

Correlação entre os dismorfismos oocitários e os resultados da fertilização in vitro

Morfologia oocitária X Fertilização in vitro

Ana Márcia de Miranda Cota¹, Claudia G Petersen^{1,2,3}, Joao Batista A Oliveira^{1,2,3}, Ana L Mauri^{2,3}, Fabiana C Massaro^{2,3}, Mario Cavagna^{2,3,4}, Ricardo LR Baruffi^{2,3}, José G Franco Jr^{1,2,3}

¹Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Botucatu UNESP - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, Brasil

²Centro de Reprodução Humana Professor Franco Jr, Ribeirão Preto, Brasil

³Centro Paulista de Diagnóstico, Pesquisa e Treinamento, Ribeirão Preto, Brasil

⁴Centro de Referência da Saúde da Mulher, Hospital Pérola Byington, Sao Paulo, Brasil

RESUMO

na reprodução assistida, a seleção de gametas com o objetivo de alcançar melhores resultados clínicos é uma tarefa crucial dos embriologistas. A qualidade do oócito é um fator chave na fertilidade feminina, refletindo o potencial intrínseco de desenvolvimento do gameta, além de ter um papel crucial não só na fecundação, mas também no desenvolvimento embrionário subsequente. Os dismorfismos oocitários são classificados em 2 tipos: citoplasmáticos, que incluem a presença de granulações e/ou de inclusões citoplasmáticas (vacúolos, corpos refrativos, agregados do retículo endoplasmático) e extracitoplasmáticos (alterações na forma do oócito, alterações na zona pelúcida, no espaço perivitelino e alterações do corpúsculo polar). Variações na morfologia oocitária podem ocorrer devido a fatores como idade da mulher, problemas genéticos e alterações no ambiente hormonal a que o oócito é exposto com a hiperestimulação ovariana. A classificação da morfologia oocitária, bem como sua correlação com o desenvolvimento embrionário e taxa de gravidez são bastante controversas na literatura. Vários estudos não demonstram nenhuma associação entre os dismorfismos oocitários e os resultados da fertilização in vitro, enquanto outros relatam uma associação entre a morfologia oocitária e desenvolvimento embrionário. Essas diferenças nos resultados podem ser explicadas devido a utilização de diferentes critérios morfológicos e devido a uma falta de padronização nessa avaliação oocitária.

Palavras-chaves: Fertilização in vitro; dismorfismo; morfologia oocitária; reprodução assistida

ABSTRACT

In assisted reproduction, the selection of gametes to achieve better clinical outcomes is a crucial task of embryologists. The quality of the oocyte is a key factor in female fertility, reflecting the intrinsic potential of gamete development, and has a vital role not only in conception but also in subsequent embryonic development. Oocyte dysmorphisms are classified into two types: cytoplasmic, including the presence of granules and/or cytoplasmic inclusions (vacuoles, refractive bodies, and aggregates of the endoplasmic reticulum), and extracytoplasmic (changes in the shape of the oocyte, the zona pellucida, the space perivitelline changes and the polar body). Variations in oocyte morphology may occur due to factors such as the age of women, genetic problems and changes in the hormonal environment to which the oocyte is

exposed in ovarian hyperstimulation. The classification of oocyte morphology and its correlation with embryo development and pregnancy rates are controversial in the literature. Several studies show no association between oocyte dysmorphisms and the results of in vitro fertilization, while others report an association between oocyte morphology and embryo development. These differences in the results can be explained by the use of different morphological criteria due to a lack of standardization of oocyte evaluation.

keywords: In vitro fertilization, dysmorphism, oocyte morphology, assisted reproduction

INTRODUÇÃO

na reprodução assistida, a seleção de gametas com o objetivo de alcançar melhores resultados clínicos é uma tarefa crucial dos embriologistas. Esta questão tem especial importância quando as considerações éticas, legais ou mesmo religiosas impõem limites à seleção do embrião, consequentemente, à formação de embriões excedentes. A qualidade do oócito é um fator chave na fertilidade feminina, refletindo o potencial intrínseco de desenvolvimento do gameta, além de ter um papel crucial não só na fecundação, mas também no desenvolvimento embrionário subsequente (Gilchrist et al. 2008).

