



T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM  
ANABİLİM DALI

**FOLİKÜL YIKAMA UYGULAMASININ OOSİT  
ELDESİ VE İNDEKS OOSİTTEN GELİŞEN  
EMBRYONUN KALİTESİNE ETKİSİ:  
PROSPEKTİF KOHORT ÇALIŞMA**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Arif Can ÖZSİPAHİ**

**Antalya, 2024**



T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM  
ANABİLİM DALI

**FOLİKÜL YIKAMA UYGULAMASININ OOSİT  
ELDESİ VE İNDEKS OOSİTTEN GELİŞEN  
EMBRİYONUN KALİTESİNE ETKİSİ:  
PROSPEKTİF KOHORT ÇALIŞMA**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Arif Can ÖZSİPAHİ**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Şafak OLGAN**

*“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”*

**Antalya, 2024**

## TEŞEKKÜR

Tüm asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, iyi bir uzman hekim olma yolunda yaptığım yolculukta emeği bulunan saygıdeğer hocalarım; bölüm başkanımız sayın Prof. Dr. İ. İnanç MENDİLCİOĞLU başta olmak üzere, Prof. Dr. Tayup ŞİMŞEK'e, Prof. Dr. Mehmet ŞİMŞEK'e , Prof. Dr. Abdullah BOZTOSUN'a, Prof. Dr. Mete ÇAĞLAR'a, Prof. Dr. Nasuh Utku DOĞAN'a, Prof. Dr. Murat ÖZEKİNCİ'ye Prof. Dr. Cem Yaşar SANHAL'a, Prof. Dr. Şafak OLGAN'a, Prof. Dr. Selen DOĞAN'a, Doç.Dr. Mehmet Sakıncı'ya, Doç.Dr. M. İlkin YERAL'a, Doç Dr. Hasan Aykut TUNCER'e, Doç. Dr. Enver Kerem DİRİCAN'a,

Tezimde büyük emeği bulunan danışman hocam, saygıdeğer Prof. Dr. Şafak OLGAN'a,

Tez sürecimde desteğini ve yardımlarını esirgemeyen tüm Akdeniz Üniversitesi Tüp Bebek Merkezi çalışanlarına,

Tezimin istatistiğinde bayram, tatil, gece, gündüz dinlemeden yardımlarını esirgemeyen Dr. Bahar MARANGOZ'a,

Asistanlığımın ilk anından beri yanımda, dostluğunu ve kardeşliğini hissettiğim Dr. Sefa Metehan CEYLAN'a,

Zorlu tez sürecimde yanımda olan kardeşlerim Dr. Yavuz YILMAZ ve Dr. Özge Berfin BABAYİĞİT ve Dr. Mustafa Kemal KARAKUŞ başta olmak üzere asistanlık sürecimi paylaştığım tüm asistan arkadaşlarıma,

Ve en büyük teşekkür 30 yıllık hayatımda her an kahrımı çeken, beni yetiştiren, bugünümü borçlu olduğum anne ve babama, desteğini her zaman hissettiğim canım kardeşime

*Sonsuz teşekkürlerimle...*

*“Çalışmadan, yorulmadan ve üretmeden rahat yaşamak isteyen toplumlar; evvela haysiyetlerini, sonra hürriyetlerini, daha sonra da istiklal ve istikballerini kaybetmeye mahkumdurlar.*

**Mustafa Kemal Atatürk**

# İÇİNDEKİLER

	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>Simgeler ve Kısaltmalar Dizini</b>	<b>v</b>
<b>Tablolar Dizini</b>	<b>vi</b>
<b>Şekiller Dizini</b>	<b>vii</b>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>4</b>
2.1. Folikül Gelişim Fizyolojisi	4
2.2. Dominant Folikülün Seçimi	5
2.3. Ovülasyon Fizyolojisi	6
2.4. Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon	6
2.5. Ovulasyonun Tetiklenmesi	7
2.6. OPU Tarihçesi	9
2.7. OPU Ekipmanları	10
2.7.1. USG Cihazı ve Vajinal Prob	10
2.7.2. Aspirasyon Pompası	10
2.7.3. Isıtıcı Sistemler	10
2.7.4. İğne	11
2.8. Folikül Yıkama	12
2.9. OPU Komplikasyonları	13
2.9.1. Kanama	14
2.9.2. Pelvik Enfeksiyon	14
2.9.3. Pelvik Organ Yaralanması	15
2.10. OPU Prosedürü	15
2.11. Foliküler Sıvıların İncelenmesi	16
2.12. Oosit Değerlendirmesi	16
2.13. Fertilizasyonun Değerlendirilmesi	17
2.14. Bölünme (Klivaj) Aşamasındaki Embriyonun Gelişimi	18
2.15. Klivaj Aşamasındaki D3 (3. Gün) Embriyonun Skorlanması	18

2.16. Blastokist Aşamasındaki D5 (5. Gün) Embriyoların Morfolojik Özelliklerinin Değerlendirilmesi	18
2.17. D5 Embriyoların (Blastokist) Skorlanması	19
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>20</b>
<b>4. BULGULAR</b>	<b>26</b>
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>47</b>
<b>6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER</b>	<b>54</b>
<b>7. ÖZET</b>	<b>55</b>
<b>8. ABSTRACT</b>	<b>57</b>
<b>9. KAYNAKLAR</b>	<b>60</b>
<b>10. EKLER</b>	<b>67</b>
<b>Ek 1. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onayı</b>	<b>67</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>2PN</b>	2 Pronükleus
<b>AFC</b>	Antral Folikül Sayısı
<b>AMH</b>	Antimüllerian Hormon
<b>CC</b>	Klomifen Sitrat
<b>COC</b>	Kümülüs Oosit Kompleksi
<b>D3</b>	3. Gün
<b>D5</b>	5. Gün
<b>E2</b>	Östradiol
<b>ET</b>	Embriyo Transferi
<b>FSH</b>	Folikül Stimulan Hormon
<b>GnRH</b>	Gonadotropin Releasing Hormon
<b>hCG</b>	Human Koryonik Gonadotropin
<b>hMG</b>	Human Menapozal Gonadotropin
<b>ICM</b>	İç Hücre Maktriksi
<b>ICSI</b>	İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu
<b>IVF</b>	İn Vitro Fertilizasyon
<b>IVM</b>	İn Vitro Matürasyon
<b>LH</b>	Lüteinizan Hormon
<b>MII</b>	Metafaz 2
<b>MPA</b>	Medroksiprogesteron Asetat
<b>OPU</b>	Oosit Toplama
<b>PG</b>	Progesteron
<b>rFSH</b>	Rekombinant FSH
<b>RKÇ</b>	Randomize Kontrollü Çalışma
<b>TE</b>	Trofoektoderm
<b>USG</b>	Ultrasonografi
<b>VKİ</b>	Vücut Kitle İndeksi

## TABLOLAR DİZİNİ

<b><u>Tablo</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>4.1.</b> Hastaların Demografik ve Klinik Özelliklerine Göre COC Elde Gruplarının Karşılaştırması	<b>28</b>
<b>4.2.</b> Stimülasyon Özelliklerine Göre COC Elde Gruplarının Karşılaştırması	<b>29</b>
<b>4.3.</b> OPU Sonuçları ile COC Eldesine Göre Alt Grupların Karşılaştırması	<b>30</b>
<b>4.4.</b> Folikül Sıvı Hacmi ve Çap Ortalaması İçin Persentil Değerleri	<b>33</b>
<b>4.5.</b> Hastaların Demografik ve Klinik Özelliklerine Göre Persentil Alt Gruplarının Karşılaştırması	<b>34</b>
<b>4.6.</b> Hastaların Stimülasyon Özelliklerine Göre Persentil Alt Gruplarının Karşılaştırması	<b>35</b>
<b>4.7.</b> OPU Sonuçları ile Persentil Alt Gruplarının Karşılaştırması	<b>36</b>
<b>4.8.</b> IVF Endikasyonları ve COC Eldesine Göre Alt Grupların Karşılaştırması	<b>37</b>
<b>4.9.</b> IVF Endikasyonlarına Göre Persentil Alt Gruplarının Karşılaştırması	<b>37</b>
<b>4.10.</b> Yıkama İşleminin Persentil Gruplarına Göre COC Eldesine Etkisi	<b>40</b>
<b>4.11.</b> Yıkama İşleminin Persentil Gruplarına Göre MII Oosit, 2PN, D3 Embriyo ve D5 Embriyo Eldesi Üzerine Etkisi	<b>41</b>
<b>4.12.</b> Yıkama İşleminin Persentil Gruplarına Göre Gebelik Sonuçları Üzerine Etkisi	<b>43</b>
<b>4.13.</b> Persentil Alt Gruplarının ve Folikül Yıkama İşleminin COC, MII Oosit, 2PN, 3. Gün Embriyo ve 5. Gün Embriyo Eldesi Üzerine Etkisi	<b>46</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b><u>Sekil</u></b>		<b><u>Sayfa</u></b>
<b>2.1.</b>	Over Folikülü ve KümüLüs Oosit Kompleksi	<b>5</b>
<b>2.2.</b>	OPU İşlemi Öncesi Over Sagittal Kesiti	<b>7</b>
<b>2.3.</b>	Folikül Yıkama İşleminde Kullanılan Çift Lümenli İğne ile Folikül Aspirasyon Sistemi	<b>13</b>
<b>3.1.</b>	Güç Analizi Protokolü	<b>25</b>
<b>4.1.</b>	İlk Aspirasyon ve Yıkama İşlemi Sonrası COC Elde Yüzdeleri Grafiği	<b>26</b>
<b>4.2.</b>	Persentil Alt Gruplarına Göre İlk Aspirasyon- Yıkama- İşlem Sonu Toplam Folikül Başına COC Elde Yüzdeleri	<b>45</b>

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

İn Vitro Fertilizasyon (IVF) uygulanan hastalarda kümülatif canlı doğum oranları ve elde edilen oosit sayısı arasında güçlü bir ilişki bulunması nedeniyle oosit toplama (OPU) işlemindeki ana amaç, over foliküllerinden maksimum sayıda olgun oosit elde edebilmektir [1]. İlk olarak 1984 yılında transvajinal ultrasonografi (USG) eşliğinde OPU işleminin tanımlanmasıyla günümüzde standart olarak kullanılan transvajinal OPU tekniğinin temelleri atılmıştır [2].

Folikülden oositin elde edilmesi, folikülün duvarına bağlı kümülüs oosit kompleksinin (COC) folikül lümenine salınmasına dayanır. Böylece bir iğne yardımıyla transvajinal USG eşliğinde folikül sıvısının aspirasyonu yapılabilir ve elde edilen oosit in vitro ortama alınabilir. Günümüzde sıklıkla tek lümenli oosit toplama iğneleri kullanılmaktadır. Ancak, elde edilen oosit sayısını artırmak amacıyla çift lümenli iğneler de kullanılabilir. Çift-lümenli iğnelerde iki ayrı kanal bulunup, bir kanal folikül sıvısının aspirasyonu diğer kanal ise foliküle yıkama sıvısı verilerek COC'un folikül çeperinden ayrılmasını kolaylaştırabilmek için kullanılmaktadır. İlk aspirasyon sonrası COC elde edilemeyen folikül özel bir medyum ile yıkandıktan sonra yıkama sıvısının tekrar aspire edilmesi elde edilen oosit sayısını artırmak için kullanılabilir. Bu nedenle, çift lümenli iğnelere beklenen potansiyel etki OPU işlemi sonunda elde edilen oosit sayısını artırılmasıdır [3]. Teorik olarak çift lümenli iğnelerin kullanılmasının direkt aspirasyona göre elde edilen oosit sayısını arttırabileceği düşünülse de, tüm hasta gruplarını içeren meta-analizlerde her iki yöntem arasında elde edilen oosit sayıları arasında fark saptanmamıştır [4, 5]. Normal over rezervine sahip hastaların dâhil edildiği çalışmalarda elde edilen oosit sayılarının değişmediği bulunmuştur [6, 7]. Benzer şekilde, zayıf over rezervine sahip hastaların değerlendirildiği randomize kontrollü çalışmalarda (RKÇ) da her ne kadar çift lümenli iğne kullanılarak yıkama yapılan olgularda ortalama oosit sayılarında artış izlense de istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır [8, 9]. Buna karşın belirtilen RKÇ'lerde çoğunlukla  $\leq 4-5$  folikül gelişen olgular dâhil edilmesine karşın sadece tek folikül gelişen olgular dâhil edilmemiştir.

Tek folikül gelişimi olan hastalardan oosit elde edilememesi durumunda hastaların tedavileri zorunlu olarak iptal edilmektedir. 2020 yılında yayınlanan güncel bir RKÇ’de monofoliküler gelişim gözlenen hasta grubunda folikül yıkama uygulaması ile elde edilen oosit sayısının anlamlı olarak arttığı bulunmuştur [10]. Bu sonuçlar başka çalışmalar ile de desteklenmiştir [11]. Bu çalışmalar sonucunda, çok sayıda folikül gelişimi olan hastalarda tek lümenli iğneler ile yıkamasız olarak OPU işleminin yapılması, buna karşın zayıf ovaryan cevaplı ya da monofoliküler gelişim gözlenen hastalarda ise çift lümenli iğneler ile foliküllerin yıkanması klinisyenlerce sıklıkla ampirik olarak tercih edilmektedir [12].

Foliküler yıkamanın etkinliğinin incelendiği çalışmaların çoğunda randomizasyon yapılmasına karşın yıkama yapılan ve yapılmayan hasta gruplarının bazal özellikleri halen farklılık gösterebilmektedir. Bu durumda foliküler yıkamanın etkinliğinin net olarak değerlendirilebilmesi mümkün olmamaktadır. Buna karşın bir hastanın tek overindeki foliküllere yıkama yapılırken diğer overindeki foliküllerin yıkama yapılmadan sadece aspire edildiği “sibling dizayn” a sahip çalışmalar, hastalara bağlı özellikleri dışlaması nedeniyle önemli olabilir. Bu hususta, 2023 yılında yayınlanan güncel bir RKÇ’de foliküler yıkamanın, yalnızca aspirasyona kıyasla toplanan oosit sayısını over yanıtından bağımsız olarak tüm hasta gruplarında önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir [13]. Yine aynı çalışmada foliküler yıkamanın matür oosit, döllenme ve embriyo kalitesini olumsuz etkilemediği bulunmuştur.

Mevcut veriler ışığında, foliküllerin yıkanmasının fayda sağlayıp sağlamadığı konusunda literatürde henüz bir görüş birliği bulunmamaktadır. Yapılan çalışmalarda, yalnızca aspirasyon ve folikül yıkama uygulanan gruplar arasında, hasta başına elde edilen toplam oosit sayısı değerlendirilmektedir. Bu durumda, yıkama yapılan hastalarda dahi oositlerin bir kısmı ilk aspirasyon sırasında (yıkamasız olarak) elde edilmektedir. Ayrıca folikül boyutlarına göre de yıkama işleminin etkinliği farklılık gösterebilir. Foliküllerin boyutlarına göre yıkamanın etkinliğinin değişkenlik gösterip göstermediği de henüz araştırılmamıştır. Son olarak, ilk aspirasyon ya da yıkama sırasında elde edilen oositlerin izlenerek, bu oositlerden gelişen embriyo kalitelerinin ve gebelik sonuçlarının değerlendirildiği bir prospektif kohort bir çalışma da mevcut literatürde henüz bulunmamaktadır.

Çalışmamızda, OPU işlemi sırasında herhangi bir overdeki 12 mm ve üzerindeki en kolay ulaşılabilir folikül rastlantısal olarak seçilerek, belirtilen folikülün boyutları ve ilk aspirasyonda elde edilen saf folikül sıvısının miktarı kayıt altına alınmıştır. Şayet, laboratuvara gönderilen saf foliküler sıvı örneği içerisinde COC gözlenmedi ise yıkama işlemine geçilerek yıkama sıvısı ile oosit elde edilip edilmediği kaydedilmiştir. Direkt aspirasyon ya da yıkama ile oosit elde edilmesine göre her bir hastanın yalnızca bir oositi prospektif olarak takip edilmiştir. Çalışmamızın ana amacı; foliküler yıkama yapılmasının “indeks oosit” olarak isimlendirilen oositin matürasyonu, fertilizasyon kapasitesi ve bu oositten gelişen embriyonun kalitesine etkilerini değerlendirmektir. Şayet indeks oositten gelişen embriyo hastaya transfer edildiyse yıkama işleminin gebelik sonuçlarına etkisi olup olmadığı da ikincil olarak değerlendirilecektir. Bu sayede OPU’da folikül yıkama uygulamasının oosit eldesine katkısı hem hasta hem de folikül özellikleri göz önünde bulundurularak değerlendirilecektir. Yıkama sonucu elde edilen oositin takibi ile yıkama uygulamasına bağlı oositin zarar görüp görmediği belirlenecektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Folikül Gelişim Fizyolojisi

Overlerde foliküler faz sırasında ovülasyonun gerçekleşeceği folikül sırasıyla; preantral, antral ve preovulatuvar folikül aşamalarından geçmektedir. Ovülasyonun gerçekleşeceği folikül siklusun ilk günlerinde seçilmektedir [14]. Yaklaşık 85 günlük sürenin ardından preovulatuvar folikül aşamasına gelinir ve bu süreç büyük oranda hormonal regülasyondan bağımsızdır [15]. Foliküler gelişimin histolojik olarak ilk belirtisi oosit boyutlarında artış ve granüloza hücrelerinin kuboid formunu almasıdır.

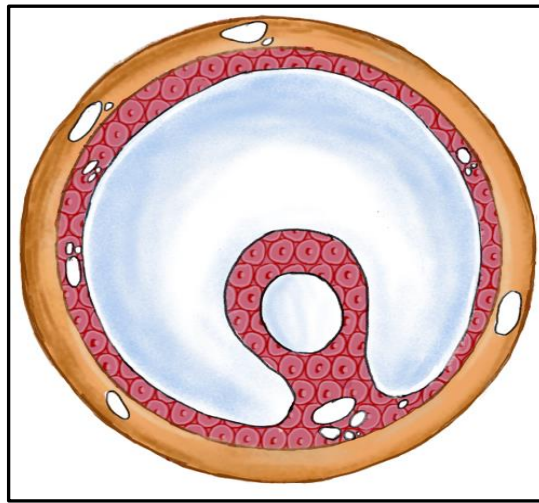
Granüloza hücrelerinin miktarındaki artış ile primordial folikül primer folikül haline gelmektedir. Granüloza tabakasını stromal hücrelerden bazal lamina ayırmaktadır. Stromal hücreler teka interna ve teka eksternaya dönüşürler. Foliküler büyüme devam ettikçe oositin etrafı zona pelucida ile çevrili hale gelir ve preantral folikül oluşur. Granüloza hücrelerinde ilk olarak preantral folikül evresinde folikül stimulan hormon (FSH) reseptörleri izlenmeye başlar [16].

Foliküler faz başlangıcında östrojen ve progesteron seviyelerinin düşüklüğü sebebiyle gonadotropin releasing hormon (GnRH) salınım sıklığı artmakta ve bu durum FSH salınımına sebep olmaktadır [17]. FSH ise granüloza hücreleri üzerinden östrojen salınımına sebep olmaktadır. Artan östrojen ve FSH birlikteliği granüloza hücrelerinde mitotik aktivite ve FSH reseptör sayısında artışa sebep olur. Granüloza hücreleri arasında sıvı birikimi meydana gelir ve antral folikül oluşur. Preantral ve antral foliküllerde lüteinizan hormon (LH) reseptörleri sadece teka hücrelerinde, FSH reseptörleri de sadece granüloza hücrelerinde bulunmaktadır. İki hücre- iki gonadotropin teorisi adı verilen bu sistemde LH uyarısı ile teka hücrelerinde androjen sentezi olmakta, bu androjenler granüloza hücrelerinde FSH etkisi altında östrojene dönüştürülmektedir [18]. FSH varlığında folikül sıvısı östrojen hakimiyeti altında bulunur ve midsiklusa kadar folikül sıvısı içerisinde LH bulunmaz. Erken LH artışı ile folikülde dejeneratif değişiklikler başlayabilir.

## 2.2. Dominant Folikülün Seçimi

Östrojen etkisi altındaki folikül ovülasyonun gerçekleşeceği dominant foliküle ilerlemekte ve çoğu durumda her ay bir folikül bunu başarabilmektedir ancak istisnalar mevcuttur [19]. Artan östrojen seviyesi dominant folikülde FSH reseptörü sayı ve duyarlılığını artırmakta, FSH salgısını ise inhibin B ile birlikte azaltmaktadır [20]. Azalan FSH miktarı ve androjenik mikroçevrenin artışı ile birlikte dominant folikül haricindeki az gelişen diğer foliküller atreziye uğramaktadır [21].

Antimüllerian hormon (AMH), ilk olarak erken primordial foliküllerde saptanmakla birlikte, küçük antral foliküllerde pik değere ulaşmaktadır [22]. Parakrin etki ile FSH uyarımlı folikül büyümesini inhibe eden AMH, küçük foliküllerin gelişimini baskımlarken, dominant folikülün gelişimine engel olmamaktadır. Bu sayede AMH, büyüyen folikül sayısı ile korele seviyeleri kaynaklı over rezerv parametreleri arasında gösterilebilmektedir [23]. Yüksek östrojen seviyeleri ve FSH etkisi ile granüloza hücrelerinde ovülasyonun gerçekleşmesi için gerekli olan LH reseptörleri arttırılır [24]. Folikül büyümeye devam ettiği süreçte preantral folikül halini alır. Foliküler fazın son dönemlerinde östrojen seviyeleri düzenli olarak artar ve ovülasyonun gerçekleşmesinden yaklaşık 24-36 saat önce pik seviyelere ulaşır [25]. Granüloza hücrelerinde LH etkisi altında progesteron yapımı başlar ki bu durum pozitif feedback etki ile LH pikinin sağlanmasında etkilidir [26].



