

SPERM HAZIRLIĞI İLE İNTRAUTERİN İNSEMINASYON ARASI SÜRENİN GEBELİK ORANLARINA ETKİSİ

Esra Bulgan KILIÇDAĞ

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

ÖZET

Amaç: Yaygın olarak kullanılan intrauterin inseminasyon (IUI) sikluslarında semen hazırlama ve IUI arasındaki sürenin IUI sonuçlarına etkisini prospektif olarak araştırmayı amaçladık.

Gereç ve yöntem: Ocak 2011- Aralık 2011 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü, YÜT merkezinde IUI programına alınan 1125 siklus prospektif olarak değerlendirmeye alınmıştır.

Bulgular: Çalışmaya alınan 1125 siklusun 202'sinde <30 dk, 367 'sinde 30-59 dk, 381'inde 60-89dk, 114'ünde 90-119dk, 61'inde 120-180 dk içerisinde IUI uygulandığı, bu gruplarda sırasıyla gebelik oranlarının %4.5,%7.9,%11,%8.8, ve %11.5 olduğu tespit edildi. Bu nedenle 30 dakikada yapılan IUI'lar ile diğer sikluslar toplam olarak tekrar analiz edildiğinde aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı düzeye eriştiği izlendi (%4.5 vs %9.5)(p: 0.01). IUI başarısında önemli prediktörlerden biri olan insemine edilen total motil sperm sayısının 10 milyon üzerinde olduğu sikluslarda da gebelik oranları ilk 30 dakikada IUI yapılanlarda istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük tespit edildi (%5.2 vs %10.1)(p: 0.024).

Yorum: Sperm hazırlandıktan sonra IUI sikluslarında spermin 37 C de en az yarım saat bekletilmesi optimum gebelik oranlarını sağlamakta ve 180 dakikaya kadar olan bekleme süreleri sonuçları olumsuz etkilememektedir.

Anahtar kelimeler: gebelik oranları, IUI, sperm yıkama, zamanlama

Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi, (J Turk Soc Obstet Gynecol), 2012; Cilt: 9, Sayı: 3, Sayfa: 159- 63

SUMMARY

THE EFFECT OF INTERVALS FROM SPERM WASH TO INTRA UTERINE INSEMINATION (IUI) TIME ON PREGNANCY RATE

Background: The aim of our study was to assess the influence of intervals from sperm wash to intra uterine insemination on the IUI outcome.

Material and methods: This was prospective study of 1125 cycles in Obstetrics and Gynecology Department of Baskent University Medical Faculty between January 2011 and December 2011.

Results: In totally 1125 cycles IUI performed within < 30 minute in 202 cycle, 30-59 minute in 367 cycle, 60-89 minute in 381 cycle, 90-119 minute in 114 cycle, 120-180 minute in 61 cycle. Pregnancy rate was %4.5,%7.9,%11,%8.8, ve %11.5 respectively. We reanalyzed <30 minutes and other groups again we found that the difference reached statically significant level (%4.5 vs %9.5)(p: 0.01). In good prognostic patients with total motile sperm count was $\geq 10 \times 10^6$, pregnancy rates were lower in patients whose inseminated in <30 minute than the others (%5.2 vs %10.1)(p: 0.024).

Conclusion: The results of our study showed that if a washing sperm can be incubated minimum 30 minute at 37 C the pregnancy rate is optimum. The longer period up to 180 minute doesn't compromise the pregnancy rate.

Key words: IUI, pregnancy rates, sperm wash, timing

Journal of Turkish Society of Obstetrics and Gynecology, (J Turk Soc Obstet Gynecol), 2012; Vol: 9, Issue: 3, Pages: 159- 63

Yazışma adresi: Doç. Dr. Esra Bulgan Kılıçdağ, Gazipaşa mah. Baraj cad. no. 7 Seyhan, Adana

Tel.: (0532) 673 57 54

e-posta: ebkilicdag@hotmail.com

Alındığı tarih: 20.02.2012, revizyon sonrası alınma: 19.03.2012, kabul tarihi: 20.03.2012, online yayın tarihi: 22.03.2012