Para a apreciação da morfologia dos oócitos é necessário que seja feita a desnudação (retirada do cumulus oophorus e das células da corona radiata) para a sua execução. Após a desnudação, consegue-se definir a maturidade oocitária, com a identificação do primeiro corpúsculo polar, além de permitir a avaliação da morfologia oocitária, analisando as características da zona pelúcida, do espaço perivitelino e do citoplasma (Rienzi et al. 2008). Um oócito considerado com uma boa morfologia é um oócito de forma arredondada, com um único corpúsculo polar (CP) intacto, zona pelúcida (ZP) clara, um espaço perivitelino pequeno, um citoplasma transparente, homogêneo, sem granulações ou inclusões (Balaban & Urman 2006; Balaban et al. 1998; De Sutter et al. 1996; Rienzi et al. 2008; Xia 1997). no entanto, cerca de 60 a 80% dos oócitos maduros captados apresentam pelo menos uma alteração em sua morfologia (Balaban & Urman 2006; Van Blerkom & Henry 1992; Yakin et al. 2007).

Os dismorfismos oocitários são classificados em 2 tipos básicos: citoplasmáticos e extracitoplasmáticos.

Os distúrbios citoplasmáticos incluem a presença de grânulos e/ou de inclusões citoplasmáticas (vacúolos, corpos refrativos, agregados do retículo endoplasmático). Alterações na forma do oócito, da ZP (espessa, fina, escura), no espaço perivitelino (grande, pequeno, presença de fragmentos) e do CP (degeneração, fragmentação) são classificadas como distúrbios extracitoplasmáticos. Os distúrbios podem ocorrer devido a fatores como idade e problemas genéticos, além de fatores relacionados com o tratamento propriamente dito, como por exemplo, a hiperestimulação ovariana e o ambiente hormonal a que o oócito é exposto (de Bruin et al. 2004; Murber et al. 2009; Rashidi et al. 2005).

A classificação da morfologia oocitária, bem como sua correlação com o desenvolvimento embrionário e taxa de gravidez são bastante controversas na literatura. Alguns estudos não demonstram nenhuma associação com os resultados da fertilização in vitro (FIV) (Balaban et al. 1998), enquanto outros relatam uma associação entre morfologia oocitária e desenvolvimento embrionário (Xia 1997). Essas diferenças nos resultados podem ser explicadas devido a utilização de diferentes critérios morfológicos e devido a uma falta de padronização nessa avaliação oocitária.

Tendo por base essas considerações, para compreender melhor o valor diagnóstico e prognóstico das alterações morfológicas, o objetivo desta revisão é avaliar os dados disponíveis na literatura a respeito da influência dos diferentes distúrbios oocitários sobre os resultados da FIV.

A) Alterações citoplasmáticas (Figura 1)

Para que o oócito seja capaz de ser fertilizado por um espermatozóide, é necessário que ele passe por uma série de eventos que leve tanto à sua maturidade nuclear quanto citoplasmática, eventos esses que podem ocorrer de forma independente (Figueira et al. 2010; Rienzi et al. 2008; Setti et al. 2011). Após a desnudação, é possível verificar a presença do primeiro corpúsculo polar, o que comprova a maturidade nuclear do oócito. no entanto, a avaliação da maturação citoplasmática ainda não é bem estabelecida. Alguns autores correlacionam essa maturidade citoplasmática com a ausência de inclusões citoplasmáticas, ou seja, um oócito maduro no que se refere ao citoplasma, seria aquele sem grânulos, vacúolos, com um citoplasma claro e homogêneo (Loutradis et al. 1999). Portanto, a presença de inclusões citoplasmáticas poderia significar uma imaturidade citoplasmática o que influenciaria na fertilização e desenvolvimento embrionário. Apesar dos oócitos com imaturidade citoplasmática poderem ser fertilizados, eles podem ocasionar um desenvolvimento embrionário inadequado (Loutradis et al. 1999).