Şekil 2.1. Over Folikülü ve Kümülüs Oosit Kompleksi

### **2.3. Ovülasyon Fizyolojisi**

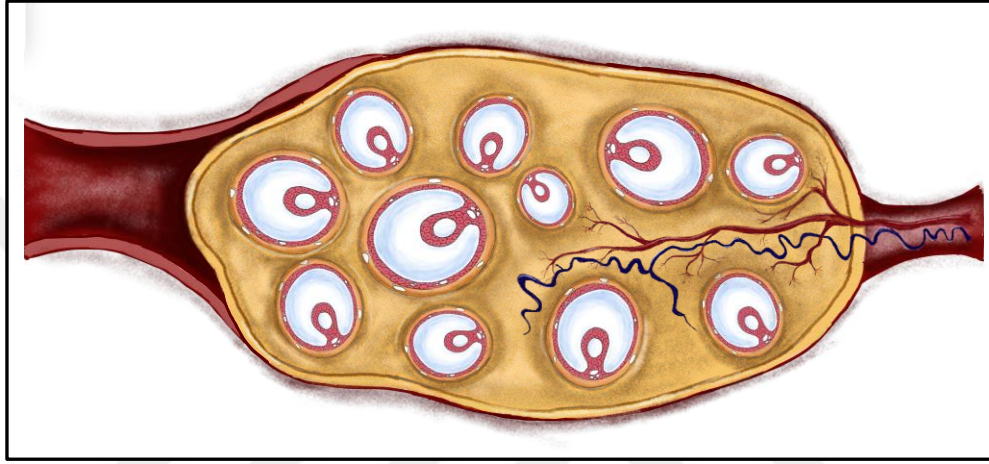
Östradiol'ün (E2) pik düzeylere ulaşmasından yaklaşık 24-34 saat, LH pikinden ise yaklaşık olarak 10-12 saat sonra ovülasyon gerçekleşir [27]. LH artışı genellikle 48-50 saat süresince sürmekte [28] olup oosit matürasyonunun tamamlanabilmesi için eşik konsantrasyon düzeyinin 14-27 saat korunması gerekmektedir ki bu durum ovülasyonun en güvenilir belirteçidir [28]. LH seviyelerinde ani yükseliş oositteki mayozun yeniden başlamasını, granüloza hücrelerinin luteinizasyonunu, folikül rüptürü için gerekli prostoglandin ve diğer maddelerin salınımını sağlar. OPU işleminin başarı ile tamamlanabilmesi için LH piki sonrası, foliküler rüptür gerçekleşmeden foliküler sıvının folikül içinden iğne yardımıyla aspire edilerek, oositin elde edilmesi gereklidir.

### **2.4. Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon**

Üreme fizyolojisinde artan bilgi birikim, klinik tecrübe ve farmakolojik ilerlemeler dahilinde IVF yöntemleri içerisinde birden fazla sayıda folikül gelişimi hedeflenerek, daha fazla oosit elde edilmesine yönelik uğraşlar kontrollü ovaryan stimülasyon uygulamalarını kliniklere kazandırmıştır. Gonadotropinler ile uygulanan stimülasyonlarda doz, süre, uygulama şekli ve ek tedaviler varlığı zaman içerisinde bireyselleşmiş ve her hasta için günden güne artan şekilde daha da etkili hale gelmeye başlamıştır. Tedavilerin bireyselleştirilmesi her hastanın özelliklerine uygun olarak, gebelik ihtimalini maksimuma, çoğul gebelik riskini ise minimuma indiren, iyatrojenik risklerin de en düşük seviyede tutulduğu bir yaklaşım modelinde uygulanmasına olanak sağlamıştır.

Klinisyenler genel bir yaklaşım olarak vücut kitle indeksi (VKİ), AMH, antral folikül sayısı (AFC) ve/veya bazal FSH ve E2 ölçümü gibi tetkikleri ve hastanın önceki stimülasyon cevaplarını da referans alarak hastalarını normal, aşırı ve zayıf cevaplı olarak gruplamalara gider [29]. Hastanın over yanıtı belirlendikten sonra uygun protokolün bireysel olarak belirlenmesi gerekmektedir. Hangi protokol kullanılırsa kullanılсын temel hedef ideal sayı ve kalitede oosit ve bu oositlerden gelişecek maksimum sayı ve kalitede embriyolar elde etmektir. Bu amaçla over stimülasyonunda FSH, LH ve human menopozal gonadotropin (hMG) preparatları

yalnız ya da kombine halde kullanılabilir. Hormonal kontrol sağlamak amacıyla GnRH agonist ve antagonistleri, medroksiprogesteron asetat veya didrogesteron gibi progestinler ve son olarak oosit maturasyonu sağlanması amacıyla human koryonik gonadotropin (hCG), GnRH agonisti ya da bunların kombine kullanımı gibi farklı tedavi uygulamaları hastalar arasında farklı tedavi protokollerinin oluşmasını sağlamaktadır.



Şekil 2.2. OPU İşlemi Öncesi Over Sagittal Kesiti

## 2.5. Ovulasyonun Tetiklenmesi

OPU, hastalar arası bireyselleştirilmiş durumlar dışında çoğu merkezde geleneksel olarak, stimülasyon sırasında  $>3$  adet 17 mm'den büyük folikül veya en az bir adet 20 mm folikül bulunduğunda veya  $>14$  mm ölçülen toplam folikül sayısı  $\geq 8$  olduğunda planlanır [30]. Fizyolojik olarak LH piki ortalama 32 saat olmakla birlikte 24-56 saat içinde ovülasyona yol açar ancak KOH sırasında doğal endojen LH salgısı baskılanmıştır. Bu nedenle LH tetiği ile ovülasyon sağlanabilmesi için hCG ya da GnRH agonistleri gibi ekzojen bir gonadotropine ihtiyaç duyulur.

Tetikleyici ajan enjeksiyonu ve OPU arasındaki süre zarfında lüteinizasyon başlangıcı, kümülüs hücrelerinin genişlemesi ve oosit mayozunun yeniden başlaması gibi bir dizi önemli sürecin gerçekleşmesi gerekmektedir. Bu nedenle OPU işlemi vaktinden erken yapılacak olursa olgunlaşmamış oositlerin toplanma riski, işleme geç kalınacak olursa da postmatürite ve ovülasyon riski oluşabilir ve her iki sonuçta da oosit kaybı yaşanabilir.

Doğal fizyoloji doğrultusunda geleneksel olarak oosit toplamanın, tetikleyici ajan enjeksiyonundan 36 saat sonra gerçekleştirilmesi ile ovülasyon riskinin ve olgun oosit kaybı riskinin en aza indirilmesi hedeflenmiştir. OPU'nun tetikleme enjeksiyonundan sonraki 36. saatin öncesinde veya sonrasında gerçekleştirildiği hastalar arasındaki farkları inceleyen bir meta-analiz; bu hasta grupları arasında dölleme, implantasyon veya gebelik oranları açısından anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir. Ancak, OPU işlemi, tetikleme enjeksiyonun 36. saatinden sonrasında yapılan hastalarda, tetikleme enjeksiyonunun 36. saatinin öncesinde yapılanlara göre daha fazla metafaz 2 (MII) aşamasında olgun oosit elde edildiği saptanmıştır [31].

Tetikleyici ajan enjeksiyonu sonrası uzamış etki sebebiyle spontan ovülasyon hala dikkat edilmesi gereken bir konudur. Ancak, birkaç çalışma, tetikleme enjeksiyonundan sonraki ilk foliküler rüptür ya da ovülasyonun 38 ile 41 saat arasında gerçekleştiğini bildirmiştir [31]. Bu nedenle, tetikleme enjeksiyonundan sonra oosit toplamanın 36 ile 38 saat arasında gerçekleştirilmesi, daha olgun oositlerin toplanmasını sağlamanın yanı sıra KOH sikluslarının foliküler rüptür sebebiyle iptal edilme riskini en aza indirmek için ideal bir hedef olacaktır. Önceki denemelerinde prematür ovülasyon öyküsü olan hasta grubunda ise toplama zamanının 36 saatten öne çekilme seçeneği göz önünde bulundurulmalıdır.

Tetikleyici ajan enjeksiyonunda amaç LH piki ile MII aşamasına geçişin sağlanmasıdır. Yapısal benzerliği sebebiyle uzun yıllar üriner kaynaklı hCG ovulatuvar ajan olarak kullanılmıştır. Son yıllarda rekombinant DNA teknolojisindeki gelişmeler ile birlikte saf hCG ve LH preparatları üretilmiş ve tetikleyici ajan olarak kullanıma girmişlerdir. Yine GnRH agonistleri de uygun protokollerde kullanılabilir. Eş zamanlı olarak standart doz hCG ve GnRH agonistlerinin beraber kullanılması "dual", farklı zamanlarda uygulanmalarına ise "double" tetikleme olarak adlandırılmaktadır.

## 2.6. OPU Tarihçesi

İlk IVF denemelerinde oositleri toplamak için laparotomi kullanılmış ve süreç içinde kanama, enfeksiyon, ağrı, çevre organ hasarı gibi potansiyel zararlar ve uzun iyileşme süreleri sebebiyle alternatif cerrahi seçeneklerin arayışına gidilmiştir. Laparoskopinin yaygınlaşması ile yapılan denemeler sonucunda toplanan oosit miktarında değişim görülmemiş fakat laparotomik tekniğe göre daha az miktarda kanama, daha az enfeksiyon, daha az postoperatif ağrı skorları, daha hızlı taburculuk süreleri gibi üstünlükleri sebebiyle laparoskopi tercih sebebi olmuş fakat genel anestezi ihtiyacı, foliküllerin kötü vizualizasyonu gibi sebepler kaynaklı alternatif arayışları devam etmiştir. 1972’de, Kratochwil’in overlerin USG ile görüntülenmesi üzerine yayını ile birlikte yeni bir alternatif alan ortaya çıkmıştır [32]. Foliküllerin ultrasonografik olarak daha iyi görüntülenmesi, oosit toplama için daha güvenli ve daha doğru bir yöntem sunmuş ve ayrıca USG eşliğinde yaklaşım maliyet etkinliği ve risk minimalizasyonu sebebiyle tercih sebebi olmaya başlamıştır [33]. USG eşliğinde, perkütan [34], transvezikal ve perüretal [35] dahil olmak üzere çeşitli oosit toplama yöntemleri geliştirilmiştir. Abdominal USG’de cilt dokusu ile overler arasındaki mesafenin uzaklığı sebebiyle ortaya çıkan komplikasyonların önlenmesi ve daha net görüntüler elde edilebilmesi amacıyla yola çıkan çalışmalarda transvajinal prob ile oosit toplama tanıtılarak güncel olarak IVF döngülerinde en yaygın oosit toplama yöntemi olan transvajinal oosit toplamanın temelleri atılmıştır [2, 36]. Transvajinal oosit toplama, önceki alternatiflerine kıyasla daha basit ve daha hızlı olmasının yanında daha az invaziv olması ve minimal anestezi gerektirmesi sebebiyle, üremeye yardımcı tedavi merkezlerinde oosit toplama için en etkili yaklaşım olmuştur ve IVF tedavisinde oosit toplama için altın standart yaklaşım olarak dünya çapında kullanılmaktadır [37].

## **2.7. OPU Ekipmanları**

### **2.7.1. USG Cihazı ve Vajinal Prob**

USG ekipmanı doğru bir şekilde yapılandırılmış multifrekans, transvajinal (5-7.5 MHz) proba sahip olmalıdır. Bu frekans yeterli penetrasyon derinliğini ve çözünürlüğü sağlamaktadır. Toplam uzunluğu 40 cm civarında olan bir prob görüntüleme ve toplama işlemi sırasında kolaylıkla kullanılabilir ve ince steril bir kılıfın içinde hasta ile temas etmelidir. Sterilitenin korunması için kuralların katı olarak uygulanması, hasta ile temasta sadece steril malzemelerin kullanılması bu prosedürler sırasında standart uygulama haline gelmiştir. Vajinal probun her hasta arasında dezenfeksiyonu, bakteriyel kontaminasyonları azaltmak için de önerilmektedir.

### **2.7.2. Aspirasyon Pompası**

Pompa vakum aspirasyonu, aspirasyon fonksiyonunu açıp kapatmak için kullanılan bir pedal ile önceden tanımlanmış negatif basıncı sağlayan düzeneği aktive eden bir pedal ile kullanılan tıbbi bir cihazdır. Oosit eldesinde kullanılan aspirasyon basıncı, COC bütünlüğünü etkileyebilme potansiyeli sebebiyle kullanılan sistem ve ayarlanan basınç değerleri kritik bir öneme sahiptir. 180 mmHg'dan yüksek aspirasyon basıncı, oosit hasarı ve zayıf embriyogenez ile ilişkilendirilmiştir [28]. Buna karşılık, 90 ila 120 mmHg arasındaki daha düşük aspirasyon basınçları iyi oosit kalitesi ve minimal hasar ile ilişkilendirilmiştir [29].

Özellikle, daha düşük aspirasyon vakumu kullanıldığında, olgunlaşmamış oositlerin sayısının arttığı, aynı zamanda sağlam kümülüs hücrelerinin, fertilize olan oositlerin ve iyi kalite embriyoların sayısının da arttığı gözlemlenmiştir. Buna karşılık, aspirasyon vakumu belirli bir eşiği aştığında, toplanan oositlerin sayısında azalma olmuştur; bu durum muhtemelen tüpteki giriş akışı ve kanın pıhtılaşması nedeniyle oluşan lokal türbülans nedeniyle meydana gelmektedir.

### **2.7.3. Isıtıcı Sistemler**

Oositlerin in vivo ortamdan in vitro ortama alınması sonrasında sabit bir sıcaklıkta (36–37°C) muhafaza etmek amacıyla IVF laboratuvarlarında, oositlerin bulunduğu foliküler sıvı içeren tüpleri tutmak için termoblokler kullanılır.

Sığır çalışmalarından elde edilen kanıtlar, oositlerin maruz kaldığı ısı şokunun erken embriyoların morfolojisini etkileyebileceğini ve dolayısıyla, bölünme ve blastokist oluşumunu olumsuz yönde etkileyebileceğini göstermiştir [38, 39]. Ayrıca, sıcaklık değişimlerinin yine anormal fertilizasyon ve değişmiş embriyo gelişimi ile sonuçlanabileceği gösterilmiştir [40]. Foliküler sıvılar incelenmeyi beklerken termoblokta ne kadar uzun süre kalırsa, sürecin ısıtma cihazının verimliliğine o kadar bağımlı hale geldiği önemle vurgulanmalıdır. Bu nedenle, oositlerin iyi koşullarda elde edilmesi için genel bir kural olarak, elde edilen sıvılar küçük örneklerle ayrılmalı ve mümkün olan en kısa sürede analiz edilmelidir.

#### **2.7.4. İğne**

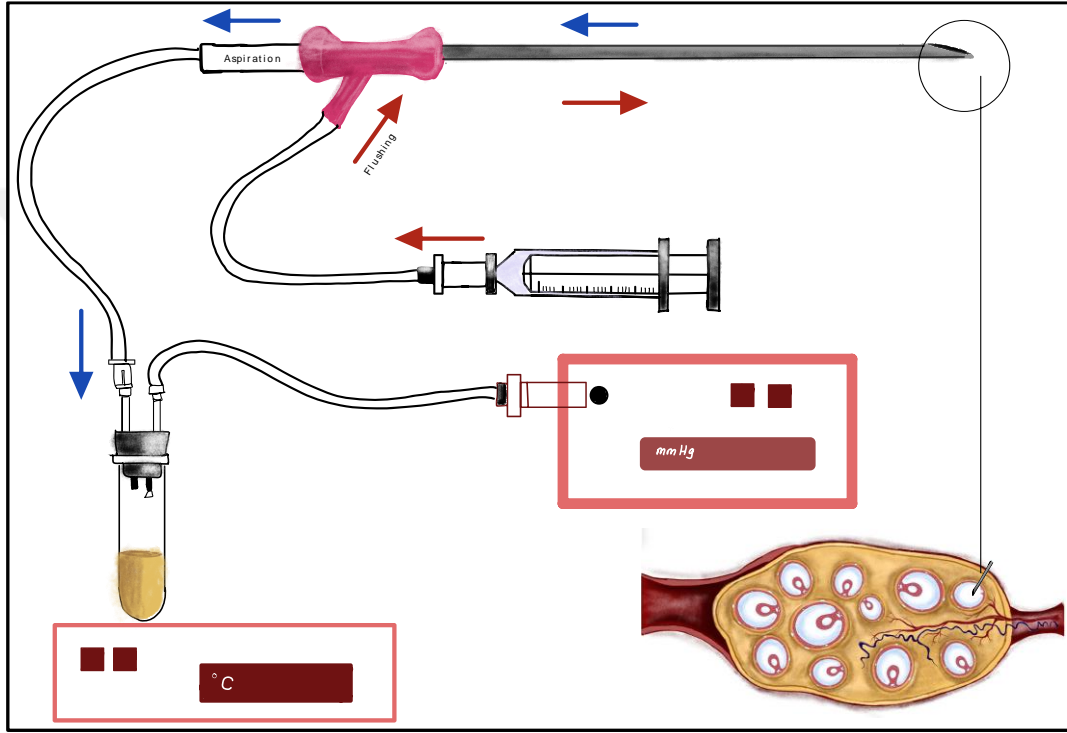
ÜYT'nin yaygın olarak kullanımıyla birlikte OPU için farklı amaçlar doğrultusunda, farklı şekillerde tasarlanmış iğneler geliştirilmiştir. Endüstri tarafından ticari olarak hizmete sunulan iğneler ana özellikleri bakımından oldukça benzerken; uzunluk, kalınlık (Gauge), iğnenin keskinliği, eko yansıtıcı ucu, tek veya çift lümenin varlığı ve hem konektörün hem de konektör hortumunun uzunluğu temelinde farklılıklar gösterebilmektedir. Bir OPU iğnesinin en kritik özelliklerinden biri, kompakt ve hasarsız olarak COC geçişine izin veren uygun bir kalınlıkta olmasıdır. En sık kullanılan kalınlık değerleri 16 ile 19 Gauge arasında değişirken, daha düşük kalınlıktaki iğneler, İn Vitro Matürasyon (IVM) için daha küçük foliküllerin aspirasyonunda tercih edilir. Doğru yaklaşım metodunda vajen ve over dokusu içinden geçerken minimal doku yaralanması ve minimal penetrasyon sayısı hedeflenir. Toplama esnasında sadece aspirasyon hedefleniyor ve foliküler yıkama düşünülüyorsa daha küçük çapı olan ve daha az rahatsızlık veren tek lümenli iğneler tercih edilmelidir. Çift lümenli iğneler ise foliküllerden foliküler sıvı alınırken eş zamanlı olarak folikül içine sıvı infüzyonuna izin verir; folikül içinde türbülansı arttırarak COC'un folikül duvarından ayrılmasına yardımcı olur ve daha fazla olgun oosit elde etme şansını artırabilir. Literatürde kullanılan iğne kalınlığı ve toplanan oosit sayısı arasındaki sonuçları değerlendiren az sayıda çalışma bulunmaktadır. 15, 17 veya 18 Gauge iğnelerin karşılaştırıldığı bir RKÇ'de, iğne kalınlığına bakılmaksızın toplanan oosit sayısının benzer olduğu ancak 15 Gauge iğne ile 17 veya 18 Gauge iğneler arasında ağırlık skorları açısından

farklılıklar bulunduğu gösterilmiştir [41]. Literatürde güncel olarak işlem sırasında hangi iğne tipinin kullanılacağı konusunda net bir fikir birliği mevcut değildir ve hasta bazlı tercihte mevcut endikasyonlar, maliyet etkinlik ve hekim tercihi etkilidir.

