			37.4±7.2			35.1±5.7	<0.01
İnfertilite süresi (yıl)			9.4±6.7			6.2±4.5	<0.01
Daha önceki deneme sayısı			1.4±0.7			1.6±1	0.07
Vücut kitle indeksi (kg/m ²)			26.9±5.1			25.5±4.5	0.01
D3 FSH (mIU/mL)			10.7±8.8			7.2±5.3	<0.01
Antral folikül sayısı			4.6±4.4			11.9±7.3	<0.01
Tiroid stimulan hormon (mIU/mL)			1.5±0.5			1.6±0.8	0.76
Sperm elde etme yöntemi							
Ejakulat	37	53		455	94		<0.01
TESE	34	47		28	6		<0.01
Total oosit sayısı			7±7.4			12.7±8.1	<0.01
Matür oosit sayısı			3.1±4.7			9.5±6.7	<0.01
Fertilize oosit sayısı			2.2±4.3			7±5.1	<0.01

FSH: Folikül stimulan hormon; TTESE: Testiküler sperm ekstraksiyonu; D3: Menstrüel siklusun üçüncü günü.

Embriyo transferi yapılmayan 71 olgunun iptal nedenleri; TESE'de sperm çıkmaması (31 olgu), total fertilizasyon başarısızlığı (17 olgu), boş folikül (8 olgu), matür oosit yokluğu (6 olgu), folikül gelişiminin olmaması (2 olgu), fragmanlı embriyo (3 olgu), overyan hiperstimülasyon sendromu (1 olgu), prematür luteinizasyon (1 olgu), prenatal genetik tanıda sağlıklı embriyo olmaması (1 olgu) ve kemoterapi öncesi total embriyo dondurulması (1 olgu) olarak tespit edildi.

Testiküler sperm ekstraksiyonunda sperm çıkmayan 31 olgunun sadece 22'sinde genetik analiz sonuçları mevcut idi. Bunların periferik karyotip sonuçları ise 46XY (12 olgu), 47XXY (9 olgu) ve 46XY t(19:10) (1 olgu) şeklinde idi ve 22 olgunun hiçbirinde Y kromozom mikrodelsiyonu tespit edilmedi.

Tartışma

Çalışmamızda siklus iptaline götüren en sık sebep TESE'de sperm çıkmaması idi. Bunu total fertilizasyon başarısızlığı ve boş folikül takip etti. Popülasyonumuza özgü olarak TESE'de sperm bulunamayan hastalarda Y kromozom mikrodelsiyonu yok idi. Choi ve ark. yaptıkları çalışmalarında 213 azoospermik olguda TESE sonrası sperm elde etme oranını yaklaşık %26 olarak bildirmişlerdir. Sperm elde etme oranları Y kromozom mikrodelsiyon varlığında %26.6 iken, delesyon

olmayan olgularda ise %25.6 oranında bildirilmiştir (p=0.29).^[5] Bizim çalışmamızda sperm elde etme oranı ise %50 idi. Bizdeki sperm elde etme oranının yüksekliği popülasyonumuzun küçüklüğünden ve Y mikrodelsiyonu olmayışından ileri gelebilir. Dadkhah ve ark. TESE yapılan 741 azoospermik olguda tek biyopsi sonrası sperm bulma oranını %44.5, çoklu biyopsiler sonrası ise %59.5 olarak bildirmişlerdir.^[6]

Azoospermi, infertilite tanısıyla araştırılan çiftlerin yaklaşık %5'inde tespit edilen bir patolojidir. Obstrüktif ve nonobstrüktif olmak üzere etiyolojik iki gruba ayrılır. Nonobstrüktif olan grupta sperm elde etmek için TESE işlemine ihtiyaç vardır.^[7] Zádori ve ark. TESE'de sperm bulunamayan nonobstrüktif azoospermi olgusunda işlemden altı saat sonra ejakulatta görülen motil spermatozoa ile gebelik eldesi ve canlı doğum rapor etmiştir.^[7] Madgar ve ark. nonmozaik Klinefelter Sendrom'lu 20 azoospermi olgusunda TESE sonrası sperm bulma oranını %45 olarak bildirmişlerdir.^[8] Bizim çalışma popülasyonumuzdaki 554 çiftin içinde sadece dokuz nonmozaik Klinefelter Sendrom'lu olgu mevcut idi ve bunlarda sperm bulma oranımız %11 (1/9) idi.