GİRİŞ

Tüm dünyada çok yaygın olarak kullanılan yardımla üreme tekniği olan intrauterin inseminasyon (IUI), diğer yardımla üreme tekniklerine göre daha ucuz ve daha az invaziv bir yöntem olmasıyla öne çıkmaktadır⁽¹⁾. İntrauterin inseminasyon hafif- orta şiddette erkek faktörü, açıklanamayan infertilite, servikal faktör ve ovulatuvar problemlerde yaygın olarak kullanılmaktadır⁽²⁾. Maternal yaş, infertilite nedeni, uterin faktör, sperm parametreleri, endometriozis varlığı, siklus sayısı, ovulasyon indüksiyon ajanları gibi pek çok faktör IUI başarısı için prognostik faktör olarak incelenmiştir⁽³⁻⁷⁾. Ancak IUI ile gebelik oranlarını etkileyebilecek diğer parametrelerden semenin verildiği yer (ev, klinik)semen verilmesi ile semeni hazırlama arasındaki süre, semen hazırlama ve IUI arasındaki sürenin IUI sonuçlarına etkisi ile ilgili literatürde sınırlı sayıda çalışma olduğu dikkati çekmektedir⁽⁸⁻¹¹⁾. Retrospektif bir çalışmada klinik yerine evde semen vermenin, semen verme ile semeni hazırlama arasındaki sürenin 30 dk'dan 60 dk'ya çıkmış olmasının, semen hazırlama ve IUI arasındaki sürenin 90 dk'dan 120 dk'ya çıkarılmasının hMG-IUI sikluslarında gebelik oranlarını anlamlı olarak azalttığı rapor edilmiştir⁽¹¹⁾. Başka bir çalışmada ise evde semen vermenin ve uzamış transport zamanının gebelik oranlarını etkilemediği bulunmuştur⁽¹⁰⁾. Biz kliniğimizde tüm IUI sikluslarında semenin klinikte verilmesini istiyoruz. Ancak semenin hazırlanması ve IUI arasındaki süreler pek çok faktöre bağlı olarak (kliniğin ve androloji laboratuvarının yoğunluğu, hastanın geliş saati gibi) değişkenlik gösterebilmektedir.

Bu çalışmamızda semen hazırlama ve IUI arasındaki sürenin IUI sonuçlarına etkisini prospektif olarak araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Ocak 2011- Aralık 2011 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü, YÜT merkezinde IUI programına alınan sikluslar prospektif olarak değerlendirmeye alınmıştır. Bu çalışma için Başkent Üniversitesi Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır. (Proje no: KA10/166). Açıklanamayan infertilite ya da hafif erkek faktörü nedeniyle gonadotropinlerle kontrollü ovarian hiperstimülasyon

ve IUI planlanan hastaların ilk iki tedavi siklusu çalışma kapsamına alındı. Bazal FSH değerleri 12 IU'den büyük ve HCG günü endometrial kalınlık 6 mm'den küçük bulunan hastalar çalışma dışı tutulmuştur. İntrauterin inseminasyon yapılacağı gün hastaların semen verme ve semen hazırlama arası süre ve semen hazırlanması ile IUI yapılması arasındaki süre dikkatli bir şekilde kayıt altına alındı. Çalışma sonuçları değerlendirilirken spermin hazırlanışı ile IUI yapılması arasındaki süre 30 dakikalık aralıklarla beş grup halinde değerlendirildi.

İnfertilite araştırmaları için 3-7 günlük perhiz sonrası sperm analizi, adet 3. günü yapılan hormonal analiz ve pelvik ultrasonografi, adet 7-11. günleri arasında yapılan histerosalfingografi (HSG), 22-24. günler arasında ovulasyonu değerlendirmek için yapılan mid- luteal progesteron, temel testler olarak alındı. Bulgulara göre hastalar hafif-orta şiddette erkek faktörü veya açıklanamayan infertilite olarak sınıflandırıldı. Ovulatuvar, HSG'si normal ve erkek faktörü tespit edilmeyen olgular ile oligo-anovulasyon tanısı konulmuş ve ovulasyon indüksiyonu ile en az 3 ovulatuvar siklusa rağmen gebelik elde edilememiş olgular, "açıklanamayan infertilite" olarak sınıflandırıldı. Sperm sayısı $<20 \times 10^6$ olan (oligospermi), motilite değerlendirmesinde hızlı ileri hareketli sperm yüzdesi (A tipi hareket) %25'in altında veya hızlı ve yavaş ileri hareketli sperm yüzdesi toplamı (A+B) %50'nin altında olan (astenospermi) olgular erkek faktörü olarak değerlendirildi. Mart 2010 SUT yasası gereği total motil sperm sayısı 5 milyon üzerinde ki hastalar IUI programına alındı. Ovulasyon indüksiyonu (OI) recombinant FSH preparatları (Gonal-F, Serono & Puregon, Organon, Türkiye) kullanıldı. Kliniğimizde uygulan protokol gereğince rFSH ile yapılan OI'larında tedaviye âdetin 3 veya 4. günü, kilo, yaş ve USG'de antral follikül sayısına göre belirlenmek üzere, 50-150 IU arasında değişen dozlarla rFSH başlandı. Monitörizasyona tedavinin 6. günü başlandı. Follikül büyüklüğüne göre monitörizasyon aralıkları belirlendi. Ovulasyonu tetiklemek için en az bir tane 18 mm'nin üzerinde follikül bulunması kriter olarak alındı. Takipte 16 mm'nin üzerinde 2'ten fazla follikül tespit edilen olgularda siklus iptal edildi. Bu amaçla 10 000 IU hCG (Ovitrelle flk, Merck Serono, Pregnyl flk, MSD, Türkiye) kullanıldı. Âdetin 21. günü tüm hastalarda ovulasyon, progesteron ölçülerek, kontrol edildi. Hiçbir siklusta luteal faz desteği yapılmadı. Tüm sikluslarda hCG uygulandıktan 36-40 saat sonra tek