## 2.8. Folikül Yıkama

Oosit toplamanın amacının prosedürün sonunda maksimum sayıda olgun oosit elde etmek olduğu düşünüldüğünde son yıllarda ekipmanı iyileştirmeye yönelik çabalarla birlikte toplanan oosit sayısında artış hedeflenmiştir. Çift lümenli toplama iğnesi, aspire edilen bir foliküle ekstra sıvı enjekte etmek ve folikül çeperlerinde adeze bir COC'un toplanabilme olasılığını artırmak amacıyla geliştirilmiştir [42]. Foliküler yıkamanın potansiyel faydası, toplanan oosit sayısının artmasıdır, bu da klinik gebelik ve canlı doğum oranlarını artırabilir. Ancak, potansiyel dezavantajlar arasında daha uzun prosedür süresi, daha fazla anestezi maruziyeti ve daha fazla doku irritasyonu bulunmaktadır. Foliküler yıkama, teorik olarak, önemli bir endokrin luteal destek fonksiyonunu yerine getirebilecek bazı foliküler hücrelerin uzaklaştırılmasına neden olabilir. 2010 yılına ait bir Cochrane derlemesinde, normal ovaryan yanıtı sahip hastalarda folikül yıkamanın ÜYT sonuçlarını iyileştirmede prosedür süresini ve anestezi süresini artırdığından bahsedilmektedir [12]. Bu nedenle, normal ovaryan yanıtı popülasyonda folikül yıkamanın önerilmemesi gündeme gelmiştir [43]. Düşük ovaryan yanıtı kadınlarda kümülüs oosit komplekslerinin daha az lüteinizan hormon reseptör duyarlılığına sahip olması ve normal ovaryan yanıtı kadınlarla karşılaştırıldığında tutulan oositin folikül duvarından kolay ayrılma potansiyeli sebebiyle bu prosedür, düşük ovaryan yanıtı kadınlarda toplanan oosit sayısını artırmak amacıyla desteklenmektedir [4]. Birkaç sene önceye kadar foliküler yıkamanın etkinliğinin incelendiği çalışmaların neredeyse tamamında randomizasyon farklı hasta grupları üzerinde sağlanmıştır. Bu çalışma tasarımlarının foliküler yıkamanın gerçek etkisini gösteremeyeceği düşüncesi ile aynı hasta üzerinde sağ ve sol over randomizasyonu ile gerçekleştirilen ve 2023 yılında yayınlanan bir RKÇ'de foliküler yıkamanın, yalnızca aspirasyona kıyasla toplanan oosit sayısını over yanıtından bağımsız olarak önemli ölçüde artırdığı

gösterilmiştir [13]. Yine aynı çalışmada foliküler yıkamanın, oosit olgunlaşmasını, döllelenmesini veya embriyo kalitesini olumsuz etkilemeden, önemli ölçüde daha yüksek oosit eldesi sağladığı bulunmuştur. Bu çalışma sonuçları ile foliküler yıkamanın oosit eldesindeki artışa etkisi yeniden gündeme gelmiş fakat folikül özelliklerine spesifik ve yıkama sonucunda elde edilen oositin bir takip çalışması literatüre hala kazandırılmamıştır.



**Şekil 2.3.** Folikül Yıkama İşleminde Kullanılan Çift Lümenli İğne ile Folikül Aspirasyon Sistemi

## 2.9. OPU Komplikasyonları

Oosit toplamada en sık bildirilen komplikasyonlar kanama, pelvik enfeksiyon, pelvik organ yaralanmaları ve sedasyon veya anestezi ile ilgili komplikasyonlardır. Daha nadir görülen komplikasyonlar literatürde genellikle vaka raporları olarak bildirilmiştir [44].

Transvajinal yaklaşım düşük komplikasyon oranları nedeniyle genellikle güvenli kabul edilmekte olup, Avrupa İnsan Üreme ve Embriyoloji Derneği (ESHRE) IVF-izleme Konsorsiyumu tarafından 999530 tedavi siklusunun verilerini içeren bir raporda, oosit toplama sürecinde hastaların %0,13'ünde

komplifikasyonlar bildirilmiştir [45]. 43 ülkenin verilerini içeren bu raporda en sık komplifikasyon %0,1 ile kanama olarak raporlanmıştır ki tüm OPU sürecine ait komplifikasyonlar arasında %72,3 oran ile ilk sırada bulunmaktadır. Ülkemize ait veriler bu raporda bulunmamaktadır.

### **2.9.1. Kanama**

Komplikasyonsuz bir OPU işleminde ortalama kan kaybı 72-230 ml arasında beklenmekte olup bu çoğu hasta için klinik öneme sahip olmayan bir değerdir [46]. Vajinal duvardan kaynaklanan kanama için yeterli hemostaz genellikle, tampon uygulaması, sütürasyon veya lokal hemostatik ajanların kullanımı gibi basit önlemlerle sağlanabilir. Ciddi intraperitoneal kanama vakaların %0.06-0.36'sında görülür [47]. OPU sonrası kanama riskini minimize edebilmek adına operatörler tarafından mümkünse over korteksinde minimum penetrasyonla ilerlenmesi önemlidir. Operatör lüzum görmesi halinde vasküler yapıların ekartasyonu amacıyla Doppler ultrasonografi kullanımından kaçınılmalıdır. Yine post operatif dönemde hemodinamik bozulma açısından takipte kalınmalı ve gereklilik halinde laparoskopi veya laparotomi seçenekleri acil müdahale için düşünülmelidir.

### **2.9.2. Pelvik Enfeksiyon**

OPU sonrasında gelişebilecek pelvik enfeksiyon oranları %0,04 ila 0,77 arasında değişken ve görece düşük oranlarda bildirilmesine rağmen enfeksiyonun varlığında hastaneye yatış gerekliliğinin yüksekliği nedeniyle önemli bir komplifikasyondur [44].

Sterilizasyonun tam olarak sağlanamadığı durumlarda kontaminasyon nedeniyle pelvik enfeksiyon gelişebileceği unutulmamalı, yine OPU kaynaklı bir hemorajinin ideal bir kültür ortamına sebep olabileceği sebebiyle hemoraji gelişen vakalarda pelvik enfeksiyon açısından dikkatli olunmalıdır. OPU öncesi rutin antibiyotik profilaksisi önerilmese de PID öyküsü, hidrosalpinks, endometrioma, perfore apandisit öyküsü veya birden fazla geçirilmiş pelvik cerrahi öyküsü varlığında risk artışı sebebiyle antibiyotik profilaksisi düşünülmelidir.

### **2.9.3. Pelvik Organ Yaralanması**

Üreterler, mesane, bağırsaklar, pelvik kan damarları ve pelvik sinirler gibi birçok pelvik alanda bulunan yapı transvajinal oosit toplama sırasında hasar görme riski taşımaktadır. Geçirilmiş PID, çoklu batın cerrahisi öyküsü ve endometrioma gibi etkenler anatomik farklılaşma sebebiyle teorik bir risk faktörü oluştursa da bu gibi durumlarda overlerin peritona adeze olması OPU sırasındaki pelvik organ yaralanması riskini minimale indirebilir. Ciddi olmayan pelvik organ yaralanmaları sıklıkla kendiliğinden iyileşmekte ve bu durum insidansı belirlemede zorluğa sebep olmaktadır.

### **2.10. OPU Prosedürü**

İşlem başlamadan önce, hastaya idrarını boşaltması tavsiye edilmelidir, böylece mesane yaralanma riski azalır ve transvajinal oosit toplaması sırasında overlere erişim kolaylaştırılmış olur. Transvajinal OPU'da USG probu, steril bir plastik koruyucuyla kaplanır ve iğne yönlendiricisi takılır. Daha sonra ameliyathane odasında anestezi uygulaması sonrası hasta litotomi pozisyonuna alınır, sterilitenin sağlanmasını takiben OPU prosedürü başlatılabilir. Vakum basıncı, oosit bütünlüğünü etkileyerek oosit kalitesini azaltabileceği ve zona pellucida olmayan oositlerin oranını artırabileceği için kontrol edilmelidir. OPU işlemi sırasında en az bir operatör (jinekolog) ve bir yardımcı (hemşire) gereklidir. Operatör folikül aspirasyonunu gerçekleştirirken, yardımcı her bir aspirasyon yapılan folikül için tüpleri değiştirir. İdeal şartlar altında ovaryan kortekste tek bir delme işlemi ile tüm foliküllere erişim buradan sağlanmalıdır. İlk olarak kortekse yakın, erişimi kolay foliküllerin aspirasyonuna başlanır. Folikülün kollabe olması sırasında foliküler duvarların iğne ucunu kapatması ihtimaline karşılık işlem sırasında iğneye rotasyon manevrası uygulanmalıdır. Foliküler sıvı, 37°C sabit ısıdaki termoblokta muhafaza edilen steril tüplerde toplanır. Tüp sıcaklığı korumak için termoblokta IVF laboratuvarına transfer edilir. Elde edilen foliküler sıvı, biyologlar tarafından mikroskop altında analiz edilir ve oositlerin varlığı ve sayısı teyit edilir. İşlem sonunda vajen ve serviks kaynaklı kanamalar mutlaka kontrol edilmelidir.

## 2.11. Foliküler Sıvıların İncelenmesi

Foliküler aspirasyon sıvılarının incelenmesi, sıkı aseptik koşullarda, dikey laminer akış kabini altında ve mümkün olan en az ısı kaybı ile gerçekleştirilmelidir [48]. COC aranması, daha iyi hücre kırılması için arkadan aydınlatma ile çıplak gözle yapılabilir.

Sıvının büyük bir petri kabına alınması, oositin kümülüs ve korona radyata hücreleri içinde yerini belirlemeyi mümkün kılar. İzolasyon, oositin sıcaklığını 37°C'ye yakın tutmak için ısıtılmış bir platforma sahip stereomikroskop altında yapılır. Işık ve dış ortam maruziyeti minimumda tutulmalı ve örnek analizi hızlı yapılmalıdır [49]. Foliküler sıvının hemorajik olduğu durumlarda, hızlı analiz pıhtılaşma risklerini azaltır. Sıcaklık ve ısı gibi fiziko-kimyasal parametrelerin mümkün olduğunca sabit tutulmasını sağlamak için depolama koşulları kontrol edilmelidir.

İzolasyonu ve morfolojik değerlendirmeyi takiben konvansiyonel IVF veya Intrazitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) işlemlerine kadar 37°C'de ve %5-6 CO<sub>2</sub> içeren bir inkübatörde uygun bir ortamda saklanır.

Her canlı türünde oositlerinin döllenebilmesi için farklı zaman dilimleri mevcuttur. Döllenme penceresi ismi verilen bu dönem insanda LH artışından sonraki 24 ila 36 saat arasındadır [13]. Bu sebeple İnseminasyon ya da mikroenjeksiyon zamanı, oosit kalitesi ve/veya embriyo gelişimi için önemlidir. Pencere tamamlandığında, insan oositinin in vitro yaşlanma süreci başlayacak ve bu durum anormal yumurta aktivasyonuna, apoptoza ve anöploidide karşı artan bir eğilime sebep olacaktır [50]. Genellikle, olgun oositlerin inseminasyonu ya da mikroenjeksiyonu OPU işleminden yaklaşık 4 saat sonra yapılır. Aynı nedenlerle, oositleri dondurmak yerine döllendirmek istenirse, aynı önlemler alınmalıdır.

## 2.12. Oosit Değerlendirmesi

Oosit kalitesi, kadın fertilitésinin bağlı olduğu en önemli unsurdur [51]. OPU işleminde toplanan yumurtalar COC olarak tanımlanan, oositin gelişim aşamasında ve fertilizasyona kadarki süreçte gelişimini ve canlılığını destekleyen binlerce kümülüs hücresi ile çevrilidir. Eğer ICSI planlanıyor ise, kümülüs hücreleri

denudasyon olarak tanımlanan bir işlem ile oositten ayrılır. Denudasyon sonrasında oositlerin germinal vezikül, metafaz I veya MII gibi hangi mayoz evresinde bulduklarına dair bir değerlendirmede bulunmak mümkün olur [52]. Oosit olgunlaşması, nükleer ve sitoplazmik olgunlaşmanın senkronizasyonunu gerektiren karmaşık bir olaydır. Mayozun devamı, LH artışı ile başlar ve oosit mayoz I'ın profazından mayoz II'ye geçer ve sperm ile karşılaşmayı ve döllenmeyi bekleyerek MII'de tekrar durur. Toplanan oositlerden sadece olgunluğunu tamamlamış (MII) hücrelere işlem uygulanır. 24 saat sonra yapılan bir inceleme ile 2PN yapısı görülmesi durumunda fertilizasyon başarısı doğrulanır. Fertilizasyon başarısızlığı durumu, oositlerin hatalı değerlendirilmeleri sonucu GV veya MI aşamasında olması veya intrasitoplazmik düz endoplazmik retikulum (sER) keseciklerinin varlığı ile kolayca açıklanabilir [50], ancak MII oositlerdeki fertilizasyon başarısızlığı da ICSI işlemi uygulanmış olsa dahi oositlerin yaklaşık %30'unu etkileyen bir durumdur [53]. MII oosit sitoplazmasında düz endoplazmik retikulum (sER) kümelerinin varlığı, düşük gebelik oranları ile ilişkilidir [54]. Konvansiyonel IVF'te bu durum aynı zamanda fertilizasyon başarısızlığı ile ilişkilidir ve ICSI işlemi ile daha başarılı sonuçlar elde edilmektedir.

### **2.13. Fertilizasyonun Değerlendirilmesi**

Fertilizasyonun gerçekleşmesinden sonra oosite zigot adı verilir. Zigotun sitoplazmasında 2 pronükleus (2PN) ve perivitellin aralıkta 2 polar cisimcik bulunmaktadır. Fertilizasyonun doğrulanması inseminasyondan sonraki 16-18. saatlerde yapılmalıdır. Fertilizasyon değerlendirilirken kişisel farklılıkların göz ardı edilmemesi ve polar cisimciklerin parçalanabilme ihtimaline bağlı olarak tek bir polar cisimciğin iki polar cisimcik gibi değerlendirmeye alınabileceği unutulmamalıdır [55]. Fertilizasyon kontrolünde 2PN yapısı yerine tek ya da daha fazla sayıda pronükleus gözlenebilir ki bu durum anormal fertilizasyon lehinedir.

#### **2.14. Bölünme (Klivaj) Aşamasındaki Embriyonun Gelişimi**

Hücre bölünmesi embriyo canlılığının en önemli göstergesidir. Zigotta ilk bölünme pronükleus zarlarının yıkılmasından ortalama 3 saat sonra gerçekleşir. İlk bölünmenin gerçekleşmesinin ardından zigota embriyo, bölünen hücrelere ise blastomer adı verilir. Embriyodaki ilk üç mitoz bölünme yarıklanma veya klivaj bölünmesi olarak isimlendirilir. İlk bölünme ile 2 hücreli, 2. gün 4 hücreli, 3. gün 8 hücreli embriyonun gelişimi beklenmektedir. Klivaj aşamasındaki embriyonun değerlendirilmesinde hücre sayısı ve bölünme hızı, blastomerlerin büyüklüğü, blastomerlerin sitoplazmik özellikleri ve uzaysal dağılımı, fragmentasyon, blastomerlerdeki nükleus özellikleri ve multinükleasyon gibi morfolojik özellikleri incelenir.

#### **2.15. Klivaj Aşamasındaki D3 (3. Gün) Embriyonun Skorlanması**

ESHRE 2011 konsensus raporuna göre optimal 3. Gün embriyosunun 8 eşit büyüklükte mononükleer blastomer ve <math>\leq 10\%</math> fragmentasyona sahip olması beklenir. Yine aynı raporda iyi kalite/ Grade 1 embriyo; <math>\leq 10\%</math> fragmentasyon, gün spesifik hücre büyüklüğü ve multinükleasyonun bulunmaması, orta kalite/ Grade 2 embriyo; %10-25 fragmentasyon, hücrelerin büyük bir bölümünde gün spesifik hücre büyüklüğü ve multinükleasyon bulunmaması, kötü kalite/ Grade 3 ; <math>> 25\%</math> fragmentasyon, gün ile uygunsuzluk gösteren hücre büyüklüğü, multinükleasyon görülmesi olarak tanımlanmıştır [55].

#### **2.16. Blastokist Aşamasındaki D5 (5. Gün) Embriyoların Morfolojik Özelliklerinin Değerlendirilmesi**

Embriyo 5. güne ulaştığında blastomerlerden hücre dışı alana sıvı çıkışına bağlı olarak ekstrasellüler alanda sıvı birikimi başlar. Zaman içerisinde birleşen sıvı birikimleri embriyonun merkez bölgesinde geniş bir boşluk oluşturarak blastosel adını alır. Blastoselin giderek genişlemesiyle zona pellusidada incelme ve embriyo çapında artış gözlenir. Bu dönemi takip eden süreçte blastomerlerin farklılaşmasıyla dışta trofoektoderm (TE), iç kısımda ise iç hücre kitlesi (ICM)

oluşur. ICM fetüsün oluşumundan, TE ise implantasyon, embriyonik zarların ve plasentanın oluşumundan sorumludur.

### **2.17. D5 Embriyoların (Blastokist) Skorlanması**

Blastokistin değerlendirilmesinde blastosel boşluğunun büyüklüğü, ICM ve TE hücrelerinin yapısı, sayısı ve birbirleriyle olan bağlantıları, blastokistin genişlemesi ve zona pellusidanın özellikleri kullanılır. ALPHA İstanbul Konsensusunda blastokistin gelişimi, TE ve ICM'nin özelliklerine göre bir skorlama sistemi geliştirilmiştir [55]. Bu skorlama sistemine göre;

Blastokistin gelişim aşamasına göre:

Grade1: Erken blastokist (Blastosel boşluğu embriyo hacminin yarısından az)

Grade2: Tam blastokist (Blastosel boşluğu embriyo hacminin yarısından fazla)

Grade 3: Tam blastokist (Blastosel embriyonun tamamını doldurmakta)

Grade 4: Genişlemiş blastokist (Blastosel boşluğu embriyonun orijinal büyüklüğünden daha fazladır)

Grade 5: Hatching blastokist (Blastokist zona pellusidadan ayrılmaya başlamış)

Grade 6: Hatch blastokist (Blastokist zona pellusidadan tamamen ayrı)

ICM'ye göre;

Grade A/İyi kalite: Sıkı paketli çok sayıda hücreden meydana gelen kompakt ICM

Grade B/Orta kalite: Gevşek paketli çok hücreli ICM

Grade C/Kötü kalite: Az sayıda hücreden oluşan zor ayırt edilen ICM

TE'ye göre;

Grade A/İyi kalite: Kesintisiz çok hücreli TE

Grade B/Orta kalite: Gevşek düzende görece az hücreli TE

Grade C/Kötü kalite: Az sayıda hücreden oluşan zor ayırt edilen TE

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız prospektif kohort bir çalışma olup, Akdeniz Üniversitesi Üremeye Yardımcı Tedaviler Merkezinde Haziran 2021 ve Haziran 2022 tarihleri arasında yürütülmüştür. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul'undan 28.04.2021 tarihinde çalışma için onay alınmıştır (Karar No: 186). Ayrıca, clinicaltrials.gov'da "The Effect of Follicular Flushing on Oocyte Retrieval Rate and Embryo Quality" adıyla kayıt altına alınmıştır (NCT05584436). KOH sonrasında OPU işlemi Prof. Dr. Şafak OLGAN tarafından yapılan tüm hastalar çalışmaya dâhil edilmiştir. Çalışmaya alınma kriteri olarak herhangi bir yaş sınırı uygulanmamıştır. Üremenin korunması amacıyla oosit kriyoprezervasyonu uygulanan hastalar sadece oosit özellikleri açısından değerlendirilirken, fertilizasyon ve embriyo gelişimi gibi diğer parametreler bu hastalarda değerlendirilmemiştir.

Hastaların infertilite etiyolojileri açıklanamayan infertilite, erkek faktör, azalmış over rezervi, tubal faktör, ileri yaş, endometriozis, kronik anovulasyon ve hipogonadotropik hipogonadizm olarak gruplandırılmıştır. KOH sırasında  $\geq 38$  yaş olup  $>4$  AFC bulunan hastalar ileri yaş kategorisinde değerlendirilmiştir. Tüm hastalarda menstrüasyonun 2-3. günü bazal E2, LH, FSH ölçümleri yapılmıştır. Transvajinal USG ile bilateral overlerdeki toplam AFC ve bazal endometriyal kalınlıkları kaydedilmiştir.  $E2 < 60$  pg/ml olması ve Transvajinal USG'de dominant folikül bulunmaması halinde gonadotropin ile stimülasyona başlanmıştır. Gonadotropin başlangıç dozunun belirlenmesinde hasta yaşı, over rezervi (AFC, AMH değerleri), VKİ, önceki stimülasyonları sırasındaki folikül gelişimleri ve klinisyenin tecrübesi göz önünde bulundurularak doz aralıkları 150-450 IU arasında bireyselleştirilmiştir. KOH sırasında kullanılan maksimum gonadotropin dozu ve stimülasyonun süresi kaydedilmiştir. Gonadotropin olarak, rekombinant FSH (rFSH) (Gonal-f 450 IU/0.75 ml Merck Serono, İtalya), hMG (Merional, 150 IU im/sc, IBSA Institut Biochimique, İsviçre veya Menopur 150 IU im/sc, Ferring GmbH, Almanya) veya hMG ve rFSH kombinasyonu birlikte kullanılmıştır. Tedavi protokollerinde GnRH antagonistleri (Cetrotide 250 mcg sc, Pierre Fabre Medicament Production, Fransa), medroksiprogesteron asetat (MPA) (Tarlusal 5

mg, 2x1 oral, Deva Holding, Türkiye), klomifen sitrat (Klomen 50 mg, oral, Koçak Farma, Türkiye), Letrozol (Letu 2.5 mg, oral, Abdi İbrahim, Türkiye) hastaların özellikleri doğrultusunda bireyselleştirilerek tercih edilmiştir. Tüm hastalar stimülasyonun 5. gününde USG kontrolüne çağrılarak gelişen foliküllerin sayı ve boyutları yeniden değerlendirilmiş ve hastaların serum E2, LH, progesteron (PG) ölçümleri tekrarlanmıştır. Takipler süresince tüm bu ölçümler göz önünde bulundurularak takip sıklığı, tedavi dozu ve stimülasyon süresi belirlenerek, monofoliküler gelişim grubunda 17 mm üzerinde 1 folikül, multifoliküler gelişim gruplarında ise 2-3 folikül görülmesi durumunda hCG (Ovitrelle, 250 µg, Merck Serono, İtalya) ve/veya Triptorelin asetat (Gonapeptyl, 0,2 mg Ferring GmbH, Almanya) ile ovülasyonun tetiklenmesi gerçekleştirilmiştir.