Nikolettos ve ark. obstrüktif ve nonobstrüktif azoospermili 20 erkek ve bunların azalmış over rezervli eşleri ile yaptıkları çalışmalarında, epididimal veya testiküler elde edilen spermleri dondurmanın, overyan foliküler

gelişim olmaması nedeniyle gelişebilecek siklus iptaline karşı alınabilecek bir tedbir olduğunu bildirmişlerdir.^[9] Bizim çalışmamızda da iki olguda (%3.8) folikül gelişimi olmadığı için siklus iptal edildi. ICSI siklusuna alınan çiftlerin hem kadın hem erkek özelliklerine bağlı olarak ICSI'yi mümkün kılacak ve kılamayacak sonuçlar ortaya çıkabilmektedir.

İntrasitoplazmik sperm injeksiyonunun yüksek başarı oranına rağmen total fertilizasyon başarısızlığı halen ICSI sikluslarının %1-3'ünü etkilemektedir.^[10] Bu durum hem oosit hem de sperm aktivasyon probleminden ileri gelebilir. Bu problemi aşmak için sperm ve oosit aktive edici yöntemler denenmektedir. Lu ve ark. oligoastenoteratospermi ve fertilizasyon başarısızlığı endikasyonu ile ikinci siklus stimülasyon tedavisine aldıkları olgunun bir günlük döllenmemiş sekiz oositine kalsiyum iyonofor A23187 aktivasyonu uygulayarak döllenmeyi sağladıklarını ve ET'yi takiben canlı doğum gerçekleştirdiğini rapor etmişlerdir.^[11] Ebner ve ark. da 29 azospermi ve 37 kriptozoospermili olguda ICSI'nin hemen ardından uygulanan kalsiyum iyonofor (GM508 Cult-Active) aktivasyonu ile fertilizasyon, implantasyon ve canlı doğum oranlarının arttığını bildirmişlerdir.^[12] Fertilizasyon başarısızlığında kullanılan bir diğer test ise fare oositi aktivasyon testidir (FOAT). Hastalar teste göre grup 1 FOAT'de düşük aktivasyon, grup 2 FOAT'de orta aktivasyon ve grup 3 FOAT'de yüksek aktivasyon gösterenler şeklinde üç gruba ayrılmaktadır. Grup 3'te sperm kökenli problemin kalsiyum iyonofor aktivasyonu ile aşılabileceği ihtimali mevcutken, grup 1'de oosit kökenli problemi aşmak için henüz yapılabilecekler kısıtlıdır.^[10] Buffalo yumurtalarında yapılan bir çalışmada ICSI öncesi spermin ditiyotreitil ile muamelesinin sperm pronukleus aktivasyonunu artırdığı gösterilmiştir.^[13] Normal sperm parametrelerine rağmen tekrarlayan fertilizasyon başarısızlığı gösteren çiftlerde ICSI için hyaluronik asit bağlanma özelliğine göre sperm seçmenin tedavi sonuçlarını iyileştirmediği belirtilmiştir.^[14] Başka bir çalışmada da DNA fragmentasyonu %30'un üzerinde olan hastalarda, yüksek magnifikasyon altında nükleer morfolojisi normal olan spermi seçerek ICSI işlemi yapmanın tekrarlayan fertilizasyon başarısızlığını aşmaya yardımcı olmadığı bildirilmiştir.^[15] Bizim popülasyonumuzda literatür ile uyumlu olarak %3 oranında fertilizasyon başarısızlığı gözlemlendi.

Olumlu foliküler yanıt izlenmesine rağmen oosit toplama işleminde oosit elde edilememesi yani boş folikül sendromu %0.2-7 oranında görülen bir YÜT çıkmazdır.^[16,17] Yanlış hCG uygulaması ve hCG farmakolojik özel-

liklerinde bozulma şeklinde açıklanabilir etiolojisi olduğu gibi hiçbir sebebin bulunmadığı durumlar da olmaktadır.^[18] Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) antagonisti sikluslarında endojen LH salınımı için GnRH agonisti kullanıldığında boş folikül sendromuyla karşılaşma oranı %1.4 oranında bildirilmektedir.^[19] Bizim çalışmamızda tüm final oosit maturasyonu rekombinant hCG ile yapıldı ve boş folikül sendromu oranımız %1.4 idi. Castillo ve ark. final oosit maturasyonu için GnRH agonisti uygulanan 2034 oosit donasyon siklusu ile hCG uygulanan 1433 ICSI siklusunu boş folikül sendromu açısından kıyasladıkları çalışmalarında sırasıyla %3.5 ve %3.1 şeklinde benzer oranlar tespit etmişlerdir.^[20] Baum ve ark. yaptıkları geriye dönük analizde, tekrarlayan boş folikül sendromu için yüksek FSH düzeyi, ileri kadın yaşı, hCG günü estradiol seviye düşüklüğü ve uzun infertilite süresini risk faktörü olarak bildirmiş ve tekrarlama oranını %15.8 olarak rapor etmişlerdir.^[21]