na literatura ainda não existe uma padronização em se definir e conceituar as grânulos citoplasmáticas. Existem diversas formas de se nomeá-las: grânulos, grânulos centrais, grânulos homogêneos ou grânulos heterogêneos, o que torna muito difícil uma avaliação nos dados. Em relação às inclusões citoplasmáticas (vacúolos, corpos refrativos e agregados do retículo endoplasmático) os dados também são pouco claros. Alguns estudos os avaliam de forma agrupada (Balaban et al. 2008; Xia 1997), enquanto outros analisam separadamente (Rienzi et al. 2008; Ten et al. 2007), dificultando a interpretação.

Xia (1997) evidenciou que a presença de inclusões citoplasmáticas interferia negativamente na taxa de ferti-

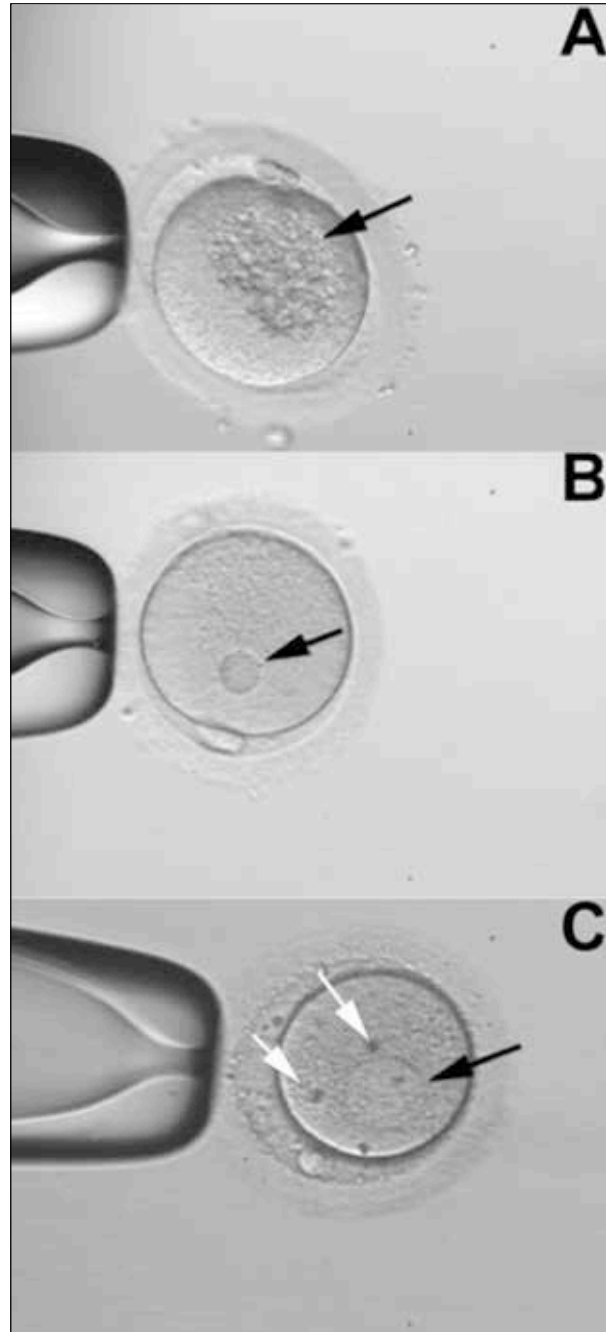


Figura 1. Alterações oocitárias citoplasmáticas: grânulos e inclusões citoplasmáticas. A- grânulos. B- vacúolo. C- Seta negra: agregado do retículo endoplasmático / Seta branca: corpo refrativo.