Ovülasyonu tetikleyici ajanın 36. saat sonrasında standart olarak OPU işlemi gerçekleştirilmiştir. Buna karşın, hastanın önceki siklusunda prematür ovülasyon öyküsü bulunması halinde 34 saat ya da gelişen folikül sayısına göre beklenilenden az oosit elde edilmesi durumunda ise 38 saat, tetikleme ile OPU işlemi arasındaki süre, olarak kullanılmıştır.

OPU işlemi sırasında, herhangi bir overdeki 12 mm ve üzerindeki rastlantısal olarak en kolay ulaşılabilir folikülün boyutları (yükseklik x en x derinlik) milimetrik olarak ölçülerek kaydedilmiştir. Sonrasında, OPU işlemi 16 Gauge çift lümenli iğne (Echotip Double Lumen Aspiration Needle; Cook Medical) kullanılarak ilk olarak önceden belirlenmiş olan “indeks foliküle” yapılmıştır. İndeks folikülden, 140 mmHg basıncı geçmeyecek şekilde, folikül sıvısının aspirasyonu gerçekleştirilmiştir. Çift lümen iğne ile folikül sıvısının tamamının aspirasyonu sonrası, iğne ve bağlantı hortumunda kalan saf folikül sıvısının da OPU tüpüne alınması amacıyla ~2 cc yıkama sıvısı kullanılmıştır (İğne ve bağlantı hortumunun total hacminin ~2 cc'dir). Bu sayede folikül sıvısının tamamı ilk değerlendirme için tüpe /tüplere alınarak ısıtıcı blok içerisinde laboratuvara ulaştırılmıştır. Laboratuvarda yapılan değerlendirmede gönderilen folikül sıvısı içerisinde COC gözlenmemesi durumunda ek yıkama işlemine geçilmiştir. Bu hususta, folikül boyutlarına uygun olarak aynı foliküle (manuel enjektör ile 1.5-2.5cc arası) 10 IU/ml heparin içeren folikül yıkama solüsyonu (Flushing Medium, Cooper Surgical, Origio, Danimarka) verilerek toplamda 3 kez yıkama-aspirasyon

işlemi daha yapılmıştır. Yıkama-aspirasyon işlemleri sonrası elde edilen yıkama sıvısının toplam miktarı kaydedilerek laboratuvara ulaştırılmış ve mikroskop altında, içerisindeki COC varlığı tekrar değerlendirilmiştir.

İlk aspirasyon ve yıkama sonucunda izole edilen İndeks COC'ler hassas iğneler yardımıyla fazla kümülüs hücrelerinden arındırılmış her biri ayrı yağ altı (Liquid Paraffin, Cooper Surgical, Origio, Danimarka) kültür ortamlarına (Handling Medium, Cooper Surgical, Origio, Danimarka) alınmıştır. İki saat inkübasyon sonrası hyalüronidaz içeren enzimatik sindirme (ICSI Cumulase, Cooper Surgical, Sage, Danimarka) ve hassas pipetleme ile kümülüs ooforus ve korona radyata hücrelerinden ayrılan oositlerin MII aşamasında olup olmadıkları kayıt altına alınmıştır. MII aşamasında saptanan indeks oositler Handling Medium solüsyonuna aktarılarak ICSI yöntemi ile fertilize edilmiştir. Enjeksiyon yapılan oositler, yağ altında insan serum albümin içeren ve pH seviyesi önceden dengelenmiş tek basamaklı kesintisiz kültür solüsyonlarına (1-Step, Cooper Surgical, Sage, Danimarka) yerleştirilmiştir. Fertilizasyon ICSI işleminden 16-18. saat sonra değerlendirilmiş ve 2PN yapısı başarılı fertilizasyon lehine değerlendirilmiştir [55]. Embriyolar değerlendirilme süreçleri boyunca aynı medyum içerisinde saklanmış, 3. gün klivaj embriyo gelişimleri ve 5. güne ilerletilmek istenen embriyolar için blastokist gelişimleri skorlanarak kayıt altına alınmıştır.

Klivaj ve blastokist aşamasındaki embriyoların değerlendirilmesinde ALPHA İstanbul konsensusu değerlendirme sistemi kullanılmıştır [55]. 3. gün embriyolarından Grade 1 ve 2 orta-iyi kalite, Grade 3 düşük kalite grubu içerisinde değerlendirmeye alınmıştır.

İkinci günde 4, üçüncü günde 8 blastomerli, blastomerleri eşit büyüklükte, %10'un altında fragmantasyon içeren ve multinükleasyon olmayan embriyolar Grade 1 olarak değerlendirilmiştir. Blastomer sayısı ve morfolojisi Grade 1 embriyolara benzer şekilde olup %10-25 fragmantasyon içeren ve multinükleasyon olmayan embriyolar Grade 2 olarak değerlendirilmiştir. Blastomer sayısı az, %25'in üzerinde fragmantasyon içeren ve multinükleasyonu olan embriyolar ise Grade 3 olarak değerlendirilmiştir.

Blastokist aşamasındaki embriyoların değerlendirilmesinde üç parametre kullanılmıştır [55]. Blastosöl hacmine göre 1'den 4'e (4 en yüksek hacim içeren ve hatching başlamış), ICM'nin boyutu ve morfolojisine göre Grade A ile C (A çok hücreli, belirgin, yekpare) arasında ve TE hücre sayısı ve morfolojisine göre Grade A (A çok hücreli, hücreleri eşit boyutlu ve dizilim kesintisiz) ile C arasında puanlanmıştır. Elde edilen 5. gün embriyolarının ekspansiyonuna göre Grade 2,3 ve 4 embriyolar orta-iyi kaliteli, Grade 1 embriyolar düşük kaliteli olarak değerlendirilmiştir. ICM boyutu ve dizilimi ve TE hücre sayısı ve dizilimine göre sınıflanan Grade A ve B embriyolar orta- iyi kalite, ICM ve TE'ye göre Grade C embriyolar kötü kalite olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen indeks embriyoların tamamında donma-çözme embriyo transferi yapılmıştır. Gelişen indeks embriyoların tamamı ya klivaj ya da blastokist aşamasında sıvı azot içerisinde vitrifikasyon yöntemi ile dondurularak saklanmıştır.

Embriyo vitrifikasyon uygulamaları artan konsantrasyonda kriyoprotektan içeren solüsyonlardan geçirilerek (Vitrification Media Kit, Cooper Surgical, Sage, Danimarka) ve ısıtma uygulamaları ise azalan konsantrasyonda kriyoprotektan içeren solüsyonlardan geçirilerek (Vitrification Warming Kit, Cooper Surgical, Sage, Danimarka) gerçekleştirilmiştir. Isıtma sonrasında embriyolar kesintisiz kültür solüsyonuna (1-Step) aktarılarak embriyo transferine hazırlanmıştır.

Dondurulmuş olan embriyoların transfer hazırlığı minimum OPU'dan sonraki ikinci menstruel dönemde başlamıştır. Embriyo transferinin hemen öncesinde embriyo transfer kateteri bir hacim kesintisiz kültür solüsyonu (1-Step) ile yıkanmış ve embriyolar stereomikroskop altında katetere yüklenmiştir. İndeks embriyoların tamamı hormonal olarak hazırlanan donma-çözme embriyo transfer siklusları ile transfer edilmiştir.

Çalışmamızın birincil amacı, farklı boyuttaki foliküllerden yıkamasız ya da yıkamayla elde edilen oositlerin ICSI işlemi sonrası fertilizasyon oranlarının ve klivaj / blastokist aşamasındaki gelişen embriyoların kalitelerinin değerlendirilmesidir. D5 embriyo değerlendirmelerinde sadece D5'e ilerletilmek istenen embriyolar incelemeye dâhil edilmiş, D3'te dondurma işlemi uygulanan embriyolar analizlere dahil edilmemiştir.

Çalışmamızda, indeks oositten gelişen embriyonun morfolojik olarak değerlendirilmesi sonrası belirtilen embriyonun kalitesinin diğer gelişen embriyolara göre daha düşük saptanması halinde hastaya bu embriyonun transferi yapılmamıştır. Buna karşın, eğer indeks oositten gelişen embriyo morfolojik olarak diğer gelişen embriyolardan daha yüksek kaliteliyse bu embriyonun transferi yapılmıştır. İndeks embriyonun transferi sonrasında hastanın  $\beta$ -hCG pozitifliği, klinik gebelik, abortus ve canlı doğum açısından takibi yapılmıştır. Dolayısıyla, indeks oositten gelişen embriyoların gebelik sonuçlarının araştırılması İndeks oositten gelişen embriyoların transfer edildiği hastalarda, transfer tarihinden 12 gün sonra serum  $\beta$ -hCG ölçümü yapılmıştır.  $\beta$ -hCG sonucu  $> 10$  IU/L olması ve iki gün sonrasındaki kontrolde artış gözlenmesi durumunda pozitif gebelik olarak kabul edilmiştir. Gebelik saptanan olgular 3 hafta sonrasında TVUSG kontrolüne çağırılmıştır. Ultrasonografi kontrolünde intrauterin gestasyonel kese içerisinde fetal kalp atımının görüldüğü hastalar klinik gebelik olarak kabul edilmiştir. Hastaların rutin obstetrik takipleri, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi gebe polikliniğinde ya da kendi istekleri doğrultusunda farklı merkezlerde yapılmıştır. 40. gebelik haftasını tamamlayan hastalar içerisinde, doğumu Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde gerçekleştirilen hastaların doğum bilgilerine Mia-Med sistemi üzerinden ulaşılmıştır. Farklı merkezde doğum yapan hastalara ise telefonla ulaşılmış ve doğum sonuçları kayıt altına alınmıştır. 24 hafta üzerinde gerçekleşen vital doğumlar canlı gebelik olarak kabul edilmiştir.

İncelenen verilerden kategorik veriler sayı ve yüzde; numerik veriler ortalama ( $\pm$ standart sapma) olarak sunulmuştur. Güven düzeyi %95, istatistiksel anlamlılık için  $p < 0,05$  düzeyi kabul edilmiştir. Normal dağılıma uygunluk Kolmogorov Smirnov testi ile incelenmiş ve gerekli varsayımların karşılanması durumuna göre parametrik veya non-parametrik testler kullanılmıştır. Grupların karşılaştırılmasında Ki-Kare Testi, One Way ANOVA Testi (Post Hoc Bonferroni), İki Oran Z Testi ve Binary Lojistik Regresyon Testleri kullanılmıştır. Verilerin analizi ve raporlanmasında Microsoft Excel, SPSS 22, GPower 3.1 programları kullanılmıştır.

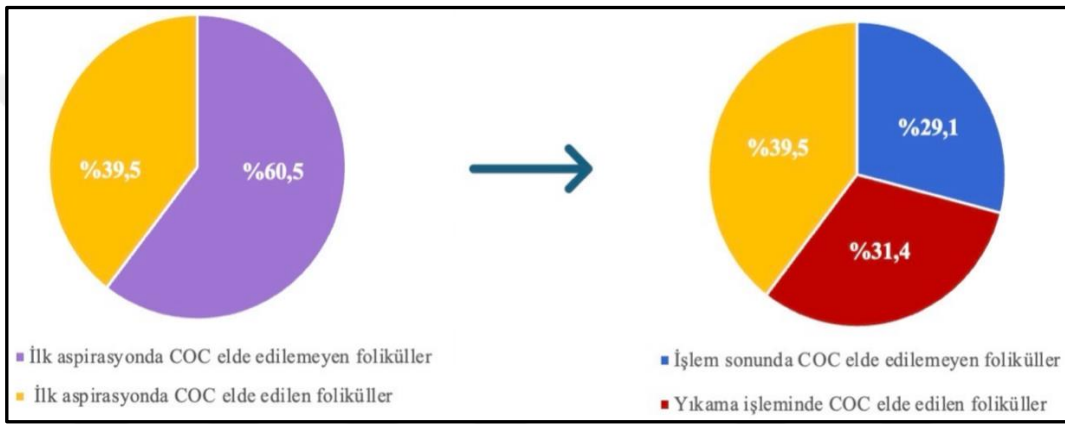
Araştırmaya dahil edilecek hasta sayısının belirlenmesi için konu ile ilgili literatür bilgileri ışığında A Priori hesaplama yöntemi kullanılmıştır;  $\alpha=0,05$  ve güç=0,95 olarak hesaplanmış ve çalışma için gerekli minimum örneklem büyüklüğü 126 olarak belirlenmiştir (Şekil 3.1).

<b>z tests – Proportions: Difference between two independent proportions</b>		
<b>Analysis:</b>	A priori: Compute required sample size	
<b>Input:</b>	Tail(s)	= Two
	Proportion p2	= 0.8
	Proportion p1	= 0.5
	$\alpha$ err prob	= 0.05
	Power (1- $\beta$ err prob)	= 0.95
	Allocation ratio N2/N1	= 1
<b>Output:</b>	Critical z	= 1.9599640
	Sample size group 1	= 63
	Sample size group 2	= 63
	Total sample size	= 126
	Actual power	= 0.9509412

Şekil 3.1. Güç Analizi Protokolü

## 4. BULGULAR

Folikül yıkama uygulamasının oosit eldesine ve indeks oositten gelişen embriyonun kalitesine etkisini incelemek amacıyla yürütülen çalışmamızda 850 hasta incelemeye alınmıştır. Hastaların 336'sında (%39,5) ilk aspirasyonda COC elde edilmiş, ilk etapta COC elde edilemeyen 514 hastanın 267'sinde (%31,4) yıkama işlemi sonucunda COC elde edilmiştir. 247 (%29,1) hastada ise oosit elde edilememiştir (Şekil 4.1).



**Şekil 4.1.** İlk Aspirasyon ve Yıkama İşlemi Sonrası COC Elde Yüzdeleri Grafiği

COE elde durumuna göre hastalar gruplandırıldığında, gruplar arasında hastaların yaş, VKİ gibi klinik ve sosyodemografik özelliklerinin istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

COE eldesine göre yapılan gruplamaya göre stimülasyon özelliklerinin karşılaştırılması için yapılan analizde tetikleme tipi ile gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık tespit edilmiştir (Tablo 4.2,  $p=0,022$ ). Yapılan ikili karşılaştırmalarda ilk aspirasyon sonrasında oosit elde edilen hastaların %6,8'inde hCG kullanılırken, indeks oositin folikül yıkama sonrası elde edildiği hastaların %2,2'sinde hCG kullanılmıştır ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde ilk aspirasyonda oosit elde edilen grubun %3,3'ünde double tetikleme kullanılırken, yıkama sonrası oosit elde edilen hastaların %0,4'ünde double tetikleme kullanılmış ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir.

Tetiklemeden bir gün sonraki  $\beta$ - hCG değerleri ile oosit eldesine göre grup karşılaştırması için yapılan analizde ilk aspirasyonda oosit elde edilen grubun  $\beta$ -hCG değerleri ortalaması 94,7 ( $\pm$ 80,4); folikül yıkama sonrası oosit elde edilen grubun 75,1 ( $\pm$ 50,0) olup gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.2,  $p=0,035$ ).

Diğer stimülasyon özellikleri ile grup karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (Tablo 4.2).

OPU sonuçlarına göre COC eldesi gruplarının karşılaştırılması için yapılan analize göre OPU sonunda hastanın tüm foliküllerinden elde edilen toplam COC eldesinde, toplam MII oosit eldesinde, toplam 2 PN eldesinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (Tablo 4.3, sırasıyla  $p=0,764$ ,  $p=0,895$ ,  $p=0,930$ ). OPU ncesi yapılan transvajinal USG ölçümlerinde indeks foliküle ait 3 çapın ortalamasında, indeks foliküle yapılan yıkama miktarında (cc) anlamlı fark tespit edilmemiştir (Tablo 4.3, sırasıyla  $p=0,375$ ,  $p=0,375$ ). İndeks folikül başına elde edilen MII oosit ve 2PN eldesinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (Tablo 4.3, sırasıyla  $p=0,899$ ,  $p=0,063$ ). İndeks folikülden elde edilen COC başına MII oosit, 2PN, Orta-İyi Kalite D3 embriyo ve Orta-İyi Kalite D5 embriyo eldesinde de anlamlı fark izlenmemiştir (Tablo 4.3, sırasıyla  $p=0,804$ ,  $p=0,053$ ,  $p=0,349$ ,  $p=0,691$ ). İndeks folikülden elde edilen MII oosit başına 2PN eldesinde yıkama grubu lehine anlamlı fark bulunurken, orta-iyi kalite D3 embriyo ve orta-iyi kalite D5 embriyo eldesinde de anlamlı fark izlenmemiştir (Tablo 4.3, sırasıyla  $p=0,028$ ,  $p=0,366$ ,  $p=0,662$ ).

**Tablo 4.1.** Hastaların Demografik ve Klinik Özelliklerine Göre COC Elde Gruplarının Karşılaştırması

Hasta Özellikleri	İlk Aspirasyonda COC Elde Edilenler (n=336)	Yıkamada COC Elde Edilenler (n=267)	COC Elde Edilemeyenler (n=247)	p
Yaş	33,8 (±5,3)	33,5 (±5,8)	33,7 (±5,6)	0,863*
Yaş >35	125 (%37,2)	99 (%37,1)	99 (%40,1)	0,736**
VKİ (kg/m <sup>2</sup> )	24,9 (±4,5)	25,1 (±4,6)	24,7 (±4,7)	0,720*
İnfertilite süresi (ay)	42 (±34,8)	45,4 (±36)	42,7 (±38,2)	0,515*
Geçirilmiş batin cerrahisi	122 (%36,3)	99 (%37,1)	84 (%34,0)	0,752**
Kronik ek hastalık	72 (%21,4)	52 (%19,5)	62 (%25,1)	0,295**
Menstrüasyon aralığı (gün)	34,4 (±28,6)	37 (±31,4)	32,8 (±23,5)	0,254*
Sigara içme durumu (Kadın)	75 (%22,3)	51 (%19,1)	57 (%23,1)	0,495**
Sigara içme durumu (Erkek)	136 (%40,6)	112 (%42,1)	111 (%45,1)	0,548**
Sigara sayısı (Kadın)	2,5 (±5,6)	1,9 (±4,8)	2,2 (±4,7)	0,360*
Sigara sayısı (Erkek)	6,6 (±9,2)	7,2 (±9,7)	7,3 (±9,5)	0,579*
Gravida	0,5 (±1)	0,4 (±0,9)	0,4 (±1,1)	0,897*
Parite	0,1 (±0,4)	0,1 (±0,5)	0,1 (±0,4)	0,746*
Abortus	0,2 (±0,6)	0,2 (±0,6)	0,2 (±0,8)	0,870*
Gravida 0	251 (%74,7)	206 (%77,2)	187 (%75,7)	0,784**
Gravida ≥1	85 (%25,3)	61 (%22,8)	60 (%24,3)	
Parite 0	303 (%90,2)	247 (%92,5)	226 (%91,5)	0,596**
Parite ≥1	33 (%9,8)	20 (%7,5)	21 (%8,5)	
AFC	12 (±8)	12,1 (±9)	12,6 (±8,4)	0,654*
AMH (ng/ml)	1,3 (±3,1)	1,1 (±1,3)	1 (±0,8)	0,532*
Önceki ET sayısı 0	234 (%71,1)	186 (%69,9)	173 (%70,9)	0,946**
Önceki ET sayısı ≥1	95 (%28,9)	80 (%30,1)	71 (%29,1)	
KOH sayısı 1	189 (%56,3)	141 (%52,8)	144 (%58,3)	0,445**
KOH sayısı ≥2	147 (%43,8)	126 (%47,2)	103 (%41,7)	
Erkek TESE ile sperm	10 (%3,0)	7 (%2,6)	4 (%1,6)	0,567**
Erkek TPSS (x105)	5986 (±6961)	6106 (±8618)	7360 (±8228)	0,092*

\* One Way ANOVA testi, Ortalama (±Standart Sapma)

\*\* Ki-kare testi, Sayı (Sütun Yüzdesi), a ve b harfleri kolon karşılaştırmasını göstermektedir, karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır

**Tablo 4.2.** Stimülasyon Özelliklerine Göre COC Elde Gruplarının Karşılaştırması

Stimülasyon Özellikleri	İlk			p
	Aspirasyonda Oosit Elde Edilenler (n=336)	Yıkamada Oosit Elde Edilenler (n=267)	Oosit Elde Edilemeyenler (n=247)	
Bazal E2 (ng/L)	68,1 (±55,7)	69,2 (±76,6)	68,9 (±70,4)	0,978*
Bazal LH (IU/L)	6,3 (±4,7)	6,5 (±6,8)	5,9 (±3,6)	0,332*
Bazal FSH (IU/L)	7,7 (±5,8)	7,3 (±5)	7,2 (±4,5)	0,535*
FSH başlangıç dozu (IU/L)	320,9 (±69,6)	314,5 (±69,3)	312,3 (±68,2)	0,298*
Stimülasyon süresi (gün)	8,9 (±2)	9,2 (±2,3)	9,1 (±2)	0,120*
Maksimum FSH dozu (IU/L)	330,3 (±72,9)	320,6 (±71,2)	323,4 (±74,9)	0,243*
Toplam FSH dozu (IU/L)	2844,3 (±1003,5)	2873 (±1054,7)	2877,6 (±1068)	0,914*
<b>KOH'ta Kullanılan Gonadotropin Türü</b>				
r FSH	55 (%16,4)	40 (%15,0)	44 (%17,8)	
hMG	157 (%46,7)	134 (%50,2)	117 (%47,4)	0,865**
rFSH + hMG	124 (%36,9)	93 (%34,8)	86 (%34,8)	
E2 Priming varlığı	98 (%29,2)	87 (%32,6)	67 (%27,1)	0,388**
<b>Tetikleme Tipi</b>				
HCG	23 (%6,8) <sup>a</sup>	6 (%2,2) <sup>b</sup>	9 (%3,6) <sup>a,b</sup>	
GnRH Agonist	42 (%12,5) <sup>a</sup>	36 (%13,5) <sup>a</sup>	35 (%14,2) <sup>a</sup>	0,022**
Dual	260 (%77,4) <sup>a</sup>	224 (%83,9) <sup>a</sup>	197 (%79,8) <sup>a</sup>	
Double	11 (%3,3) <sup>a</sup>	1 (%0,4) <sup>b</sup>	6 (%2,4) <sup>a,b</sup>	
hCG+ GnRH agonist tetikleme	271 (%80,7)	225 (%84,3)	203 (%82,2)	0,514**
<b>Tetikleme Günü</b>				
E2 (ng/L)	2146 (±1921,1)	2222,8 (±1955,4)	2220,5 (±1679,1)	0,850*
LH (IU/L)	5,2 (±6,6)	5,5 (±13,5)	4,5 (±3,2)	0,476*
PG (ng/ml)	0,8 (±0,8)	0,7 (±1,2)	1 (±2,7)	0,269*
Endometrial kalınlık (mm)	7,1 (±1,9)	7,5 (±2,1)	7,2 (±1,9)	0,103*
Total AFC	10,5 (±7)	10,5 (±7,1)	11,2 (±7,5)	0,405*
Maksimum folikül çapı (mm)	18,4 (±1,6)	18,7 (±1,5)	18,5 (±1,9)	0,121*
≥ 17mm folikül sayısı	2,4 (±1,6)	2,4 (±1,5)	2,5 (±1,6)	0,553*
14-17 mm folikül sayısı	3,5 (±3)	3,6 (±3)	3,8 (±3)	0,561*
< 14 mm folikül sayısı	4,4 (±3,6)	4,3 (±3,8)	4,7 (±4)	0,368*

**Tablo 4.2 (Devam).** Stimülasyon Özelliklerine Göre COC Elde Gruplarının Karşılaştırması

Stimülasyon Özellikleri	İlk			p
	Aspirasyonda Oosit Elde Edilenler (n=336)	Yıkamada Oosit Elde Edilenler (n=267)	Oosit Elde Edilemeyenler (n=247)	
<b>Tetiklemeden bir gün sonra</b>				
β- hCG (IU/L)	94,7 (±80,4) <sup>a</sup>	75,1 (±50) <sup>b</sup>	90 (±68,3) <sup>a, b</sup>	<b>0,035*</b>
E2 (ng/L)	2291,1 (±2110,1)	2546,3 (±2722,1)	2575,1 (±1905,2)	0,502*
LH (IU/L)	66,5 (±38,4)	70,2 (±38,4)	69,5 (±36,8)	0,641*
PG (ng/ml)	3,7 (±4,3)	3,5 (±3,1)	4 (±2,9)	0,494*

\* One Way ANOVA testi, Ortalama (±Standart Sapma), ikili karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır.

\*\* Ki-kare testi, Sayı (Sütun Yüzdesi), a ve b harfleri kolon karşılaştırmasını göstermektedir, karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır

**Tablo 4.3.** OPU Sonuçları ile COC Eldesine Göre Alt Grupların Karşılaştırması

OPU Sonuçları	İlk			p değeri
	Aspirasyonda COC Elde Edilenler (n=336)	Yıkamada COC Elde Edilenler (n=267)	COC Elde Edilemeyenler (n=247)	
OPU Sonu Toplam COC	10,5 (±8,1)	10,2 (±8,2)	10 (±8,3)	0,764*
OPU Sonu Toplam MII Oosit	8,3 (±7)	8 (±6,9)	8,1 (±7,2)	0,895*
OPU Sonu Toplam 2 PN	4,2 (±4,2)	4,2 (±4,1)	4,1 (±4)	0,930*
Folikül 3 Çap Ortalaması	19,3 (±2,5)	18,9 (±3,1)	19,1 (±2,7)	0,375*
Folikül Yıkama Miktarı (cc)	-	5,6 (±1,7)	5,5 (±1,4)	0,375***
MII Oosit (n)	293	231	-	0,899**
MII Oosit/ COC (%)	87,2	86,5	-	0,804**
2 PN (n)	152	142	-	0,063**
2PN /COC (%)	45,2	53,2	-	0,053**
2PN/MII Oosit (%)	51,9	61,5	-	<b>0,028**</b>
Orta-İyi Kalite D3 (n)	101	71	-	0,398**
Orta-İyi Kalite D3/COC (%)	30,1	26,6	-	0,349**
Orta-İyi Kalite D3/MII Oosit (%)	34,5	30,7	-	0,366**
Orta-İyi Kalite D5 (n)	38	33	-	0,787**
Orta-İyi Kalite D5/COC (%)	11,3	12,4	-	0,691**
Orta-İyi Kalite D5/MII Oosit (%)	13,0	14,3	-	0,662**

\* One Way ANOVA testi, Ortalama (±Standart Sapma)

\*\* Ki-kare testi, Sayı (Satır Yüzdesi)

\*\*\* Bağımsız Gruplarda T testi, Ortalama (±Standart Sapma)

Tüm kohort içerisinde hem indeks folikülden ilk aspirasyonda elde edilen sıvı hacimlerinde, hem de OPU öncesi yapılan transvajinal USG ile indeks folikülün 3 düzlemde alınan en geniş çaplarının (yükseklik x en x derinlik) ortalamalarında 10., 50. ve 90. percentile karşılık gelen değerler Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

Hastaların demografik ve klinik özellikleri ile folikül sıvı hacimlerinin percentil karşılaştırması için yapılan analize göre percentil alt grupları arasında yaş ve VKİ arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır (Tablo 4.5, sırasıyla  $p=0,014$ ,  $p=0,033$ ). Alt grupların ikili karşılaştırması için yapılan analizde  $\leq 10$  percentil alt grubunun yaş ortalaması  $32,5 (\pm 5,2)$ ;  $\geq 90$  percentil alt grubunun yaş ortalaması  $35,1 (\pm 5,6)$  olup, alt gruplar arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Benzer şekilde 11-49 percentil alt grubunun VKİ ortalaması  $24,5 (\pm 4,5)$ ;  $\geq 90$  percentil alt grubunun  $26,2 (\pm 5,3)$  olup alt gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Diğer demografik ve klinik özellikler ile percentil alt grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Tablo 4.5).

Stimülasyon özelliklerine göre percentil alt gruplarının karşılaştırılması için yapılan analizde tetikleme tipi, ikili (dual ya da double) tetikleme varlığı, tetikleme günündeki endometriyal kalınlık, maksimum folikül çapı, 17 mm'den büyük folikül sayısı, 14-17 mm arası boyutlardaki folikül sayısı ve 14 mm'den küçük folikül sayısı ile percentil grupları arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır (Tablo 4.6, sırasıyla  $p=0,029$ ,  $p=0,009$ ,  $p=0,004$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,002$ ,  $p=0,004$ ,  $p=0,018$ ).  $\leq 10$  percentil grubunun %71,6'sında dual tetikleme kullanılmış,  $\geq 90$  percentil alt grubunun %89,0'unda dual tetikleme kullanılmış olup alt gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır.  $\leq 10$  percentil alt grubunun %71,6'sında ve  $\geq 90$  percentil alt grubunun %90,1'inde ikili tetikleme (dual ya da double tetikleme) kullanılmış olup alt gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.  $\leq 10$  percentil alt grubunun endometriyal kalınlık ortalaması  $7,9 (\pm 2,3)$  ve  $\geq 90$  percentil alt grubunun  $6,6 (\pm 1,9)$  olup alt gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır. 11-49 percentil alt grubundaki hastalara ait tetikleme gününde ölçülen maksimum foliküle ait olan çapların ortalaması  $18,3 (\pm 1,6)$ ;  $\geq 90$  percentil alt grubunun  $19,1 (\pm 1,4)$  olup gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır. 11-49p grubunun 17'den büyük folikül sayısı ortalaması  $2,1 (\pm 1,4)$ ; 50-89p ve  $\geq 90$

gruplarınıniki 2,6 ( $\pm 1,8$ ) olup gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır.  $\geq 90$  grubunun 14-17 folikül sayısı ortalaması 2,6 ( $\pm 2,6$ );  $\leq 10$  persentil alt grubunun 4,2 ( $\pm 3,3$ ); 11-49 persentil alt grubunun 3,8 ( $\pm 3,1$ ) olup  $\leq 10$  persentil alt grubu ile diğerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır.  $\leq 10$  persentil alt grubunun 14 mm'den küçük folikül sayısı ortalaması 5,4 ( $\pm 4,2$ );  $\geq 90$  persentil alt grubunun 3,7 ( $\pm 3,3$ ) olup gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Diğer özellikler ile persentil grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Tablo 4.6).

OPU sonuçlarına göre persentil alt gruplarının karşılaştırılması için yapılan analize göre OPU sonunda hastanın tüm foliküllerinden elde edilen toplam COC eldesinde, toplam MII oosit eldesinde, toplam 2 PN eldesinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (Tablo 4.7, sırasıyla  $p=0,321$ ,  $p=0,315$ ,  $p=0,665$ ). OPU öncesi yapılan transvajinal USG ölçümlerinde indeks foliküle ait 3 çapın ortalaması ile persentil alt grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmakta olup her bir alt grubun folikül çapları ortalaması bir diğerinden farklılık göstermektedir (Tablo 4.7,  $p=0,001$ ). Persentil alt grupları ile folikül yıkama miktarı arasında istatistiksel anlamlı fark bulunamamıştır (Tablo 4.7,  $p=0,180$ ). İndeks folikül başına elde edilen COC eldesinde persentil alt grupları arasında  $\leq 10$  persentil alt grubu ile 11-49 ve 50-89 persentil alt grupları arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır (Tablo 4.7,  $p=0,007$ ). İndeks folikül başına MII oosit elde oranları için yapılan Ki-kare testinde anlamlı farklılıklar bulunsa da alt grupların ayrı incelenmesi için yapılan Bonferroni düzeltmesinde alt gruplar arasında anlamlı farklılık elde edilememiştir (Tablo 4.7,  $p=0,022$ ). İndeks folikülden elde edilen COC başına MII oosit eldesinde her 4 persentil alt grubunda anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (Tablo 4.7,  $p=0,546$ ). Folikül başına 2PN eldesinde  $\leq 10$  persentil alt grubu ile 11-49 ve 50-89 persentil alt grupları arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır (Tablo 4.7,  $p=0,034$ ) İndeks folikülden elde edilen COC başına MII oosit, 2PN, Orta-İyi Kalite D3 embriyo ve Orta-İyi Kalite D5 embriyo eldesinde de anlamlı fark izlenmemiştir (Tablo 4.7, sırasıyla  $p=0,546$ ,  $p=0,414$ ,  $p=0,116$ ,  $p=0,117$ ). İndeks folikülden elde edilen MII oosit başına 2PN, Orta-İyi Kalite D3 embriyo ve Orta-İyi Kalite D5 embriyo eldesinde de anlamlı fark izlenmemiştir (Tablo 4.7, sırasıyla  $p=0,412$ ,  $p=0,114$ ,  $p=0,107$ ).

**Tablo 4.4.** Folikül Sıvı Hacmi ve Çap Ortalaması İçin Persentil Değerleri

	<b>10p</b>	<b>50p</b>	<b>90p</b>
İlk Aspirasyonda Elde Edilen Sıvı (cc)	3,5	6,0	9,0
OPU Günü Folikül 3 Çap Ortalaması (mm)	15,7	19,0	22,7



**Tablo 4.5.** Hastaların Demografik ve Klinik Özelliklerine Göre Persentil Alt Gruplarının Karşılaştırması

Demografik Özellikler	≤10 (n=95)	11-49p (n=323)	50-89p (n=341)	≥90 (n=91)	<i>p</i>
Yaş	32,5 (±5,2) <sup>a</sup>	33,6 (±5,5) <sup>a,b</sup>	33,8 (±5,6) <sup>a,b</sup>	35,1 (±5,6) <sup>b</sup>	<b>0,014*</b>
Yaş >35	26 (%27,4)	124 (%38,4)	134 (%39,3)	39 (%42,9)	0,125**
VKİ (kg/m <sup>2</sup> )	24,8 (±4,4) <sup>a,b</sup>	24,5 (±4,5) <sup>a</sup>	25 (±4,5) <sup>a,b</sup>	26,2 (±5,3) <sup>b</sup>	<b>0,033*</b>
İnfertilite süresi (ay)	45,8 (±33,6)	44,8 (±36,7)	41 (±34,5)	43,9 (±43)	0,509*
Geçirilmiş batın cerrahisi	35 (%36,8)	117 (%36,2)	123 (%36,1)	30 (%33,0)	0,941**
Kronik ek hastalık	22 (%23,2)	66 (%20,4)	72 (%21,1)	26 (%28,6)	0,394**
Menstrüasyon aralığı (gün)	38,1 (±35,7)	34,8 (±27,2)	35,2 (±29,1)	29,8 (±17,1)	0,266*
Sigara içme durumu (Kadın)	16 (%16,8)	72 (%22,3)	78 (%22,9)	17 (%18,7)	0,542**
Sigara içme durumu (Erkek)	40 (%42,6)	133 (%41,3)	148 (%43,5)	38 (%41,8)	0,950**
Sigara sayısı (Kadın)	1,4 (±4)	2,2 (±4,9)	2,5 (±5,2)	2,4 (±6,4)	0,362*
Sigara sayısı (Erkek)	7,4 (±9,6)	6,5 (±9,1)	7,2 (±9,3)	7,9 (±10,8)	0,555*
Gravida	0,3 (±0,9)	0,4 (±1)	0,4 (±1)	0,7 (±1,5)	0,110*
Parite	0,1 (±0,3)	0,1 (±0,4)	0,1 (±0,4)	0,2 (±0,6)	0,153*
Abortus	0,2 (±0,7)	0,2 (±0,5)	0,2 (±0,7)	0,3 (±0,9)	0,608*
Gravida 0	71 (%74,7)	250 (%77,4)	259 (%76,0)	64 (%70,3)	0,573**
Gravida ≥1	24 (%25,3)	73 (%22,6)	82 (%24,0)	27 (%29,7)	0,573**
Parite 0	90 (%94,7)	295 (%91,3)	310 (%90,9)	81 (%89,0)	0,556**
Parite ≥1	5 (%5,3)	28 (%8,7)	31 (%9,1)	10 (%11,0)	0,556**
AFC	13,5 (±9,2)	11,9 (±8)	12,5 (±8,6)	11 (±8,5)	0,159*
AMH (ng/ml)	1,6 (±1,7)	1 (±1)	1,2 (±3)	1 (±1)	0,386*
Önceki ET sayısı 0	57 (%60,6)	228 (%71,5)	245 (%72,9)	63 (%70,0)	0,139**
Önceki ET sayısı ≥1	37 (%39,4)	91 (%28,5)	91 (%27,1)	27 (%30,0)	0,139**
KOH sayısı 1	46 (%48,4)	179 (%55,4)	200 (%58,7)	49 (%53,8)	0,337**
KOH sayısı ≥2	49 (%51,6)	144 (%44,6)	141 (%41,3)	42 (%46,2)	0,337**
Erkek TESE varlığı	1 (%1,1)	12 (%3,7)	6 (%1,8)	2 (%2,2)	0,309**
Erkek TPSS (x10 <sup>5</sup> )	6168,3 (±6640,4)	6061,1 (±6943,8)	6851,3 (±9213,1)	6388,7 (±7064,5)	0,633*

\* One Way ANOVA testi, Ortalama (±Standart Sapma), ikili karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltilmesi yapılmıştır

\*\* Ki-kare testi, Sayı (Sütun Yüzdesi), a ve b harfleri kolon karşılaştırmasını göstermektedir, karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltilmesi yapılmıştır

**Tablo 4.6.** Hastaların Stimülasyon Özelliklerine Göre Persentil Alt Gruplarının Karşılaştırması

Stimülasyon Özellikleri	≤10 (n=95)	11-49p (n=323)	50-89p (n=341)	≥ 90 (n=91)	p değeri
Bazal E2 (ng/L)	64,1 (±81)	74,6 (±65,9)	66,3 (±66,9)	62,1 (±53,6)	0,243*
Bazal LH (IU/L)	6,4 (±7,1)	6 (±6,3)	6,6 (±3,7)	5,6 (±3,1)	0,330*
Bazal FSH (IU/L)	6,8 (±5)	7,2 (±5,5)	7,9 (±5,1)	7,1 (±4,4)	0,156*
FSH başlangıç dozu (IU/L)	306,8 (±63,6)	316,6 (±70,8)	318,1 (±69,3)	319,4 (±68,5)	0,535*
Stimülasyon süresi (gün)	8,8 (±1,9)	9,1 (±2,3)	8,9 (±1,9)	9,5 (±2,1)	0,093*
Maksimum FSH dozu (IU/L)	311,3 (±64,9)	325,6 (±75,2)	327,7 (±73,2)	329,7 (±71,8)	0,243*
Toplam FSH dozu (IU/L)	2679,1 (±939,5)	2905,9 (±1140)	2835,2 (±961,4)	3010,7 (±1013,9)	0,134*
<b>KOH'ta kullanılan protokol</b>					
GnRH antagonist	8 (%8,5)	20 (%6,2)	21 (%6,2)	3 (%3,3)	0,408**
Letrozol+ GnRH antagonist	3 (%3,2)	8 (%2,5)	8 (%2,4)	3 (%3,3)	
MPA	34 (%35,8)	131 (%40,6)	138 (%40,5)	32 (%35,2)	
CC+MPA	50 (%53,2)	164 (%50,8)	174 (%51,5)	53 (%58,2)	
<b>KOH'ta kullanılan Gonadotropin</b>					
r FSH	16 (%16,8)	52 (%16,1)	64 (%18,8)	7 (%7,7)	0,068**
hMG	52 (%54,7)	150 (%46,4)	152 (%44,6)	54 (%59,3)	
rFSH + hMG	27 (%28,4)	121 (%37,5)	125 (%36,7)	30 (%33,0)	
E2 Priming varlığı	24 (%25,3)	115 (%35,6)	90 (%26,4)	23 (%25,3)	
Tedavi öncesi OKS kullanımı	14 (%14,7)	25 (%7,7)	30 (%8,8)	14 (%15,4)	0,051**
<b>Tetikleme tipi</b>					
HCG	7 (%7,4) <sup>a</sup>	11 (%3,4) <sup>a</sup>	19 (%5,6) <sup>a</sup>	1 (%1,1) <sup>a</sup>	0,029**
GnRH agonist	20 (%21,1) <sup>a</sup>	42 (%13,0) <sup>a</sup>	43 (%12,6) <sup>a</sup>	8 (%8,8) <sup>a</sup>	
Dual	68 (%71,6) <sup>a</sup>	259 (%80,2) <sup>a,b</sup>	273 (%80,1) <sup>a,b</sup>	81 (%89,0) <sup>b</sup>	
Double	0 (%0,0) <sup>a</sup>	11 (%3,4) <sup>a</sup>	6 (%1,8) <sup>a</sup>	1 (%1,1) <sup>a</sup>	
hCG+ GnRH agonist tetikleme	68 (%71,6) <sup>a</sup>	270 (%83,6) <sup>a,b</sup>	279 (%81,8) <sup>a,b</sup>	82 (%90,1) <sup>b</sup>	0,009**
<b>Tetikleme günü</b>					
E2 (ng/L)	2467,2 (±1726,6)	2107,9 (±1812,1)	2205,5 (±1888,1)	2142,6 (±2084,2)	0,426*
LH (IU/L)	4,2 (±2,6)	4,6 (±3,5)	5,9 (±13,3)	4,7 (±2,9)	0,179*
PG (ng/ml)	0,8 (±0,9)	0,7 (±1,1)	0,9 (±2,3)	0,7 (±0,6)	0,610*
Endometrial kalınlık(mm)	7,9 (±2,3) <sup>a</sup>	7,3 (±1,8) <sup>a,b</sup>	7,2 (±2) <sup>a,b</sup>	6,6 (±1,9) <sup>b</sup>	0,004*
Total AFC	12,2 (±7,7)	10,6 (±7,3)	10,7 (±7)	9,5 (±6,6)	0,072*
Maksimum folikül çapı(mm)	18,4 (±1,4) <sup>a,b</sup>	18,3 (±1,6) <sup>b</sup>	18,7 (±1,8) <sup>a,c</sup>	19,1 (±1,4) <sup>c</sup>	0,001*
≥ 17 mm folikül sayısı	2,5 (±1,5) <sup>a,b</sup>	2,1 (±1,4) <sup>a</sup>	2,6 (±1,8) <sup>b</sup>	2,6 (±1,7) <sup>b</sup>	0,002*
14-17 mm folikül sayısı	4,2 (±3,3) <sup>a</sup>	3,8 (±3,1) <sup>a</sup>	3,5 (±2,9) <sup>a,b</sup>	2,6 (±2,6) <sup>b</sup>	0,004*
< 14 mm folikül sayısı	5,4 (±4,2) <sup>a</sup>	4,5 (±3,9) <sup>a,b</sup>	4,3 (±3,6) <sup>a,b</sup>	3,7 (±3,3) <sup>b</sup>	0,018*
<b>Tetiklemeden bir gün sonra</b>					
β- hCG (IU/L)	81,1 (±58,5)	84,8 (±59,4)	89,5 (±80,6)	94,6 (±70,8)	0,711*
E2 (ng/L)	2791,2 (±1991,9)	2297,0 (±2186,1)	2441,2 (±2335,9)	2686,9 (±2721,9)	0,478*
LH (IU/L)	70,1 (±36,6)	68,4 (±39,8)	67,7 (±37,8)	70,2 (±33)	0,968*
PG (ng/ml)	3,8 (±3)	3,5 (±2,8)	3,6 (±2,9)	4,7 (±7,2)	0,190*

\* One Way ANOVA testi, Ortalama (±Standart Sapma), ikili karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır.