Prematür lüteinizasyon, hCG günü progesteron seviyesinin yükselmesi olarak kabul edilmekte ve IVF üzerine olumsuz etki edip etmediği hala tartışmalıdır.^[22] Çalışmalarda prematür lüteinizasyon tanısında kabul edilen progesteron değeri 0.8-2 ng/mL arasında değişkenlik gösterdiği için insidansı %13-71 gibi geniş bir varyasyon göstermektedir.^[23] IVF sikluslarında etiolojisi hala net olmamakla beraber progesteron seviyesi 1 ng/mL'i geçtiğinde hCG yapılması ve mifepriston kullanılması önerilmektedir.^[23] Sönmezer ve ark. antagonist protokol uygulanan prematür LH ve progesteron yükselmesi gözledikleri iki hastalarında hem matür oosit elde ettiklerini hem de iyi kalitede embriyo geliştirdiklerini bildirmişlerdir.^[24] Bizim çalışmamızda da %1.4 oranında prematür lüteinizasyon gözledik.

Çalışmamızda daha nadir oranlarda siklus iptaline götüren matür oosit yokluğu, foliküler gelişimin olmaması ve fragmanlı embriyo daha çok düşük over rezervli hastalarımızda gördüğümüz durumlardır. İleri kadın yaşı beraberinde hem azalmış over rezervini hem de oosit kalitesinde bozulmayı getirmektedir. Sonuç olarak IVF siklusuna başlanırken bu özelliklerin çiftlerle paylaşılması ET iptali ile karşılaşıldığında yaşanacak yıkımı biraz daha kabul edilebilir kılacaktır.