lização e na qualidade embrionária dos oócitos com espaço perivitelino normal e primeiro corpúsculo polar intacto. Loutradis et al. (1999) observaram que oócitos com citoplasma escuro, fragmentos e vacúolos citoplasmáticos geravam embriões de pior qualidade e consequentemente obtiveram uma menor taxa de gravidez quando comparados com embriões originados de oócitos com citoplasma normal. Além desses artigos, Ten et al. (2007) relataram que oócitos com um citoplasma escuro diminuía a chance de ter um embrião de boa qualidade em 83% (OR 0,17 95% IC 0,04 – 0,74). Em recente meta-análise, Setti et al. (2011) observaram que a presença de corpos refrativos e de vacúolos reduziam significativamente a taxa de fertilização dos oócitos (OR

0,66 95% IC 0,51 – 0,84 e OR 0,59 95% IC 0,42 – 0,83 para corpos refrativos e vacúolos respectivamente).

Em outro estudo, Balaban et al. (2008) verificaram que anormalidades citoplasmáticas severas ou múltiplas interferiam no desenvolvimento e na qualidade embrionária. Embriões de boa qualidade no dia 3 (grau 1 e 2) eram, em sua maioria, derivados de oócitos morfológicamente normais ou de embriões com apenas uma alteração extracitoplasmática. Apenas cerca de 3,5% dos embriões grau 1 e 2 no terceiro dia eram derivados de oócitos com alterações citoplasmáticas severas. Além disso, observaram que o encontro de alterações citoplasmáticas, principalmente os vacúolos e as granulações centrais, apresentaram um grande impacto negativo sobre a taxa de sobrevivida dos embriões ao congelamento e descongelamento e sua evolução para blastocisto. Somente 8,3% dos embriões originados de oócitos com presença de vacúolos ou granulações evoluíram para a formação de blastocistos de boa qualidade, sendo que nenhum deles realizou "hatching" (eclosão). Esse achado está de acordo com o encontrado em outros artigos (Balaban & Urman 2006; Yakin et al. 2007).

Rienzi et al. (2008) evidenciaram em seu estudo que a presença de vacúolos citoplasmáticos estavam correlacionados com um decréscimo significativo na taxa de fertilização (OR 2,09 95% IC 1,02 – 4,31, $P = 0,04$) e que o único dimorfismo oocitário que influenciava negativamente na qualidade embrionária era a presença das granulações centrais. Quando um oócito apresentava granulações citoplasmáticas, a incidência de embriões de boa qualidade era significativamente diminuída (OR 2,26 95% IC 1,25 – 4,08 $P = 0,007$).

Yakin et al. (2007) demonstraram que oócitos com alterações citoplasmáticas obtiveram uma menor taxa de fertilização e de clivagem quando comparado com oócitos com citoplasma normal, sem no entanto haver diferença estatística. Além disso, foi demonstrado que as alterações oocitárias não tiveram nenhum efeito adverso sobre a qualidade embrionária no dia 3. Entretanto, a presença de inclusões citoplasmáticas e a associação de anormalidades tiveram um impacto significativo sobre a taxa de formação de blastocisto. nesse mesmo estudo, foi avaliado se o dimorfismo oocitário estava relacionado ou não à aneuploidia. Foi observado que oócitos com morfologia oocitária normal e alterada geravam embriões com uma taxa de aneuploidia semelhante. Contudo, dentre as alterações morfológicas a que apresentou uma maior associação com aneuploidias, apesar de sem significância estatística, foi o dimorfismo citoplasmático.

no entanto, outros estudos (De Sutter et al. 1996; Kahraman et al. 2000; Meriano et al. 2001) não encontraram correlação entre a morfologia oocitária e a taxa de fertilização e a qualidade embrionária após a ICSI. Serhal et al. (1997) demonstraram que a taxa de fertilização e de clivagem não era afetada pelas alterações das características morfológicas do citoplasma dos oócitos. no entanto, a presença de oócitos com granulações e inclusões citoplasmáticas, tais como, vacúolos, corpos refrativos e agregados do retículo endoplasmático, reduziu significativamente a taxa de implantação. Corroborando com esse achado, Kahraman et al. (2000) não encontraram diferença significativa na taxa de fertilização, qualidade embrionária e taxa de gravidez em oócitos com ou sem granulações citoplasmáticas. Entretanto, observou-se uma menor taxa de implantação e de gravidez evolutiva com oócitos com granulações centrais.