\*\* Ki-kare testi, Sayı (Sütun Yüzdesi), a ve b harfleri kolon karşılaştırmasını göstermektedir, karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır.

**Tablo 4.7.** OPU Sonuçları ile Persentil Alt Gruplarının Karşılaştırması

OPU Sonuçları	≤10 (n=95)	11-49 (n=323)	50-89 (n=341)	≥90 (n=91)	p değeri
OPU Sonu Toplam COC	11,3 (±8,5)	10,1 (±8,5)	10,4 (±8,2)	9,1 (±6,4)	0,321*
OPU Sonu Toplam MII Oosit	9,3 (±7,3)	8 (±7,2)	8,1 (±7,1)	7,4 (±5,3)	0,315*
OPU Sonu Toplam 2 PN	4,5 (±4,1)	3,9 (±3,9)	4,3 (±4,5)	4,1 (±3,6)	0,665*
Folikül 3 Çap Ortalaması	16,4 (±2,1) <sup>a</sup>	17,8 (±1,8) <sup>b</sup>	20,1 (±2) <sup>c</sup>	23,1 (±2,7) <sup>d</sup>	<b>0,001*</b>
Folikül Yıkama Miktarı (cc)	5,2 (±1,3)	5,6 (±1,7)	5,7 (±1,6)	5,8 (±1,6)	0,180*
İndeks COC (n)	53 <sup>a</sup>	237 <sup>b</sup>	247 <sup>b</sup>	66 <sup>a,b</sup>	<b>0,007**</b>
İndeks COC /Folikül (%)	55,8	73,3	72,4	72,5	
MII Oosit (n)	45 <sup>a</sup>	201 <sup>a</sup>	219 <sup>a</sup>	59 <sup>a</sup>	<b>0,022**</b>
MII Oosit/ Folikül (%)	47,3	62,2	64,2	64,9	
MII Oosit/ COC (%)	84,9	84,8	88,7	89,4	0,546**
2PN (n)	20 <sup>a</sup>	117 <sup>b</sup>	124 <sup>b</sup>	33 <sup>a,b</sup>	<b>0,034**</b>
2PN /Folikül (%)	21,0	36,2	36,4	36,3	
2PN/ COC (%)	37,7	49,4	50,2	50,0	0,414**
2PN/MII Oosit (%)	44,4	58,2	56,2	55,9	0,412**
Orta-İyi Kalite D3 (n)	8 <sup>a</sup>	70 <sup>b</sup>	77 <sup>b</sup>	17 <sup>a,b</sup>	<b>0,019**</b>
Orta-İyi Kalite D3 / COC (%)	15,1	29,6	31,2	25,8	0,116**
Orta-İyi Kalite D3 / MII Oosit (%)	17,8	34,8	35,2	28,8	0,114**
Orta-İyi Kalite D5 (n)	1 <sup>a</sup>	32 <sup>a</sup>	31 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>	<b>0,048**</b>
Orta-İyi Kalite D5 / COC (%)	1,9	13,5	12,6	10,6	0,117**
Orta-İyi Kalite D5 / MII Oosit (%)	2,2	15,9	14,1	11,9	0,107**

\* One Way ANOVA testi, Ortalama (±Standart Sapma), ikili karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır.

\*\* Ki-kare testi, a ve b harfleri kolon karşılaştırmasını göstermektedir, karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır.

IVF endikasyonları ile COC elde grupları ve persentil alt grupları arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır (Tablo 4.8 ve Tablo 4.9, sırasıyla  $p=0,513$  ve  $p=0,846$ ).

**Tablo 4.8.** IVF Endikasyonları ve COC Eldesine Göre Alt Grupların Karşılaştırması

IVF Endikasyonu	İlk Aspirasyonda Oosit Elde Edilenler	Yıkamada Oosit Elde Edilenler	Oosit Elde Edilemeyenler	<i>p</i> değeri
Açıklanamayan infertilite	86 (%44,6)	52 (%26,9)	55 (%28,5)	0,846
Erkek faktör	60 (%41,4)	49 (%33,8)	36 (%24,8)	
Azalmış over rezervi	124 (%37,7)	102 (%31,0)	103 (%31,3)	
Tubal faktör	27 (%38,6)	25 (%35,7)	18 (%25,7)	
İleri yaş	14 (%34,1)	14 (%34,1)	13 (%31,7)	
Endometriosis	11 (%33,3)	10 (%30,3)	12 (%36,4)	
Anovulasyon	10 (%32,3)	13 (%41,9)	8 (%25,8)	
Hipogonadotropik hipogonadizm	4 (%50,0)	2 (%25,0)	2 (%25,0)	

p: Ki-kare testi, Sayı (Satır Yüzdesi)

**Tablo 4.9.** IVF Endikasyonlarına Göre Persentil Alt Gruplarının Karşılaştırması

IVF Endikasyonu	≤10	10-50p	50-90p	≥90	<i>p</i>
Açıklanamayan infertilite	29 (%30,5)	72 (%22,3)	75 (%22,0)	17 (%18,7)	0,513
Erkek faktör	14 (%14,7)	59 (%18,3)	59 (%17,3)	13 (%14,3)	
Azalmış over rezervi	30 (%31,6)	128 (%39,6)	128 (%37,5)	43 (%47,3)	
Tubal faktör	6 (%6,3)	26 (%8,0)	33 (%9,7)	5 (%5,5)	
İleri yaş	4 (%4,2)	13 (%4,0)	17 (%5,0)	7 (%7,7)	
Endometriosis	3 (%3,2)	15 (%4,6)	12 (%3,5)	3 (%3,3)	
Anovulasyon	7 (%7,4)	8 (%2,5)	13 (%3,8)	3 (%3,3)	
Hipogonadotropik hipogonadizm	2 (%2,1)	2 (%0,6)	4 (%1,2)	0 (%0,0)	

p: Ki-kare testi, Sayı (Satır Yüzdesi)

Persentil alt gruplarına göre folikül yıkamanın etkisinin incelenmesi için yapılan analizde folikül yıkama işlemi tüm persentil alt gruplarında COC eldesini anlamlı olarak artırmıştır.  $\leq 10$  persentil alt grubunda ilk aspirasyon sonrası folikül başına COC eldesinin başarısı %24,2 iken folikül yıkama işlemi sonrası folikül başına COC eldesinin başarısı %55,8'e yükselmiştir. Aynı başarı oranları 11-49 persentil alt grubunda %36,5'den %73,3'e; 50-89 persentil alt grubunda %45,2'den %72,4'e ve  $\geq 90$  persentil alt grubunda %45,1'den %71,4'e yükselmiştir. Gerçekleşen bu artışların tümünün istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.10,  $p=0,001$ ). Elde edilen sonuçlarda tüm hasta alt grupları içerisinde 850 folikülden toplam 336 COC ilk aspirasyonda elde edilmişken folikül yıkama uygulaması ile ekstra olarak 267 COC kazancı sağlanmıştır. Ayrıca ilk aspirasyonda COC elde edilemeyen foliküllere yapılan yıkama işlemi sonucunda 50-89 ve  $\geq 90$  persentil alt gruplarında ilk aspirasyon ile eşit derecede COC elde edilirken; COC elde edilemeyen foliküle yıkama yapıldığında  $\leq 10$  ve 11-49 persentil alt gruplarında istatistiksel olarak ilk aspirasyona kıyasla daha yüksek COC elde oranları tespit edilmiştir (Tablo 4.10, sırasıyla  $p=0,016$ ,  $p=0,001$ ).

Folikül yıkama işleminin MII oosit eldesi üzerine etkisinin incelenmesi için yapılan analize göre ilk aspirasyonda elde edilen oositlerin MII saptanma oranları ile folikül yıkamada elde edilen oositlerin MII saptanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Tablo 11,  $p>0,05$ ). Buna göre ilk aspirasyonda yıkama işlemi sonucunda elde edilen oositler ile ilk aspirasyonda elde edilen oositlerin matürasyonları açısından bir fark bulunmamakla birlikte 850 hastalık çalışma grubunda yıkama işlemi ile toplamda 231 MII oositlik bir katkı elde edilmiştir.

Folikül yıkama işleminin 2PN eldesi üzerine etkisinin incelenmesi için yapılan analize göre yıkama sonucunda elde edilen MII oositlerden 11-49 persentil alt grubunda, aspirasyonla elde edilen MII oositlere göre sınırda anlamlı fark bulunmaktadır. (Tablo 4.11,  $p=0,04$ ). Diğer 3 alt grupta istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır. Yıkama işlemi tüm hasta alt gruplarında ekstra olarak 142 adet 2PN yapısı eldesi sağlamıştır.

Folikül yıkama işleminin 3. gün orta-iyi kalite embriyo eldesi üzerine etkisinin incelenmesi için yapılan analize göre ilk aspirasyonda elde edilen

oositlerdeki başarı oranı ile folikül yıkamada elde edilen oositlerdeki başarı oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Tablo 4.11,  $p>0,05$ ). Buna göre ilk aspirasyonda oosit elde edilemeyen foliküllere yapılan yıkama işlemi ilk aspirasyon kadar başarılı olmakta ve yıkama işlemi tüm hasta alt gruplarında ekstra olarak 71 adet orta-iyi kalite D3 embriyo eldesi sağlamaktadır.

İndeks oositlerden gelişen D3 embriyolardan 42 tanesi 3. günde dondurulmuş, 145 embriyoda ise 5. gün için in vitro şartlarda gelişime devam edilmiştir. Bu nedenle D5 embriyo analizleri D3'ten D5'e ilerletilmek istenilen embriyoların analizlere dahil edilmesiyle değerlendirilmiştir. Folikül yıkama işleminin 5. gün orta-iyi kalite embriyo eldesi üzerine etkisinin incelenmesi için yapılan analize göre ilk aspirasyondaki başarı oranı ile folikül yıkamadaki başarı oranı arasında, tüm persentil alt grupları arasında istatistiksel olarak fark görülmemiştir (Tablo 4.11,  $p>0,05$ ).

Folikül yıkama işleminin gebelik sonuçları üzerine etkisinin incelenmesi için yapılan analize göre ilk aspirasyonda elde edilen oosit grubunun başarı oranı ile folikül yıkamada elde edilen oosit grubunun başarı oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Tablo 12,  $p>0,05$ ). Buna göre ilk aspirasyonda oosit elde edilen grup ile yıkamada oosit elde edilen grup arasındaki  $\beta$ - hCG pozitifliği, klinik gebelik ve canlı doğum başarı oranları eşittir.

**Tablo 4.10.** Yıkama İşleminin Persentil Gruplarına Göre COC Eldesine Etkisi

Persentil	<u>İlk Aspirasyonda Elde Edilen</u>				<u>Folikül Yıkamada Elde Edilen</u>				Z	p
	Toplam	COC eldesi	Sayı	Başarı Yüzdesi	Toplam	COC eldesi	Sayı	Başarı Yüzdesi		
≤10	95	Yok Var	72 23	%24,2	72	Yok Var	42 30	%41,6	-2,4	<b>0,016</b>
11-49	323	Yok Var	205 118	%36,5	204	Yok Var	85 119	%58,3	-4,9	<b>0,001</b>
50-89	341	Yok Var	187 154	%45,2	186	Yok Var	93 93	%50,0	-1,1	0,291
≥90	91	Yok Var	50 41	%45,1	51	Yok Var	26 25	%49,0	-0,4	0,655

Persentil	<u>İlk Aspirasyonda Elde Edilen</u>				<u>Aspirasyon +Yıkama İşlemi Sonucu Toplam</u>				Z	p
	Toplam	COC eldesi	Sayı	Başarı Yüzdesi	Toplam	COC eldesi	Sayı	Başarı Yüzdesi		
≤10	95	Yok Var	72 23	%24,2	95	Yok Var	42 53	%55,8	4,4	<b>0,001</b>
11-49	323	Yok Var	205 118	%36,5	323	Yok Var	85 237	%73,3	9,4	<b>0,001</b>
50-89	341	Yok Var	187 154	%45,2	341	Yok Var	95 247	%72,4	7,0	<b>0,001</b>
≥90	91	Yok Var	50 41	%45,1	91	Yok Var	26 66	%71,4	3,9	<b>0,001</b>

p: İki Oran Z Testi

**Tablo 4.11.** Yıkama İşleminin Persentil Gruplarına Göre MII Oosit, 2PN, D3 Embriyo ve D5 Embriyo Eldesi Üzerine Etkisi

İlk Aspirasyondan Elde Edilen Oosit					Folikül Yıkamadan Elde Edilen Oosit					
Persentil	Toplam COC	MII eldesi	Sayı	Başarı Yüzdesi	Toplam COC	MII eldesi	Sayı	Başarı Yüzdesi	Z	p
≤10	23	Yok Var	4 19	%82,6	30	Yok Var	4 26	%86,7	-0,4	0,679
11-49	118	Yok Var	18 100	%84,7	118	Yok Var	17 101	%85,6	-0,1	0,857
50-89	155	Yok Var	17 138	%89,0	88	Yok Var	7 81	%92,0	-0,7	0,447
≥90	40	Yok Var	4 36	%90,0	26	Yok Var	3 23	%88,5	0,2	0,841
Persentil	Toplam MII	2PN eldesi	Sayı	Başarı Yüzdesi	Toplam MII	2PN eldesi	Sayı	Başarı Yüzdesi	Z	p
≤10	19	Yok Var	12 7	%36,8	26	Yok Var	13 13	%50,0	-0,9	0,379
11-49	100	Yok Var	49 51	%51,0	101	Yok Var	35 66	%65,3	-2,1	<b>0,04</b>
50-89	138	Yok Var	62 76	%55,1	81	Yok Var	33 48	%59,3	-0,6	0,545
≥90	36	Yok Var	18 18	%50,0	23	Yok Var	8 15	%65,2	-1,15	0,251
Persentil	Toplam MII	Orta-İyi D3 Embriyo Eldesi	Sayı	Başarı Yüzdesi	Toplam MII	Orta-İyi D3 Embriyo Eldesi	Sayı	Başarı Yüzdesi	Z	p
≤10	19	Yok Var	16 3	%15,8	26	Yok Var	21 5	%19,2	-0,3	0,768
11-49	100	Yok Var	65 35	%35,0	101	Yok Var	66 35	%34,7	0,1	0,946
50-89	138	Yok Var	86 52	%37,7	81	Yok Var	56 25	%30,9	1,0	0,309
≥90	36	Yok Var	25 11	%30,6	23	Yok Var	17 6	%26,1	0,4	0,710

**Tablo 4.11 (Devam).** Yıkama İşleminin Persentil Gruplarına Göre MII Oosit, 2PN, D3 Embriyo ve D5 Embriyo Eldesi Üzerine Etkisi

Persentil	İlk Aspirasyondan Elde Edilen Oosit				Folikül Yıkamadan Elde Edilen Oosit				Z	p
	D3'ten D5'e ilerletilmek istenen toplam embriyo	Orta-İyi D5 Embriyo	Sayı	Başarı Yüzdesi	D3'ten D5'e ilerletilmek istenen toplam embriyo	Orta-İyi D5 Embriyo	Sayı	Başarı Yüzdesi		
≤10	3	Yok Var	2 1	%33,3	5	Yok Var	5 0	%0,0	1,4	0,168
11-49	26	Yok Var	13 13	%50,0	34	Yok Var	15 19	%55,9	-0,5	0,650
50-89	39	Yok Var	19 20	%51,3	25	Yok Var	14 11	%44,0	0,6	0,569
≥90	9	Yok Var	5 4	%44,4	4	Yok Var	1 3	%75,0	-1,0	0,307

p: İki Oran Z Testi

**Tablo 4.12.** Yıkama İşleminin Persentil Gruplarına Göre Gebelik Sonuçları Üzerine Etkisi

İlk Aspirasyonda Elde Edilen İndeks Oositten Gelişen Embriyo					Folikül Yıkamada Elde Edilen İndeks Oositten Gelişen Embriyo					
Persentil	Toplam	$\beta$ -hCG Pozitifliği	Sayı	Başarı Yüzdesi	Toplam	$\beta$ -hCG Pozitifliği	Sayı	Başarı Yüzdesi	Z	p
$\leq 10$	3	Yok Var	2 1	%33,3	1	Yok Var	1 0	%0,0	0,6	0,505
11-49	12	Yok Var	5 7	%58,3	20	Yok Var	13 7	%35,0	1,3	0,198
50-89	23	Yok Var	12 11	%47,8	18	Yok Var	11 7	%38,9	0,6	0,569
$\geq 90$	7	Yok Var	2 5	%71,4	4	Yok Var	2 2	%50,0	0,7	0,478
Persentil	Toplam	Klinik Gebelik	Sayı	Başarı Yüzdesi	Toplam	Klinik Gebelik	Sayı	Başarı Yüzdesi	Z	p
$\leq 10$	3	Yok Var	2 1	%33,3	1	Yok Var	1 0	%0,0	0,6	0,505
11-49	12	Yok Var	8 4	%33,3	20	Yok Var	16 4	%20,0	0,8	0,400
50-89	23	Yok Var	13 10	%43,5	18	Yok Var	11 7	%35,3	0,5	0,595
$\geq 90$	7	Yok Var	4 3	%42,9	4	Yok Var	3 1	%25,0	0,59	0,553
Persentil	Toplam	Canlı Doğum	Sayı	Başarı Yüzdesi	Toplam	Canlı Doğum	Sayı	Başarı Yüzdesi	Z	p
$\leq 10$	3	Yok Var	3 0	%0,0	1	Yok Var	1 0	%0,0	-	-
11-49	12	Yok Var	8 4	%33,3	20	Yok Var	18 2	%10,0	1,6	0,102
50-89	23	Yok Var	17 6	%26,1	18	Yok Var	12 6	%33,3	-0,5	0,615
$\geq 90$	7	Yok Var	4 3	%42,9	4	Yok Var	3 1	%25,0	0,6	0,553

p: İki Oran Z Testi

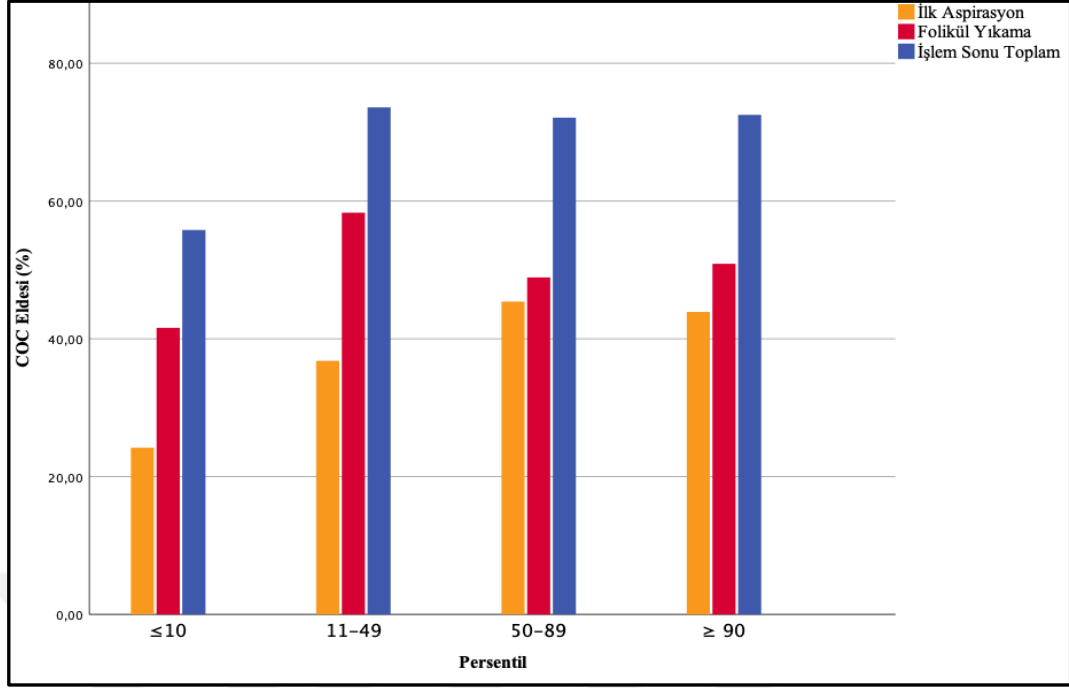
Persentil alt gruplarının COC eldesi üzerine etkisinin incelenmesi için yapılan analize göre crude modelde; 10 persentil altında kalan grup referans alındığında 11-49, 50-89 ve  $\geq 90$  persentil alt gruplarında referans gruba göre sırasıyla 2,2, 2,1 ve 2,1 kat daha fazla COC eldesi izlenmektedir; adjusted modelde söz konusu etkinin artarak indeks COC eldesinin 11-49, 50-89 ve  $\geq 90$  persentil alt gruplarında sırasıyla 2,5, 2,3 ve 2,3 kat daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.13).