inseminasyon yapıldı.

Sperm hazırlığı için bir konik tüp içerisine (Falcon 2095, Aksuvar ve Asist Medikal, USA) %80'lik gradient mediumundan (Suprasperm, Tek Medikal Servis, Denmark) 1ml'lik pipet yardımıyla (Falcon 7521, Aksuvar ve Asist Medikal, USA) 2 ml alınarak tüpün çeperinde yavaşça bırakıldı. Bunun üzerine %55'lik gradient mediumundan (Suprasperm, Tek Medikal Servis, Denmark) 2 ml alınarak tüpün çeperinden yavaşça bırakıldı. Likefaksiyon olmuş semen numunesinin tamamı 2 ml'lik pipet (Falcon 7507, Aksuvar ve Asist Medikal, USA) yardımıyla yavaşça karıştırılıp sayıldıktan sonra, tamamı gradient mediumu üzerine çeperden yavaşça bırakılarak 300 g'de(1200 rpm) 20 dakika santrüfjü edildi. Süre bitiminde süpernatant kısım alınarak dipteki pelet üzerine 15 ml'lik yuvarlak dipli tüpe (Falcon 2001, Aksuvar ve Asist Medikal, USA) konulan Medi-cult IVF (Tek Medikal Servis, Denmark) yıkama mediumundan 3 ml pelet üzerine eklenerek resüspanse edildi. 300 g'de (1200rpm) 10 dakika santrüfjü edildi. Santrüfjü sonrası supernatant kısmı alındı. Pelet üzerine son hacim 0,6 ml kalacak şekilde Medi-cult IVF yıkama mediumundan (Tek Medikal Servis, Denmark) konularak resüspanse edildi. 1 ml'lik pipet (Falcon 7521, Aksuvar ve Asist Medikal, USA) yardımıyla 5 ml'lik tüpe (Falcon 2003, Aksuvar ve Asist Medikal, USA) konularak ve son sayımı yapılarak laminar flow da bekletildi.

Tüm hastalardan inseminasyon işlemi için idrara sıkışık olarak gelmeleri istendi. Vulva ve vajen serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra, hazırlanmış sperm, total volüm 0,5 ml olacak şekilde, artifisyel inseminasyon kateteri (Wallace(r), Smiths Medical International Ltd, UK) kullanılarak, transabdominal ultrasonografi (USG) eşliğinde yavaşça intrauterin kaviteye enjekte edildi. Hasta 10-15 dakika dinlendirildikten sonra normal aktivitelerin dönebileceği söylendi. Hastalar hCG gününden sonraki 14 gün içinde mens olmamışlarsa β -hCG testi yaptırıldı. Test pozitifliği olan hastalar iki hafta sonra transvajinal USG için çağrıldı. USG ile gebeliği konfirme edilen hastalar bu çalışmada gebe olarak kabul edildiler.

İstatistiksel yöntem

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart deviasyon olarak verildi. IUI sikluslarında gebelik oranlarını analiz etmek için Ki-kare testi veya gerekli durumlarda Fisher's

exact test kullanıldı. Değişkenlerle gebelik arasındaki ilişkiyi araştırmak için Pearson korelasyon testi yapıldı. $P<0.05$ istatistiksel anlamlı olarak kabul edildi.