B) Alterações extracitoplasmáticas (Figura 2)

Balaban et al. (2008) analisaram as anormalidades extracitoplasmáticas de forma agrupada e observaram que a presença dessas não interferia no desenvolvimento embrionário. A maioria dos embriões de boa qualidade foi derivada de oócitos em metáfase II (MII) considerados morfológicamente normais ou de oócitos com uma única anormalidade extracitoplasmática. Além disso, demonstraram que a sobrevivida dos embriões após o congelamento/descongelamento e seu desenvolvimento até o estágio de blastocisto não era afetada se os embriões fossem originados de um oócito com uma única alteração extracitoplasmática.

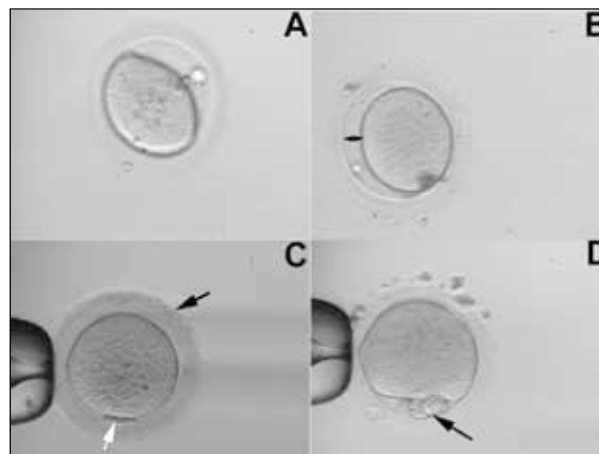


Figura 2. Alterações oocitárias extracitoplasmáticas: A: oócito com forma irregular. B: espaço perivitelino aumentado. C: Seta negra - Zona Pelúcida espessa / Seta branca: alterações no corpúsculo polar. D: alterações no corpúsculo polar.

B1) Forma do oócito

O oócito humano maduro tem uma forma arredondada e possui um diâmetro de aproximadamente 110 a 115µm. A maioria dos estudos não encontra uma associação entre as alterações na forma dos oócitos e os resultados da fertilização in vitro (Balaban et al. 2008; Balaban et al. 1998; Rienzi et al. 2008; Setti et al. 2011). De Sutter et al. (1996) não encontraram correlação entre as alterações na forma dos oócitos e taxa de fertilização e qualidade embrionária. Além disso, Yakin et al. (2007) demonstraram que a forma do oócito não teve influência sobre a taxa de formação de blastocisto. Setti et al. (2011), em sua meta-análise, não encontraram correlação entre alterações na forma dos oócitos e taxa de fertilização (OR 0,99 95% IC 0,83 – 1,17) e qualidade embrionária (OR 1,02 95% IC 0,83 – 1,25).

B2) Espaço perivitelino

O espaço perivitelino é a região preenchida por líquido entre a membrana plasmática do oócito e a zona pelúcida, sendo considerado normal quando é pequeno e não apresenta fragmentos.

Xia (1997) demonstrou que oócitos com um espaço perivitelino normal apresentavam uma taxa de fertilização (60,3% para oócitos com espaço perivitelino normal x 37,5% para oócitos com espaço perivitelino aumentado) e um desenvolvimento embrionário significativamente melhor quando comparado com oócitos com um espaço perivitelino aumentado. Além disso, o espaço perivitelino aumentado diminuiu significativamente a taxa de sobrevivida dos embriões grau 2, ou seja, embriões de boa qualidade, ao congelamento/