Persentil alt gruplarının ve yıkama işleminin MII oosit eldesi üzerine etkisinin incelenmesi için yapılan analize göre; ilk aspirasyonda COC elde edilen grup ile yıkama sonrasında COC elde edilen grup arasında ve persentil alt gruplarının referans alt grup arasında anlamlı bir farklılığının bulunmadığı tespit edilmiştir (Tablo 4.13).

Persentil alt gruplarının ve yıkama işleminin 2PN eldesi üzerine etkisinin incelenmesi için yapılan analize göre crude modelde yıkama ve Persentil gruplarının referans grup ile anlamlı bir farklılığının bulunmadığı tespit edilirken adjusted modelde hem yıkama işleminin hem de persentil alt gruplarının 2PN eldesini etkileyen bir neden olduğu tespit edilmiştir. Buna göre 11-49, 50-89 ve  $\geq 90$  persentil alt gruplarında referans gruba göre 2PN eldesi sırasıyla 2,3, 2,1 ve 2,4 kat daha yüksek olmaktadır. Yıkama işlemi sonunda elde edilen oositlerden ise yalnızca aspirasyon grubuna kıyasla 2PN eldesinde 1,5 kat artış görülmektedir (Tablo 4.13).

Persentil alt gruplarının ve yıkama işleminin orta-iyi kalite D3 embriyo eldesi üzerine etkisinin incelenmesi için yapılan analize göre crude modelde 11-49 ve 50-89 persentil alt gruplarının D3 embriyo eldesini referans gruba göre sırasıyla 2,3 ve 2,6 kat artıran bir etkisinin olduğu belirlenmiştir. Adjusted modelde söz konusu etkilerdeki minimal azalma ile birlikte sırasıyla 2,3 ve 2,5 kat artıran bir etkisinin devam ettiği belirlenmiştir. Yıkama işleminin orta- iyi kalite D3 embriyo eldesinde anlamlı bir etkisinin bulunmadığı gözlenmektedir (Tablo 4.13).

Persentil alt gruplarının ve yıkama işleminin orta-iyi kalite 5. gün embriyo eldesi üzerine etkisinin incelenmesi için yapılan analize göre persentil alt gruplarının ve yıkama işleminin 5. gün embriyo eldesi üzerine bir etkisi bulunmamaktadır (Tablo 4.13).



**Şekil 4.2.** Persentil Alt Gruplarına Göre İlk Aspirasyon- Yıkama- İşlem Sonu Toplam Folikül Başına COC Elde Yüzdeleri

**Tablo 4.13.** Persentil Alt Gruplarının ve Folikül Yıkama İşleminin COC, MII Oosit, 2PN, 3. Gün Embriyo ve 5. Gün Embriyo Eldesi Üzerine Etkisi

	Persentil				Yıkama	
	≤10	11-49	50-89	≥90	Yok	Var
<b>COC Eldesi</b>						
Crude Model	Referans	<b>2,219 (1,38-3,567)</b>	<b>2,052 (1,284-3,28)</b>	<b>2,092 (1,133-3,862)</b>	-	-
Adjusted Model	Referans	<b>2,467 (1,501-4,054)</b>	<b>2,292 (1,405-3,738)</b>	<b>2,337 (1,219-4,48)</b>	-	-
<b>MII Oosit</b>						
Crude Model	Referans	1,039 (0,451-2,394)	1,629 (0,687-3,862)	1,481 (0,499-4,395)	Referans	1,124 (0,686-1,841)
Adjusted Model	Referans	1,315 (0,550-3,143)	1,993 (0,806-4,929)	1,721 (0,553-5,359)	Referans	1,180 (0,691-2,015)
<b>2PN</b>						
Crude Model	Referans	1,851 (0,963-3,559)	1,742 (0,911-3,329)	1,793 (0,811-3,964)	Referans	1,385 (0,971-1,976)
Adjusted Model	Referans	<b>2,304 (1,134-4,68)</b>	<b>2,142 (1,056-4,343)</b>	2,389 (0,992-5,753)	Referans	<b>1,543 (1,054-2,261)</b>
<b>Orta- İyi Kalite D3 Embriyo</b>						
Crude Model	Referans	<b>2,344 (1,051-5,227)</b>	<b>2,563 (1,153-5,697)</b>	1,952 (0,768-4,96)	Referans	0,843 (0,589-1,206)
Adjusted Model	Referans	<b>2,321 (1,008-5,341)</b>	<b>2,459 (1,070-5,652)</b>	1,817 (0,675-4,895)	Referans	0,964 (0,656-1,415)
<b>Orta- İyi Kalite D5 Embriyo</b>						
Crude Model	Referans	2,066 (0,773-5,524)	1,960 (0,733-5,247)	1,196 (0,356-4,020)	Referans	1,19 (0,730-1,956)
Adjusted Model	Referans	1,952 (0,711-5,356)	1,865 (0,681-5,110)	1,021 (0,284-3,680)	Referans	1,13 (0,673-1,896)

İkili (Binary) Lojistik Regresyon, Katsayılar OR (%95 Güven Aralığı) olarak verilmiştir. Crude model, hiçbir kovaryant için ayarlama yapılmamış model; adjusted model, Yaş, VKİ, Tetikleme tipi, Tetikleme günündeki maksimum folikül çapı ve 17 mm'den büyük folikül sayısı için ayarlama yapılmış model

## 5. TARTIŞMA

OPU sırasında foliküler sıvının aspirasyonuna ek olarak elde edilen oosit sayısını artırmak amacıyla foliküllerin ek olarak yıkanması sıklıkla uygulanmaktadır [12]. Teorik olarak, elde edilen MII oosit sayısının artması sayesinde gelişen embriyo sayısının ve canlı doğum şansının da artabileceği düşünülmektedir. Sunkara ve ark. tarafından yapılan 400.000'den fazla IVF siklusunun analiz edildiği çalışmada, elde edilen oosit sayısı 1'den 10'a kadar arttıkça hastanın taze embriyo transferi sonrası canlı doğum olasılığının da arttığı gösterilmiştir [56]. Buna karşın, daha fazla oosit elde edilmesi durumunda canlı doğum olasılığında ek bir artış izlenmemiş ve 15-30 oosit arasında canlı doğum olasılığının değişmediği görülmüştür. Dolayısıyla ovaryan stimülasyon sonrası özellikle sınırlı sayıda folikül gelişen hastalarda OPU işlemi sırasında foliküllerin yıkanması sayesinde hastaların canlı doğum şansının artacağı söylenebilir. Ancak belirtilen olumlu etki 15'in üzerinde oosit elde edilen hastalarda izlenmeyebilir. Buna karşın, 2016 yılında yapılan diğer bir çalışmada tek bir stimülasyon sonrası gelişen tüm embriyoların hem taze hem de donma-çözme transfer siklusları dahil edildiğinde, kümülatif canlı doğum oranlarının elde edilen oosit sayısı arttıkça sürekli arttığı gösterilmiştir [1]. Bu nedenle, aslında tüm hasta gruplarında elde edilen COC ve MII oosit sayısı arttıkça kümülatif gebelik oranları artmaktadır.

Folikül yıkama uygulamasının etkinliğinin karşılaştırıldığı RKÇ'lerde, hastaların bir grubunda tüm foliküllere sadece aspirasyon yapılmış, diğer grupta ise ek olarak foliküler yıkama işlemi de uygulanmıştır. Bu çalışmalarda, folikül yıkama uygulamasının yalnızca düşük ovaryan yanıtı hastalarda etkin olabileceği gösterilmiştir. Ayrıca, düşük ovaryan yanıtı hasta grubunda dahi foliküler yıkamanın reproduktif sonuçları etkilemediğine yönelik çalışmalar da bulunmaktadır [57, 58]. Her iki RKÇ'de de düşük örneklem sayıları kısıtlayıcı faktör olup, ilgili çalışmalara sadece taze embriyo transferi yapılan hastalar dahil edilmiştir. Yıkama esnasında kullanılan sıvının pelvise ulaşması ile implantasyon esnasında yıkama sıvısı sebebiyle oluşan endometriyal ortamın değişme ihtimaline yönelik kaygılar yazarlarca dile getirilmiştir. Bu sebeple folikül yıkama etkinliğinin donma-çözme sikluslarında değerlendirilmesi daha uygun olabilir. Foliküler

yıkamanın etkinliğinin değerlendirildiği diğer bir çalışma dizaynı ise, her hastanın rastgele belirlenmiş tek bir overindeki foliküllere yalnızca aspirasyon uygulanırken, diğer overindeki foliküllere ise hem aspirasyon hem de yıkama uygulanmasıdır. Bu çalışma dizaynında hasta özellikleri ve stimülasyondaki farklılıklar dışlanmış olmaktadır. Belirtilen çalışma dizaynı ile yapılmış olan güncel bir RKÇ’de foliküler yıkama yapılması ile elde edilen oosit sayısının da arttığı gösterilmiştir [13]. Buna karşın, bu çalışma dizaynında gebelik sonuçlarının değerlendirilmesi mümkün olmamaktadır. Mevcut literatürde yer alan çalışmaların tümünde foliküllerin yıkanması işleminin hasta başına klinik sonuçlara etkisi araştırılmıştır. Çalışmamızda ise, rastlantısal olarak belirlenen folikülde oositin direkt aspirasyonla mı yoksa yıkama işlemiyle mi elde edildiği belirlenerek, hasta değil folikül başına yıkama işleminin etkileri araştırılmıştır.

Şayet foliküler yıkama işlemi yapılacaksa, foliküllerin toplamda kaç sefer yıkanması gerektiği konusunda da bir görüş birliği bulunmamaktadır. Bagtharia ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada OPU sonunda elde edilen oositlerin yaklaşık %40’ının foliküler yıkama olmaksızın direkt aspirasyonla elde edildiği, iki yıkama ile %82’sinin, üç yıkama ile %87’sinin, dört yıkamaya kadar %97’sinin toplandığı ve kalan oositlerin sadece %3’ünün beşinci ve altıncı yıkama ile elde edildiği bildirilmiştir [59]. Bu nedenle yaklaşık 3-4 kez yapılacak folikül yıkama uygulamasının yeterli olacağı söylenebilir. Çalışmamızda da indeks folikülden ilk aspirasyonda COC elde edilemediyse; folikül boyutlarıyla uyumlu olarak aynı foliküle toplam 3 kez yıkama işlemi uygulanmıştır. Benzer şekilde, ilk aspirasyon ve yıkama ile elde edilen COC oranları literatürle uyumlu bulunmuştur.

Çalışmamızda, 850 hastaya ait tek bir folikül ve bu folikülden elde edilen indeks oositin blastokist aşamasına kadar gelişimi takip edilmiştir. Hastaların 336’sında (%39,5) ilk aspirasyonda COC elde edilmiş, buna karşın ilk etapta COC elde edilemeyen 514 hastanın 267’sinde (%31,4) yıkama işlemi sonucunda COC elde edilmiştir. 247 (%29,1) hastada ise oosit elde edilememiştir. Dolayısıyla, sadece aspirasyon işlemi ile folikülden COC elde edilme oranı %39,5 iken aynı foliküle yıkama yapılmasıyla beraber toplam COC elde edilme oranı %70,9’a yükselmektedir. Benzer şekilde, COC elde edilen hastalar içerisinde oositlerin %55,7’si ilk aspirasyon sırasında, %44,3’ü ise yıkama işlemleri sonucunda elde

edilmiştir. Folikül yıkama işlemi ile folikülün içerisinde yaratılan türbülansın COC'nin folikül duvarından ayrılmasını sağlayarak daha fazla COC elde edilmesine neden olduğu düşünülmektedir [60].

Elde edilen oositlerin yıkama işleminden olumsuz etkilenme durumunu araştırmak amacıyla her bir indeks oosit, embriyo gelişimine ve şayet transfer edildiyse canlı doğum sonuçlarına kadar takip edilmiştir. Yıkama işleminin oosit matürasyon ve fertilizasyon oranlarında, D3/D5 iyi kalite embriyo gelişiminde olumsuz etkisinin olmadığı bulunmuştur. Toplam 850 foliküle yıkama işlemi uygulanarak; 267 COC, 231 MII oosit, 142 zigot, 71 orta-iyi kalite D3 embriyo ve 33 orta-iyi kalite D5 embriyo ilk aspirasyon işlemine ek olarak elde edilmiştir. Çalışmamızda, indeks oositten gelişen embriyonun morfolojik olarak değerlendirilmesi sonrası, belirtilen embriyonun kalitesinin diğer gelişen embriyolardan daha yüksek olması halinde bu embriyonun transferi yapılmıştır. Dolayısıyla yıkama ile kaybı engellenmiş oositlerden gelişen embriyolar ile 16 hastada  $\beta$ -hCG pozitifliği, 12 hastada klinik gebelik ve 9 hastada ise canlı doğum elde edilmiştir.

Çalışmamıza, her hastanın herhangi bir overindeki transvajinal USG ile ilk ulaşılabilir folikülü dâhil edilmiştir. Bu durum, aynı over içerisindeki diğer folikül kohortuna göre daha büyük foliküllerin istemsiz olarak seçilmesine neden olmuş olabilir. Buna karşın farklı boyuttaki foliküllerin random şekilde seçilmesine mümkün olduğunca özen gösterilmiştir. Çalışmamız Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Üremeye Yardımcı Tedaviler Merkezinde gerçekleştirilmiş olup, tüm ultrasonografik ölçümler ve OPU işlemleri tek klinisyen tarafından yapılmıştır. Bu durum, metodolojik standardizasyonu sağlamış ve ölçümler arası varyasyonu minimize ederek sonuçlarımızın güvenilirliğini artırmıştır.

Geleneksel 2 boyutlu USG ölçümleri ile, foliküllerin elipsoid ya da daha karmaşık şekilleri kaynaklı, folikül hacminin tahmininde hatalar oluşabileceği bildirilmiştir [61]. Bu nedenle, seçilen folikülün ilk aspirasyonundaki sıvı miktarının persentil yüzdelerine göre ( $\leq 10$ , 11- 49, 50-89,  $\geq 90$ ) gruplandırma ve analizler yapılmıştır. 10 persentil altı ve 90 persentil üstü grup da ayrı olarak incelemeye alınarak folikül kohortundaki uç değerlere sahip folikül hacimlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Folikül boyutları ve folikül sıvı miktarlarını inceleyen çalışmaların sonuçları incelendiğinde, çalışmamızdaki USG ile ölçülen folikül boyutlarına göre daha yüksek folikül sıvı hacimleri bulunmuştur. İlgili literatür incelendiğinde, bir çalışmada iğne ve bağlantı hortumunda kalan sıvının eldesi için rutin olarak yıkama sıvısı kullanılmadığı, eğer yıkamalar sonucunda oosit elde edilemediyse hattın ancak COC eldesi için yıkandığı belirtilmiştir [62]. Diğer bir çalışmada ise bağlantı hattındaki sıvının eldesi için herhangi bir ek işlem uygulanmamıştır [63]. Çalışmamızda ise aspirasyon sonrası bağlantı hortumundaki sıvının da alınması amacıyla, daha önce iğne ve hat için hesaplanan rezidü folikül sıvısının miktarına karşılık gelecek şekilde, rutin olarak ~2cc yıkama sıvısı verilerek tüm folikül içeriğinin eldesi sağlanmıştır. Bu nedenle, çalışmamızdaki folikül sıvı hacimlerinde mevcut literatür verileriyle karşılaştırıldığında yaklaşık 2 cc'lik bir fark bulunmaktadır.

Multifoliküler gelişim planlanan IVF sikluslarında, KOH protokolleri ile OPU'da maksimum sayıda MII oosit toplanması amaçlanır. Ancak foliküllerin senkronize gelişmemesine bağlı foliküler kohort içerisinde farklı çaplarda foliküler gözlenebilir. Bu nedenle, OPU sırasında farklı boyutlardaki foliküllerden (>11 mm) oositler elde edilmektedir. Mevcut literatürde foliküllerin boyutu ile oosit matürasyonu arasında pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir [64]. Bu durumda daha küçük foliküllerden elde edilecek matür oositler IVF başarısını arttırabilir. Çalışmamızda ilk aspirasyon ile en yüksek oranda 50-89 persentil grubunda COC elde edilmiştir. Folikül boyutları açısından, 18 mm'den büyük foliküllerin aspirasyonu ile folikül başına MII oosit eldesi oranı folikül kohortları arasında en yüksek değerlere ulaşmaktadır. Bu bulgu literatürdeki verileri desteklemektedir [65, 66]. Ayrıca, persentil alt grupları içerisinde en düşük COC ve MII oosit eldesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde  $\leq 10$  persentil alt grubundadır. Dolayısıyla, küçük foliküllere yapılan yıkama işleminin, 50-89 ve  $\geq 90$  persentil alt gruplarına göre daha etkili olduğu bulunmuştur.  $\leq 10$  persentil alt grubunda ilk aspirasyonla COC elde edilme oranı %24,2 iken, yıkama işleminde oosit elde edilme oranı %41,6'dır (Tablo 4.10,  $p=0,016$ ). Benzer şekilde, 11-49 persentil alt grubunda da ilk aspirasyonla COC elde edilme oranı %36,5 iken, yıkama işleminde oosit elde edilme oranı %58,3'tür (Tablo 4.10,  $p=0,001$ ). Buna karşın, 50-89 ve  $\geq 90$  persentil

alt gruplarında, yıkama işleminde elde edilen COC elde oranı yalnızca aspirasyonda elde edilen COC oranları ile istatistiksel açıdan benzer bulunmuştur. Dolayısıyla foliküler yıkama işleminin 6 cc'den (50 persentil) küçük foliküllerde daha etkili olduğu söylenebilir.

Çalışmamızda, folikül sıvısının persentillerine göre oluşturulan gruplarda hastaların yaşları ve VKİ'lerinin farklılık gösterdiği bulunmuştur. Bu hususta, foliküllerin daha büyük olduğu hasta grubunda, hasta yaşının daha ileri olduğu saptanmıştır. Bu durumun, ilerleyen yaşla beraber hastaların over rezervlerinin azalması ve KOH sırasında foliküllerin asenkron gelişimine bağlı geriden gelen foliküllerin beklenilmesinden kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, persentil grupları büyüdükçe VKİ ortalamalarının da arttığı görülmüştür. Kilolu hastalarda OPU sırasında overlere ulaşılması sıklıkla daha güç olmaktadır. Bu nedenle kilolu hastalarda, foliküller daha büyükken OPU yapılması tercih edilmiş olabilir. Sonuç olarak, indeks folikül boyutlarının daha küçük seçildiği hastaların yaşlarının daha genç olması ve VKİ'lerinin daha düşük olması, folikül yıkamanın etkinliği konusunda yanıltıcı faktör olabilir. Bu hususta, gruplar arasında farklılık gösteren hasta özelliklerinin de dahil edildiği çoklu regresyon analizi yapılmıştır. Bu analize göre, yıkama işleminin hem crude hem de adjusted modellerde MII oosit, 2PN, orta-iyi kalite D3 ve D5 embriyo eldelerini olumsuz etkilemediği izlenmiştir. Hatta yıkama işlemi 2PN eldesini istatistiksel olarak sınırdan anlamlı ölçüde arttırmaktadır.

Foliküler yıkamanın etkinliğini değerlendiren çalışmalarda, yalnızca aspirasyonla elde edilen oositlerin üreme potansiyelleri foliküler yıkama sonucunda elde edilen oositlerle karşılaştırmıştır. Bu çalışmalarda folikül yıkama uygulaması ile elde edilen oositlerin fertilizasyon oranları ve bu oositlerden gelişen embriyoların implantasyon oranlarının benzer olduğu gösterilmiştir [67]. Ayrıca, Knight ve ark. tarafından yapılan çalışmada yalnızca aspirasyon grubu ile yıkama uygulanan grup arasında IVF sonuçları açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır [68]. Benzer şekilde, çalışmamızda da aspirasyon ya da yıkama grubundan gelen indeks oositlerin matürasyon, fertilizasyon, orta-iyi kalite D3 ve D5 embriyoya gelişim oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Bu nedenle elde edilen COC'nin folikül yıkama uygulamasından olumsuz etkilenmediği

söylenbilir. Ayrıca yıkama ile elde edilen oositlerin üreme potansiyelleri ilk aspirasyonda elde edilenlere göre benzer olduğu bulunmuştur.

Çalışmamızda, indeks oositten gelişen embriyonun morfolojik olarak değerlendirmesi sonrası belirtilen embriyonun kalitesinin diğer gelişen embriyolara göre daha düşük saptanması halinde hastaya bu embriyonun transferi yapılmamıştır. Buna karşın, eğer indeks oositten gelişen embriyo morfolojik olarak diğer gelişen embriyolardan daha yüksek kaliteliyse bu embriyonun transferi yapılmıştır. Dolayısıyla çalışma dizaynına bağlı sınırlı sayıdaki hastalarda gebelik sonuçları değerlendirilebilmiştir (ilk aspirasyon grubunda 45, folikül yıkama yapılan grupta ise 43 hastaya embriyo transferi yapılmıştır). Gruplar arasında  $\beta$ -hCG pozitifliği, klinik gebelik ve canlı doğum oranları benzer bulunmuştur.