Çıkar Çatışması

Yazar(lar) çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

Kaynaklar

1. Balayla J, Granger L, St-Michel P, Villeneuve M, Fontaine

- JY, Desrosiers P, et al. Rescue in vitro fertilization using a GnRH antagonist in hyper-responders from gonadotropin intrauterine insemination (IUI) cycles. *J Assist Reprod Genet* 2013;30(6):773-8. [CrossRef](#)
2. Prapas Y, Petousis S, Dagklis T, Panagiotidis Y, Papatheodorou A, Assunta I, et al. GnRH antagonist versus long GnRH agonist protocol in poor IVF responders: a randomized clinical trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013;166(1):43-6. [CrossRef](#)
 3. Mohsen IA, El Din RE. Minimal stimulation protocol using letrozole versus microdose flare up GnRH agonist protocol in women with poor ovarian response undergoing ICSI. *Gynecol Endocrinol* 2013;29(2):105-8. [CrossRef](#)
 4. Xiao Z, Zhou X, Xu W, Yang J. A preliminary study of the relationship between the long arm of the Y chromosome (Yqh+) and reproductive outcomes in IVF/ICSI-ET. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012;165(1):57-60. [CrossRef](#)
 5. Choi DK, Gong IH, Hwang JH, Oh JJ, Hong JY. Detection of Y Chromosome Microdeletion is Valuable in the Treatment of Patients With Nonobstructive Azoospermia and Oligoasthenoteratozoospermia: Sperm Retrieval Rate and Birth Rate. *Korean J Urol* 2013;54(2):111-6. [CrossRef](#)
 6. Dadkhah F, Hosseini SJ, Sadighi Gilani MA, Farrahi F, Amiri E, Kazeminejad B. Optimal number of biopsies and impact of testicular histology on the outcome of testicular sperm extraction. *Urol J* 2013;10(1):795-801.
 7. Zádori J, Pál A, Kaáli SG. Isolation of ejaculated spermatozoa six hours after unsuccessful testicular biopsy in nonobstructive azoospermia. *J Assist Reprod Genet* 2003;20(4):160-2. [CrossRef](#)
 8. Madgar I, Dor J, Weissenberg R, Raviv G, Menashe Y, Levron J. Prognostic value of the clinical and laboratory evaluation in patients with nonmosaic Klinefelter syndrome who are receiving assisted reproductive therapy. *Fertil Steril* 2002;77(6):1167-9. [CrossRef](#)
 9. Nikolettos N, Al-Hasani S, Demirel C, Küpker W, Bals-Pratsch M, Sandmann J, et al. Outcome of ICSI cycles using frozen-thawed surgically obtained spermatozoa in poor responders to ovarian stimulation: cancellation or proceeding to ICSI? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000;92(2):259-64. [CrossRef](#)
 10. Vanden Meerschaut F, Nikiforaki D, De Gheselle S, Dullaerts V, Van den Abbeel E, Gerris J, et al. Assisted oocyte activation is not beneficial for all patients with a suspected oocyte-related activation deficiency. *Hum Reprod* 2012;27(7):1977-84. [CrossRef](#)
 11. Lu Q, Chen X, Li Y, Zhang XH, Liang R, Zhao YP, et al. A live birth of activated one-day-old unfertilized oocyte for a patient who experienced repeatedly near-total fertilization failure after intracytoplasmic sperm injection. *Chin Med J (Engl)* 2012;125(3):546-8.
 12. Ebner T, Köster M, Shebl O, Moser M, Van der Ven H, Tews G, et al. Application of a ready-to-use calcium ionophore increases rates of fertilization and pregnancy in severe male factor infertility. *Fertil Steril* 2012;98(6):1432-7. [CrossRef](#)
 13. Chankitisakul V, Am-In N, Tharasanit T, Somfai T, Nagai T, Techakumphu M. Sperm pretreatment with dithiothreitol increases male pronucleus formation rates after intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in swamp buffalo oocytes. *J Reprod Dev* 2013;59(1):66-71.
 14. Choe SA, Tae JC, Shin MY, Kim HJ, Kim CH, Lee JY, et al. Application of sperm selection using hyaluronic acid binding in intracytoplasmic sperm injection cycles: a sibling oocyte study. *J Korean Med Sci* 2012;27(12):1569-73. [CrossRef](#)
 15. Check JH, Bollendorf A, Summers-Chase D, Yuan W, Horwath D. Isolating sperm by selecting those with normal nuclear morphology prior to intracytoplasmic sperm injection (ICSI) does not provide better pregnancy rates compared to conventional ICSI in women with repeated conception failure with in vitro fertilization. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2013;40(1):15-7.
 16. Kim JH, Jee BC. Empty follicle syndrome. *Clin Exp Reprod Med* 2012;39(4):132-7. [CrossRef](#)
 17. Smisha M, Sankar K, Thomas B, Varma TR. Recurrent genuine empty follicle syndrome. *J Hum Reprod Sci* 2011;4(3):147-9. [CrossRef](#)
 18. Mesen TB, Yu B, Richter KS, Widra E, DeCherney AH, Segars JH. The prevalence of genuine empty follicle syndrome. *Fertil Steril* 2011;96(6):1375-7. [CrossRef](#)
 19. Kummer NE, Feinn RS, Griffin DW, Nulsen JC, Benadiva CA, Engmann LL. Predicting successful induction of oocyte maturation after gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa) trigger. *Hum Reprod* 2013;28(1):152-9.
 20. Castillo JC, Garcia-Velasco J, Humaidan P. Empty follicle syndrome after GnRHa triggering versus hCG triggering in COS. *J Assist Reprod Genet* 2012;29(3):249-53. [CrossRef](#)
 21. Baum M, Machtinger R, Yerushalmi GM, Maman E, Seidman DS, Dor J, et al. Recurrence of empty follicle syndrome with stimulated IVF cycles. *Gynecol Endocrinol* 2012;28(4):293-5. [CrossRef](#)
 22. Melo MA, Meseguer M, Garrido N, Bosch E, Pellicer A, Remohí J. The significance of premature luteinization in an oocyte-donation programme. *Hum Reprod* 2006;21(6):1503-7. [CrossRef](#)
 23. Elnashar AM. Progesterone rise on the day of HCG administration (premature luteinization) in IVF: an overdue update. *J Assist Reprod Genet* 2010;27(4):149-55. [CrossRef](#)
 24. Sönmez M, Pelin Cil A, Atabekoğlu C, Ozkavukçu S, Özmen B. Does premature luteinization or early surge of LH impair cycle outcome? Report of two successful outcomes. *J Assist Reprod Genet* 2009;26(2-3):159-63. [CrossRef](#)