descongelamento quando comparado com os embriões grau 2 originado de oócitos com morfologia normal. No entanto, a taxa de formação de blastocistos desses embriões não foi afetada. Corroborando com esses achados, Rienzi et al. (2008) evidenciaram em seu estudo que a presença de um espaço perivitelino aumentado estava correlacionado com um decréscimo significativo na taxa de fertilização (OR 1,44 95% IC 1,06 – 1,97 P = 0,02). De acordo com esses achados, recente meta-análise também demonstrou que um espaço perivitelino aumentado reduzia a probabilidade de fertilização de um oócito (OR 0,86 95% IC 0,74 – 0,99) (Setti et al. 2011). Essa interferência do espaço perivitelino aumentado sobre a taxa de fertilização e desenvolvimento do embrião poderia estar relacionada a uma excitose prematura dos grânulos corticais, sugerindo um citoplasma pós-maduro no momento da ICSI (Mikkelsen & Lindenberg 2001). Em contrapartida, Hassan-Ali et al. (1998) não encontraram correlação entre a presença de granulações no espaço perivitelino e a taxa de fertilização, taxa de clivagem e de implantação embrionária. Esses autores concluíram que a presença de granulações no espaço perivitelino provavelmente se trata de um fenômeno fisiológico relacionado à maturidade oocitária, principalmente porque a incidência dessa alteração se mostrou significativamente mais frequente em oócitos em estágio de MII (oócitos maduros), quando comparado com oócitos imaturos (estágio de metáfase I (MI) e em estágio de vesícula germinativa (VG) (34,4%; 4,4% e 0%, respectivamente). Outros estudos (Balaban et al. 2008; Balaban et al. 1998; De Sutter et al. 1996) também não encontraram associação entre alterações do espaço perivitelino e taxa de fertilização, taxa de clivagem e qualidade embrionária.

B3) Zona pelúcida

É uma camada acelular de glicoproteína que reveste todo o oócito, medindo aproximadamente cerca de 15 a 20µm, formada por três glicoproteínas: ZP1, ZP2 e ZP3. Tanto a ZP2 quanto a ZP3 agrupam-se em filamentos, enquanto a ZP1 entrecruza esses filamentos, formando uma rede tridimensional. Dessa forma, a ZP desempenha um importante papel desde a fertilização, através da interação entre os gametas, promove a reação acrossômica, impede a polispermia, além de manter o revestimento e fornecer proteção ao embrião em seu estágio inicial (Bertrand et al. 1995). Diferentes estudos não observaram influência da presença de zona pelúcida escura na taxas de fertilização, clivagem e implantação e na qualidade embrionária (Balaban et al. 1998; De Sutter et al. 1996; Ten et al. 2007). Corroborando com esses autores, Setti et al. (2011) também não encontraram em sua meta-análise influência da zona pelúcida sobre a taxa de fertilização do oócito (OR 0,94 95% IC 0,77 – 1,13) e qualidade embrionária (OR 1,17 95% IC 0,93 – 1,47). Além disso, Balaban et al. (2008) não encontraram alteração significativa na sobrevivência dos embriões originados de oócitos com ZP escura após o congelamento e descongelamento e nem afetou o desenvolvimento embrionário para o estágio de blastocisto. Entretanto, com relação à espessura, Bertrand et al. (1995) relataram que a ZP dos oócitos fertilizados eram significativamente mais finas que a dos oócitos que não fertilizaram ($16.6 \pm 3.2\mu\text{m} \times 18.9 \pm 4.0\mu\text{m}$, $P < 0.001$), sem no entanto, afetar a taxa de gravidez.

B4) Corpúsculo polar

O primeiro corpúsculo polar é uma estrutura oval que mede aproximadamente cerca de 15µm de diâmetro, sendo liberado após a telófase da primeira divisão meiótica, indicando que o oócito está maduro para a fertilização. Alterações na morfologia do primeiro corpúsculo polar podem significar uma maturação nuclear acelerada e um longo perí-

odo de tempo em estágio de MII antes de sua fertilização, além do fato dessas alterações poderem estar associadas a uma assincronia entre a maturação nuclear e a maturação citoplasmática (Eichenlaub-Ritter et al. 1995). É necessário um período de tempo entre a extrusão do primeiro corpúsculo polar e a fertilização para que o oócito adquira a competência para uma fertilização adequada (Xia 1997).