Sonuçlar

Total olarak 1125 siklus analiz edildi. Korelasyon analizinde gebelik oranlarını etkileyen parametrelerden yaş, infertilite süresi, bazal FSH, follikül sayısı, insemine edilen ortalama TMSS(total motil sperm sayısı) açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark yoktu (Tablo I). Sperm hazırlanışı ile IUI yapılması arasındaki süre 30 dakikalık aralıklarla beş grup halinde incelendiğinde en düşük gebelik oranlarının ilk 30 dakikada yapılan sikluslarda olması dikkat çekiciydi (Tablo II). Bu nedenle 30 dakikada yapılan IUI lar ile diğer sikluslar toplam olarak tekrar analiz edildiğinde bu farkın istatistiksel olarak anlamlı düzeye eriştiği izlendi (Tablo III)($p:0.01$). İnsemine edilen total motil sperm sayısının 10 milyon üzerindeki sikluslarda veriyi tekrar analiz ettiğimizde gebelik oranlarının ilk 30 dakikada IUI yapılanlarda istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düştüğünü gözlemledik (Tablo IV).

Tablo 1: Demografik veriler.

	Sperm hazırlanması ve IUI arası süre (dakika)				
	120-180	90-119	60-89	30-59	<30
Kadın yaşı	29.1 $\pm$ 4.4	28.8 $\pm$ 5.3	29.3 $\pm$ 4.5	29.2 $\pm$ 4.6	29.3 $\pm$ 5.1
İnfertilite süresi	4.6 $\pm$ 3.6	4.2 $\pm$ 2.8	4.6 $\pm$ 3.3	4.5 $\pm$ 3.1	4.5 $\pm$ 3.5
Bazal FSH	5.5 $\pm$ 1.7	5.6 $\pm$ 2.1	5.5 $\pm$ 1.1	5.5 $\pm$ 1.9	5.4 $\pm$ 1.7
İnsemine edilen					
TMSS	37.4 $\pm$ 23.7	35.5 $\pm$ 23.9	32.8 $\pm$ 24.3	31.8 $\pm$ 24.3	25.8 $\pm$ 19.8
Follikül sayısı	1.6 $\pm$ 0.6	1.7 $\pm$ 0.8	1.6 $\pm$ 0.7	1.5 $\pm$ 0.7	1.7 $\pm$ 0.9

TMSS(total motil sperm sayısı)

Tablo II: Sperm hazırlanması - IUI arası süre ve gebelik oranları.

	Sperm hazırlanması ve IUI arası süre (dakika)				
	120-180	90-119	60-89	30-59	<30
Siklus Sayısı					
(1125)	61	114	381	367	202
Gebelik oranları	7	10	42	29	9
	(%11.5)	(%8.8)	(%11)	(%7.9)	(%4.5)

Tablo III: Sperm hazırlanması ve IUI arası sürenin > 30 dakika olmasının gebelik oranlarına negatif etkisi

	Sperm hazırlanması ve IUI arası süre (dakika)		p
	≥ 30	<30	
N(1125)	923	202	
Gebelik oranları	88 (%9.5)	9(%4.5)	0.01

Tablo IV: Yıkama sonrası TMSS> 10 milyon olan siklularda sperm hazırlanması ve IUI arası sürenin gebelik oranlarına etkisi.

	Sperm hazırlanması ve IUI arası süre (dakika)		p
	≥30	<30	
N(988)	814	174	
Gebelik oranları	82 (%10.1)	9(%5.2)	0.024

TARTIŞMA

Çalışmamız intrauterin inseminasyon sikluslarında sperm hazırlığı ile inseminasyon yapma arasındaki optimal süreyi bulmaya yönelik ilk prospektif çalışmadır. Genel inanışın aksine sperm hazırlığından hemen sonra IUI yapmak yerine en az 30 dakikalık bir bekleme periyodunun IUI sikluslarında başarı oranını arttırdığını gösterdik.