Rienzi et al. (2008) evidenciaram que embora a presença de alterações no primeiro corpúsculo polar fosse relativamente rara (4,4%), quando presente estavam relacionadas com um decréscimo significativo na taxa de fertilização (OR 2,02 95% IC 1,09 – 3,77, $P = 0,02$). Setti et al. (2011) em recente meta-análise, encontraram que fragmentação no primeiro corpúsculo polar não interferia na taxa de fertilização de um oócito e nem na qualidade embrionária, mas um aumento em seu tamanho reduzia significativamente a taxa de fertilização (OR 0,29 95% IC 0,09 – 0,90).

no entanto, segundo Ciotti et al. (2004), nenhuma correlação significativa foi encontrada entre a morfologia do primeiro corpúsculo polar e a taxa de fertilização, taxa de clivagem, qualidade embrionária, taxa de implantação e taxa de gravidez.

Considerações Finais

Apesar de recente meta-análise (Setti et al. 2011) ter demonstrado associação entre a presença de alterações morfológicas específicas e redução na taxa de fertilização, a análise particular de cada estudo revela a contradição dos dados da literatura a cerca da correlação entre a presença dos distúrbios oocitários e os resultados da fertilização in vitro. Isso se deve principalmente porque não há uma padronização na definição das alterações oocitárias, além de não haver uma uniformidade na coleta dos parâmetros a serem analisados. Alguns estudos analisam os parâmetros morfológicos dos oócitos individualmente, enquanto outros avaliam em conjunto ou até mesmo desenvolvem um escore para a sua análise. Os dados contraditórios sublinham a importância de uma investigação mais intensiva e coordenada para chegar a um consenso e explorar plenamente o potencial preditivo do exame morfológico não invasivo de oócitos humanos.

Correspondência

João Batista Alcantara Oliveira
Centro de Reprodução Human Prof Franco Jr
Av Joao Fiusa 689
Ribeirão Preto – SP – Brasil
CEP:14015-130
Tel: (16) 3911-1100
e-mail: crh@crh.com.br

REFERÊNCIAS

- Balaban B, Ata B, Isiklar A, Yakin K, Urman B. Severe cytoplasmic abnormalities of the oocyte decrease cryo-survival and subsequent embryonic development of cryo-preserved embryos. *Hum Reprod.* 2008; 23: 1778-85
- Balaban B, Urman B. Effect of oocyte morphology on embryo development and implantation. *Reprod Biomed Online.* 2006; 12: 608-15
- Balaban B, Urman B, Sertac A, Alatas C, Aksoy S, Mercan R. Oocyte morphology does not affect fertilization rate, embryo quality and implantation rate after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1998; 13: 3431-33
- Bertrand E, Van den Bergh M, Englert Y. Does zona pellucida thickness influence the fertilization rate? *Hum Reprod.* 1995; 10: 1189-93