Literatürü taradığımızda sperm hazırlığı ve IUI arasındaki intervalin gebelik oranları üzerine etkisini inceleyen 102 hastayla yapılan tek retrospektif çalışmada gebelik oranlarının 30dk, 31-60 dk arasında yapılması arasında fark olmadığı ancak bu iki grupta 60 dk sonrası yapılan gruba göre gebelik oranlarının daha yüksek olduğu ve 180 dk sonra hMG kullanılan grupta gebelik olmadığı belirtilmiştir⁽¹¹⁾. Bu çalışmada 30 dk, 31-60 dk, >60 dk bekletilen gruplarda CC kullanılan grupta sırasıyla %6, %6, %15 gebelik elde edilmiş hMG grubunda ise %67, %42 ve %7 gebelik elde edilmiştir. Bu çalışmada da CC grubunda ilk 60 dk da yapılan IUI larda gebelik oranlarının daha düşük olduğu dikkat çekicidir. Ayrıca hMG ile yapılan siklulardaki yüksek gebelik oranlarına da dikkat çekmek gerekmektedir. Randall GW ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada evde sperm örneği alındıktan yarım saat sonra sperm yıkama mediumu eklenip sperm alındıktan sonraki iki saat içinde örneğin kliniğe ulaştırıldığı hastalarda arada geçen sürenin gonadotropin kullanılan siklularda gebelik oranlarını etkilemediğini rapor etmişlerdir⁽¹⁰⁾. Biz çalışmamızda spermin hazırlandıktan sonra bekleme süresinin gebelik oranlarına etkisini değerlendirmeyi amaçladığımız için tüm örnekler klinikte alınmış ve ejakülat likefiye olur olmaz yıkama prosedürü başlatılmıştır. Yeni SUT yasası doğrultusunda hastalara IVF raporu çıkarabilmek için gonadotropinlerle ovulasyon indüksiyonu ve IUI şartı arandığı için tüm siklularda gonadotropinlerle ovulasyon indüksiyonu yapılmıştır. Çalışmanın bu

tasarımı sayesinde yıkama sonrası sperm bekleme süresinin etkisini ovulasyon indüksiyonu ajanlarının etkisi, spermin evden kliniğe gelişi gibi ek faktörleri ekarte ederek inceleme fırsatı bulduk.

Intrauterin inseminasyon sikluslarında gebelik oranlarını etkileyebilecek parametreler için korelasyon analizi yaptığımızda yaş, infertilite süresi, bazal FSH, follikül sayısı, insemine edilen ortalama TMSS (total motil sperm sayısı) ve inseminatın bekleme süresinin etkili olduğunu gördük. Gruplar arasında yaş, infertilite süresi, bazal FSH, follikül sayısı, insemine edilen ortalama TMSS açısından istatistiksel anlamlı fark yoktu. Ancak sperm hazırlanışı ile IUI yapılması arasındaki süreler incelendiğinde en düşük gebelik oranlarının ilk 30 dakikada yapılan siklularda olması dikkat çekiciydi.

Sperm hazırlama teknikleri ile amacımız motil ve morfolojik olarak normal spermleri ayırmak, prostoglandin, ölü sperm ve enfeksiyöz ajanları uzaklaştırarak sperm kapasitasyonunu ve dolayısıyla gebelik oranlarını arttırmaktır⁽¹³⁾. Seminal plazma ve sıvıdan kurtulan spermlerin işlem görmeyenlere göre daha uzun süreli olarak motilite ve viabilitelelerin koruduklarını ve oda ısısında inkübe edildiğinde kapasite olamayan spermlerin 37°C de inkübasyonu ile kapasitasyonunun sağlanabildiğini göz önünde bulundurursak⁽¹⁴⁾ 30 dk dan fazla 37°C de bekleyen spermlerle daha yüksek gebelik elde etme oranlarımızı spermlerin kapasitasyonlarına imkan tanıyacak kadar sürenin geçmiş olmasına bağlayabiliriz. İn vivo sperm kapasitasyonu sonrasında insan zona pellusidasi, progesteron yada follikül sıvı gibi stimuluslar ile spermde hiperaktif motilite ve akrozom reaksiyonu gelişmektedir. Kapasitasyon ve akrozom reaksiyonu uygun şartlar sağlandığında invitro gerçekleşebilmektedir. Inkübasyon ısısının kapasitasyon ve akrozom reaksiyonunda modülatör olduğunu gösteren hayvan ve insan çalışmaları vardır^(15,16). Spermlerin 37°C ve oda ısısında inkübe edilmesinin etkisinin incelendiği çalışmada progresif motil sperm oranlarının her iki grupta benzer olmakla birlikte CASA sistemi ile değerlendirildiğinde oda ısısında olanların hiperaktif hareketlerinin olmadığı bulunmuştur⁽¹⁶⁾.

Gebelik oranlarının IUI işleminin daha geç yapıldığı grupta daha yüksek olmasının bir nedenide inseminasyonun ovulasyon olduktan sonra yapılmış olma ihtimalinin artmış olması olabilir. Çünkü güncel bir çalışmada inseminasyon günü ovulasyon varlığı

USG ile tespit edildikten sonra yapılan IUI larda gebelik sonuçlarını daha yüksek olduğu gösterilmiştir⁽¹²⁾. Sonuç olarak bu çalışmamızla IUI sikluslarında spermın 37°C de en az yarım saat bekletilmesinin optimum olduğunu ve 180 dakikaya kadar olan sürenin sonuçları olumsuz etkilemediğini gösterdik.

KAYNAKLAR

1. Kossakowski J, Stephenson M, Smith H Intrauterine insemination with husband's sperm: comparison of pregnancy rates in couples with cervical factor, male factor, immunological factor and idiopathic infertility. Aust N Z J Obstet Gynaecol. 1993; 33(2): 183- 6.
2. Ibérico G, Vioque J, Ariza N, Lozano JM, Roca M, Llacer J, et al. Analysis of factors influencing pregnancy rates in homologous intrauterine insemination. Fertil Steril 2004; 81: 1308- 13.
3. Sinikka NH, Candido T, Risto B, Leena T, Hannu M. Intrauterine insemination treatment in subfertility: an analysis of factors affecting outcome. Hum Reprod 1999; 14: 698- 703.
4. Awonuga A, Govindbhai J. Is waiting for endogenous luteinizing hormone surge and/or administration of human chorionic gonadotrophin of benefit in intrauterine insemination? Hum Reprod 1999; 14: 765- 70.
5. Gezginç K, Gökemli H, Celik C, Karatayli R, Çiçek MN, Olakoglu MC. Comparison of single versus double intrauterine insemination. Taiwan J Obstet Gynecol 2008; 7: 57- 61.
6. Demirel A, Gurgan T. Comparison of different gonadotrophin preparations in intrauterine insemination cycles for the treatment of unexplained infertility: a prospective, randomized study. Hum Reprod 2007; 22: 97- 100.
7. Freour T, Jean M, Mirallie S, Langlois ML, Dubourdieu S, Barriere P. Predictive value of CASA parameters in IUI with frozen donor sperm. Int J Androl. 2008.
8. Gyun Jee Song Ph.D., Rita Herko B.S. And Vivian Lewis M.D. Location of semen collection and time interval from collection to use for intrauterine insemination. Fertil Steril 2007 Dec; 88(6): 1689- 91.
9. Alexander CJ, King J, Lipari C, Zhao Y and Wallach EE. Does the Time Interval between Semen Collection, Processing and Intrauterine Insemination affect results of IUI. J Obstet Gynecol India. 2009; 59(5): 407- 9.
10. Randall GW, Gantt PA. Intrauterine insemination results in couples requiring extended semen transport time. Int J Fertil Womens Med. 2007; 52(1): 28- 34.
11. Yavas Y, Selub MR. Intrauterine insemination (IUI) pregnancy outcome is enhanced by shorter intervals from semen collection to sperm wash, from sperm wash to IUI time, and from semen collection to IUI time. Fertil Steril. 2004; 82(6): 1638- 47.
12. Akanji Tijani H, Bhattacharya S. The role of intrauterine insemination in male infertility. Hum Fertil (Camb). 2010; 13(4): 226- 32.
13. Ghanem ME, Bakre NI, Emam MA, Al Boghdady LA, Helal AS, Elmetwally AG, Hassan M, Albahlol IA, Elzayat MM. The effects of timing of intrauterine insemination in relation to ovulation and the number of inseminations on cycle pregnancy rate in common infertility etiologies. Hum Reprod 2011 Mar; 26(3): 576- 83.
14. Petrella C, Hsieh J, Thrift K, Jarow JP, Zacur H, Zhao Y. Optimizing incubation conditions for the preservation of sperm motility in processed semen samples. Fertil Steril. 2005; 84(2): 513- 5.
15. Si Y. Temperature-dependent hyperactivated movement of hamster spermatozoa. Biol Reprod. 1997 Dec; 57(6): 1407- 12.
16. Marín-Briggiler CI, Tezón JG, Miranda PV, Vazquez-Levin MH. Effect of incubating human sperm at room temperature on capacitation-related events. Fertil Steril. 2002 Feb; 77(2): 252- 9.