- Ciotti PM, notarangelo L, Morselli-Labate AM, Felletti V, Porcu E, Venturoli S. First polar body morphology before ICSI is not related to embryo quality or pregnancy rate. *Hum Reprod.* 2004; 19: 2334-39
- de Bruin JP, Dorland M, Spek ER, Posthuma G, van Haaf-ten M, Looman CW, te Velde ER. Age-related changes in the ultrastructure of the resting follicle pool in human ovaries. *Biol Reprod.* 2004; 70: 419-24
- Figueira RCS, Braga DPAF, Semiao-Francisco L, Madaschi C, Iaconelli Jr. A, Borges Jr. E. Metaphase II human oocyte morphology: contributing factors and effects on fertilization potential and embryo developmental ability in ICSI cycles. *Fertil Steril.* 2010; 94: 1115-7
- De Sutter P, Dozortsev D, Qian C, Dhont M. Oocyte morphology does not correlate with fertilization rate and embryo quality after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1996; 11: 595-7
- Eichenlaub-Ritter U, Schmiady H, Kentenich H, Soewarto D. Recurrent failure in polar body formation and premature chromosome condensation in oocytes from a human patient: indicators of asynchrony in nuclear and cytoplasmic maturation. *Hum Reprod.* 1995; 10: 2343-9
- Gilchrist RB, Lane M, Thompson JG. Oocyte-secreted factors: regulators of cumulus cell function and oocyte quality. *Hum Reprod update.* 2008; 14: 159-77
- Hassan-Ali H, Hisham-Saleh A, El-Gezeiry D, Baghdady I, Ismaeil I, Mandelbaum J. Perivitelline space granularity: a sign of human menopausal gonadotrophin overdose in intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1998; 13: 3425-30
- Kahraman S, Yakin K, Donmez E, Samli H, Bahce M, Cengiz G, Sertyel S, Samli M, Imirzalioglu n. Relationship between granular cytoplasm of oocytes and pregnancy outcome following intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 2000; 15: 2390-3
- Loutradis D, Drakakis P, Kallianidis K, Milingos S, Dendri- nos S, Michalas S. Oocyte morphology correlates with embryo quality and pregnancy rate after intracytoplas- mic sperm injection. *Fertil Steril.* 1999; 72: 240-4
- Meriano JS, Alexis J, Visram-Zaver S, Cruz M, Casper RF. Tracking of oocyte dysmorphisms for ICSI patients may prove relevant to the outcome in subsequent patient cycles. *Hum Reprod.* 2001; 16: 2118-23
- Mikkelsen AL, Lindenberg S. Morphology of in-vitro matured oocytes: impact on fertility potential and embryo quality. *Hum Reprod.* 2001; 16: 1714-18
- Murber A, Fancsovits P, Ledo n, Gilan ZT, Rigo J, Jr., Urbancsek J. Impact of GnRH analogues on oocyte/ embryo quality and embryo development in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles: a case control study. *Reprod Biol Endocrinol.* 2009; 7: 103
- Rashidi BH, Sarvi F, Tehrani ES, Zayeri F, Movahedin M, Khanafshar n. The effect of HMG and recombinant human FSH on oocyte quality: a randomized single-blind clinical trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005; 120: 190-4
- Rienzi L, Ubaldi FM, Iacobelli M, Minasi MG, Romano S, Ferrero S, Sapienza F, Baroni E, Litwicka K, Greco E. Significance of metaphase II human oocyte morphology on ICSI outcome. *Fertil Steril.* 2008; 90: 1692-700
- Serhal PF, Ranieri DM, Kinis A, Marchant S, Davies M, Khadum IM. Oocyte morphology predicts outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1997; 12: 1267-70
- Setti AS, Figueira RC, Braga DP, Colturato SS, Iaconelli Jr. A, Borges Jr. E. Relationship between oocyte abnormal morphology and intracytoplasmic sperm injection outcomes: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011; 159: 364-70
- Ten J, Mendiola J, Vioque J, de Juan J, Bernabeu R. Donor oocyte dysmorphisms and their influence on fertilization and embryo quality. *Reprod Biomed Onli- ne.* 2007; 14: 40-8
- Van Blerkom J, Henry G. Oocyte dysmorphism and aneuploidy in meiotically mature human oocytes after ovarian stimulation. *Hum Reprod.* 1992; 7: 379-90
- Xia P. Intracytoplasmic sperm injection: correlation of oocyte grade based on polar body, perivitelline space and cytoplasmic inclusions with fertilization rate and embryo quality. *Hum Reprod.* 1997; 12: 1750-5
- Yakin K, Balaban B, Isiklar A, Urman B. Oocyte dysmor- phism is not associated with aneuploidy in the develop- ing embryo. *Fertil Steril.* 2007; 88: 811-6