Çalışmamızda tüm hastalarda aynı iğnenin ve bağlantı hortumunun kullanılması ve aspirasyon basıncı için maksimum limit belirlenmesi önem arz etmektedir. Folikül yıkama ve aspirasyon işlemleri sırasında kullanılan farklı akış hızları, bu iki yöntem arasındaki karşılaştırmayı etkileyebilir [10]. 2023 yılında yayınlanan bir RKC'de, son dönem içerisinde yapılmış olan 11 RKC'nin 5'inde aspirasyon basıncının rapor edilmediği, diğer 6 çalışmada ise folikül yıkama ve aspirasyon gruplarında farklı iğnelerin kullanıldığı belirtilmiştir [13]. Bu nedenle, tüm bu çalışmalarda akış hızlarının farklı olması muhtemeldir ve bu durum folikül yıkama ve yalnızca aspirasyon yöntemlerinin karşılaştırılmasını yanıltıcı hale getirebilmektedir.

Literatürde folikül yıkama uygulaması ile OPU'da total işlem sürelerinin arttığı bildirilmiştir. Çalışmamızda, her hastanın sadece tek bir folikülünün yıkanması sebebiyle, folikül yıkama uygulamasının işlem süresinde ne kadar bir uzamaya neden olduğunu değerlendirilememiştir. İşlem süresindeki uzamanın değerlendirilmemiş olması çalışmamızın bir limitasyonu olabilir. Gelecek çalışmalarda, işlem sürelerinin sistematik olarak ölçülmesi ve değerlendirilmesi, bu limitasyonu ortadan kaldırarak daha kapsamlı sonuçlar elde edilmesine katkı sağlayabilir.

Sonuç olarak folikül yıkama uygulamasıyla tüm folikül boyutlarında anlamlı olarak daha fazla oosit elde edilmektedir. Özellikle boyut olarak daha küçük olan foliküllerde yıkama işleminin etkinliği daha yüksek olabilir. Ayrıca, folikül yıkama

uygulamasından elde edilen oositlerin yıkama işleminden olumsuz etkilenmediği ve yalnızca aspirasyon yapılan gruptan elde edilen oositlerle benzer oranlarda matürasyon, fertilizasyon ve embriyo gelişimine olanak sağladığı bulunmuştur.



## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

OPU işlemi öncesinde kontrollü ovaryan hiperstimülasyon ile geliştirilen foliküllerde, folikül hacmi ve boyutlarının oosit eldesinde belirleyici bir etken olduğu saptanmıştır. 3,5 cc altında folikül hacmine sahip olan foliküllerden daha büyük foliküllere kıyasla daha az oosit elde edilebilse de tüm folikül hacimlerinde yıkama işlemi ile istatistiksel anlamlı olarak daha fazla oosit eldesine ulaşılmıştır.

Yıkama işlemi tüm folikül hacimlerinde etkili olsa da 6 cc'den daha küçük folikül hacimlerinde yıkama ile elde edilen oosit sayısı, yalnızca aspirasyon ile elde edilen oositlerden istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Bu durum, yıkama uygulamasının, çalışma örnekleminin daha küçük folikül hacim ve boyutlarındaki ilk yarısında, daha büyük hacim ve boyutlardaki ikinci yarısına kıyasla daha etkili olduğu lehinedir.

Her iki gruptan elde edilen indeks oositlerin takibinde, oositlerin yıkama işleminden olumsuz etkilenmedikleri ve yıkama grubunda da yalnızca aspirasyon yapılan gruptan elde edilen oositlerle benzer oranlarda MII oosit, 2PN yapısı, orta-iyi kalite D3 ve D5 embriyo gelişiminin olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak folikül yıkama uygulamasıyla tüm folikül boyutlarında anlamlı olarak daha fazla oosit eldesine ulaşılmaktadır. Folikül yıkama uygulamasından elde edilen oositlerin yıkama işleminden olumsuz etkilenmediği ve yalnızca aspirasyon yapılan gruptan elde edilen oositlerle benzer oranlarda MII oosit, 2PN yapısı, orta-iyi kalite D3 ve D5 embriyo oluşumuna olanak sağladığı bulunmuştur. Dolayısıyla folikül yıkama uygulamasının görece küçük foliküller başta olmak üzere tüm folikül gruplarında uygulanması daha yüksek oosit eldelerine ve bu durum da gebelik sonuçlarının iyileştirilmesine katkıda bulunabilir. Uygulamanın potansiyel dezavantajlarının belirlenmesi ve etkinlik-güvenliklerinin doğrulanması ve gebelik sonuçlarına etkilerinin değerlendirilebilmesi amacıyla prospektif randomize kontrollü çalışmaların yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

## 7. ÖZET

### **Folikül Yıkama Uygulamasının Oosit Eldesi ve İndeks Oositten Gelişen Embriyonun Kalitesine Etkisi: Prospektif Kohort Çalışma**

**Amaç:** İlk aspirasyondan ve sadece yıkamadan ile elde edilecek oositlerin ayrı gruplarda izole edilerek, folikül yıkama uygulamasının hastalardan elde edilecek oosit miktarına etkisinin incelenmesi ve yıkama sonucunda elde edilen oositten gelişen embriyo kalitesinin yıkama yapılmayan grup ile karşılaştırılarak yıkama uygulamasının embriyoya verebileceği potansiyel zararların araştırılması.

**Gereç ve Yöntem:** Prospektif kohort çalışma planı dahilinde Akdeniz Üniversitesi Üremeye Yardımcı Tedaviler Merkezinde Haziran 2021 ve Haziran 2022 tarihleri arasında kontrollü ovaryan hiperstimülasyon sonrası tek klinisyen tarafından OPU uygulanan tüm hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma her bir hastanın sadece tek bir folikülünde inceleme yapılacak şekilde dizayn edilmiş olup OPU işleminin hemen öncesinde, herhangi bir overdeki ilk 12 mm üzerindeki ulaşılabilir folikül indeks folikül olarak belirlenmiş ve boyutları (yükseklik x en x derinlik) milimetrik olarak ölçülerek kayıt altına alınmıştır. OPU işleminde saf folikül sıvısının tamamı ilk değerlendirme için IVF laboratuvarına ulaştırılmış ve sıvı miktarı ile COC varlığı kaydedilmiştir. Gönderilen ilk örnek içerisinde COC gözlenmemesi durumunda ek yıkama işlemine geçilmiştir. Yıkama-aspirasyon işlemi sonrası elde edilen ek örnek, sıvı miktarı kaydedilerek IVF laboratuvarına ulaştırılmış ve COC varlığı tekrar araştırılmıştır. Direkt aspirasyonda ya da yıkama sonrasında oosit elde edilmesine göre her bir oosit bireysel olarak ICSI sonrası takip edilmiş ve her aşama için grup kıyaslamaları yapılmıştır.

**Bulgular:** Toplam 850 hastanın 336'sında (%39,5) ilk aspirasyonda COC elde edilmiş, ilk etapta COC elde edilemeyen 514 hastanın 267'sinde (%31,4) yıkama işlemi sonucunda COC elde edilmiştir. 247 (%29,1) hastada ise hiç oosit elde edilememiştir. Persentil alt gruplarına göre folikül yıkamanın etkisinin incelenmesi için yapılan analizde folikül yıkama işlemi, tüm persentil alt gruplarında COC eldesini anlamlı olarak artırmıştır.  $\leq 10$  persentil alt grubunda ilk aspirasyon sonrası folikül başına COC eldesinin başarısı %24,2 iken folikül yıkama

işlemi sonrası bu oran %55,8'e yükselmiştir. Aynı başarı oranları 11-49 percentil alt grubunda %36,5'ten %73,3'e; 50-89 percentil alt grubunda %45,2'den %72,4'e ve  $\geq 90$  percentil alt grubunda %45,1'den %71,4'e yükselmiştir ve bu artışların tümü istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,001$ ). Elde edilen sonuçlarda tüm hasta alt grupları içerisinde 850 folikülden toplam 336 COC ilk aspirasyonda elde edilirken folikül yıkama uygulaması ile ekstra olarak 267 COC kazancı sağlanmıştır. 50-89 ve  $\geq 90$  percentil alt gruplarında ilk aspirasyon ile eşit derecede COC elde edilirken; COC elde edilemeyen foliküle yıkama yapıldığında  $\leq 10$  ve 11-49 percentil alt gruplarında istatistiksel olarak ilk aspirasyona kıyasla daha yüksek COC elde oranları tespit edilmiştir (sırasıyla  $p=0,016$ ,  $p=0,01$ ). Folikül yıkama işleminin MII oosit, 2PN, D3 ve D5 orta-iyi kalite embriyo eldeleri üzerine etkisinin incelenmesi için yapılan analize göre ilk aspirasyon grubu ile yıkama grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). Buna karşın yaş, VKİ, Tetikleme tipi, tetikleme günündeki maksimum folikül çapı ve hastanın overindeki toplam 17 mm'den büyük folikül sayısı gibi alt gruplar arasında anlamlı ve sonuçları etkileyebilecek etkenlerin de aynı model içerisinde değerlendirildiği ikili regresyon analizinin sonucunda; hiçbir percentil grubunda MII oosit, 2PN, orta-iyi kalite D3 ve D5 embriyo eldelerinin yıkama ile olumsuz yönde etkilenmediği gösterilmiştir. İlk aspirasyonda oosit elde edilen grup ile yıkamada oosit elde edilen grup arasındaki  $\beta$ -hCG pozitifliği, klinik gebelik ve canlı doğum başarı oranları arasında anlamlı fark tespit edilmemiştir.

**Sonuç:** Folikül yıkama uygulaması tüm folikül boyutlarında elde edilen oosit miktarını anlamlı derecede artırmaktadır. Özellikle 6 cc altındaki folikül hacimlerinde yalnızca aspirasyon uygulamasına kıyasla yıkama ile anlamlı olarak daha yüksek oosit eldesine ulaşılmaktadır. Elde edilen oositlerden MII oosit saptanma oranlarında, 2PN, orta iyi kalite D3 ve D5 embriyo gelişiminde anlamlı fark bulunmamaktadır. Bu durum folikül yıkama uygulamasının elde edilen oosite zarar vermediğinin kanıtı durumundadır.

**Anahtar Sözcükler:** OPU, Oosit Toplama, Folikül Yıkama, Oosit Eldesi, Embriyo Kalitesi

## 8. ABSTRACT

### **Effect of Follicular Flushing on Oocyte Retrieval Rate and the Quality of Embryos Derived from Index Oocytes: A Prospective Cohort Study**

**Objective:** To investigate the effect of follicular flushing on the number of oocytes obtained from patients by isolating the oocytes obtained from the first aspiration and only flushing in separate groups, and to investigate the potential damages of flushing application on the embryo by comparing the quality of the embryo developed from the oocyte obtained as a result of flushing with the group without flushing.

**Materials and Methods:** Within the scope of a prospective cohort study, all patients who underwent OPU by a single clinician after controlled ovarian hyperstimulation at the Akdeniz University Assisted Reproductive Treatments Center between June 2021 and June 2022 were included in the study. The study was designed to examine only a single follicle of each patient, and immediately before the OPU procedure, the first accessible follicle over 12 mm in any ovary was determined as the index follicle, and its dimensions (height x width x depth) were measured and recorded in millimeters. During the OPU procedure, the entire amount of pure follicular fluid was delivered to the IVF laboratory for initial evaluation, and the amount of fluid and the presence of COC were recorded. If COC was not observed in the first sample sent, an additional flushing procedure was performed. The additional sample obtained after the flushing-aspiration procedure was delivered to the IVF laboratory, and the presence of COC was re-investigated. Each oocyte was individually followed up after ICSI, and group comparisons were made for each stage according to whether oocytes were obtained in direct aspiration or after flushing.

**Results:** COC was obtained in the first aspiration in 336 (39.5%) of the total 850 patients, and COC was obtained as a result of the flushing procedure in 267 (31.4%) of the 514 patients who did not initially obtain COC. In 247 (29.1%) patients, no oocytes were obtained. In the analysis conducted to examine the effect of follicular flushing according to percentile subgroups, follicular flushing

significantly increased COC retrieval in all percentile subgroups. In the  $\leq 10$  percentile subgroup, the success of COC retrieval per follicle after the first aspiration was 24.2%, while this rate increased to 55.8% after the follicular flushing procedure. The same success rates increased from 36.5% to 73.3% in the 11-49 percentile subgroup; from 45.2% to 72.4% in the 50-89 percentile subgroup, and from 45.1% to 71.4% in the  $\geq 90$  percentile subgroup, and all these increases were statistically significant ( $p=0.001$ ). In the obtained results, while a total of 336 COCs were obtained from 850 follicles in all patient subgroups in the first aspiration, an additional 267 COCs were obtained with the application of follicular flushing. While equal amounts of COC were obtained in the first aspiration in the 50-89 and  $\geq 90$  percentile subgroups; when flushing was performed on follicles where no COC was obtained, higher COC retrieval rates were found compared to the first aspiration in the  $\leq 10$  and 11-49 percentile subgroups ( $p=0.016$ ,  $p=0.01$ , respectively). According to the analysis conducted to examine the effect of follicular flushing on MII oocyte, 2PN, D3, and D5 moderate-good quality embryo retrievals, there was no statistically significant difference between the first aspiration group and the flushing group ( $p>0.05$ ). However, in the binary regression analysis where significant factors among subgroups such as age, BMI, trigger type, maximum follicle diameter on the trigger day, and the total number of follicles over 17 mm in the ovary of the patient were evaluated within the same model; it was shown that MII oocyte, 2PN, moderate-good quality D3, and D5 embryo retrievals were not adversely affected by flushing in any percentile group. There was no significant difference in  $\beta$ -hCG positivity, clinical pregnancy, and live birth success rates between the group where oocytes were obtained in the first aspiration and the group where oocytes were obtained in flushing.

**Conclusion:** The application of follicular flushing significantly increases the number of oocytes obtained in all follicle sizes. Especially in follicle volumes below 6 cc, significantly higher oocyte retrieval is achieved with flushing compared to aspiration only. There is no significant difference in the detection rates of MII oocytes, 2PN, moderate-good quality D3, and D5 embryo

development from the obtained oocytes. This situation proves that the follicular flushing application does not harm the obtained oocyte.

**Keywords:** OPU, Oocyte Retrieval, Follicular Flushing, Oocyte Yield, Embryo Quality



## 9. KAYNAKLAR

1. Drakopoulos P, Blockeel C, Stoop D, Camus M, de Vos M, Tournaye H, et al., Conventional ovarian stimulation and single embryo transfer for IVF/ICSI. How many oocytes do we need to maximize cumulative live birth rates after utilization of all fresh and frozen embryos? *Hum Reprod* 2016; 31(2): 370-6. doi: 10.1093/humrep/dev316
2. Wikland M, Enk L, Hamberger L. Transvesical and transvaginal approaches for the aspiration of follicles by use of ultrasound. *Ann N Y Acad Sci* 1985; 442: 182-94. doi: 10.1111/j.1749-6632.1985.tb37519.x
3. Hill MJ, Levens ED. Is there a benefit in follicular flushing in assisted reproductive technology? *Curr Opin Obstet Gynecol* 2010; 22(3): 208-12. doi: 10.1097/GCO.0b013e3283373bfe
4. Roque M, Sampaio M, Geber S. Follicular flushing during oocyte retrieval: a systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet* 2012; 29(11): 1249-54. doi: 10.1007/s10815-012-9869-9
5. Levy G, Hill MJ, Ramirez CI, Correa L, Ryan ME, DeCherney AH, et al. The use of follicle flushing during oocyte retrieval in assisted reproductive technologies: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2012; 27(8): 2373-9. doi: 10.1093/humrep/des174
6. Rose BI, Laky D. A comparison of the Cook single lumen immature ovum IVM needle to the Steiner-Tan pseudo double lumen flushing needle for oocyte retrieval for IVM. *J Assist Reprod Genet* 2013; 30(6): 855-60. doi: 10.1007/s10815-013-0006-1
7. Scott RT, Hofmann GE, Muasher SJ, Acosta AA, Kreiner DK, Rosenwaks Z. A prospective randomized comparison of single- and double-lumen needles for transvaginal follicular aspiration. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 1989; 6(2): 98-100. doi: 10.1007/BF01130734
8. Haydardedeoglu B, Gjemalaj F, Aytac PC, Kilicdag EB. Direct aspiration versus follicular flushing in poor responders undergoing intracytoplasmic sperm injection: a randomised controlled trial. *BJOG* 2017; 124(8): 1190-6. doi: 10.1111/1471-0528.14629
9. von Horn K, Depenbusch M, Schultze-Mosgau A, Griesinger G. Randomized, open trial comparing a modified double-lumen needle follicular flushing system with a single-lumen aspiration needle in IVF patients with poor ovarian response. *Hum Reprod* 2017; 32(4): 832-5. doi: 10.1093/humrep/dex019

10. Kohl Schwartz AS, Calzefferri I, Roumet M, Limacher A, Fink A, Wueest A, et al. Follicular flushing leads to higher oocyte yield in monofollicular IVF: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2020; 35(10): 2253-61. doi: 10.1093/humrep/deaa165
11. Pabuccu EG, Arslanca T, Ucar U, Keles G, Celikel O, Pabuccu R. Follicular flushing using double lumen needle yields more oocytes in mono-follicular poor responders. *J Gynecol Obstet Hum Reprod* 2021; 50(9): 102150. doi: 10.1016/j.jogoh.2021.102150
12. el Hussein E, Balen AH, Tan SL. A prospective study comparing the outcome of oocytes retrieved in the aspirate with those retrieved in the flush during transvaginal ultrasound directed oocyte recovery for in-vitro fertilization. *Br J Obstet Gynaecol* 1992; 99(10): 841-4. doi: 10.1111/j.1471-0528.1992.tb14417.x
13. Lainas GT, Lainas TG, Makris AA, Xenariou MV, Petsas GK, Kolibianakis EM. Follicular flushing increases the number of oocytes retrieved: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2023; 38(10): 1927-37. doi: 10.1093/humrep/dead169
14. Mais V, Kazer RR, Cetel NS, Rivier J, Vale W, Yen SS. The dependency of folliculogenesis and corpus luteum function on pulsatile gonadotropin secretion in cycling women using a gonadotropin-releasing hormone antagonist as a probe. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62(6): 1250-5. doi: 10.1210/jcem-62-6-1250
15. Oktay K, Newton H, Mullan J, Gosden RG. Development of human primordial follicles to antral stages in SCID/hpg mice stimulated with follicle stimulating hormone. *Hum Reprod* 1998; 13(5): 1133-8. doi: 10.1093/humrep/13.5.1133
16. Oktay K, Briggs D, Gosden RG. Ontogeny of follicle-stimulating hormone receptor gene expression in isolated human ovarian follicles. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(11): 3748-51. doi: 10.1210/jcem.82.11.4346
17. Hall JE, Schoenfeld DA, Martin KA, Crowley Jr WF. Hypothalamic gonadotropin-releasing hormone secretion and follicle-stimulating hormone dynamics during the luteal-follicular transition. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74(3): 600-7. doi: 10.1210/jcem.74.3.1740493
18. Kobayashi M, Nakano R, Ooshima A. Immunohistochemical localization of pituitary gonadotrophins and gonadal steroids confirms the 'two-cell, two-gonadotrophin' hypothesis of steroidogenesis in the human ovary. *J Endocrinol* 1990; 126(3): 483-8. doi: 10.1677/joe.0.1260483

19. Goodman AL, Hodgen GD. The ovarian triad of the primate menstrual cycle. *Recent Prog Horm Res* 1983; 39: 1-73. doi: 10.1016/b978-0-12-571139-5.50005-7
20. Ottowitz WE, Dougherty DD, Fischman AJ, Hall JE. [18F]2-fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography demonstration of estrogen negative and positive feedback on luteinizing hormone secretion in women. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(8): 3208-14. doi: 10.1210/jc.2008-0203
21. Tilly JL, Kowalski KI, Schomberg DW, Hsueh AJ. Apoptosis in atretic ovarian follicles is associated with selective decreases in messenger ribonucleic acid transcripts for gonadotropin receptors and cytochrome P450 aromatase. *Endocrinology* 1992; 131(4): 1670-6. doi: 10.1210/endo.131.4.1396312
22. Andersen CY, Byskov AG. Estradiol and regulation of anti-Müllerian hormone, inhibin-A, and inhibin-B secretion: analysis of small antral and preovulatory human follicles' fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(10): 4064-9. doi: 10.1210/jc.2006-1066
23. van Rooij IA, Broekmans FJM, Scheffer GJ, Looman CWN, Habbema JDF, de Jong FH, et al. Serum antimüllerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. *Fertil Steril* 2005; 83(4): 979-87. doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.11.029
24. Richards JS, Jahnsen T, Hedin L, Lifka J, Ratoosh S, Durica JM, et al. Ovarian follicular development: from physiology to molecular biology. *Recent Prog Horm Res* 1987; 43: 231-76. doi: 10.1016/b978-0-12-571143-2.50012-5
25. Pauerstein CJ, Eddy CA, Croxatto HD, Hess R, Siler-Khodr TM, Croxatto HB. Temporal relationships of estrogen, progesterone, and luteinizing hormone levels to ovulation in women and infrahuman primates. *Am J Obstet Gynecol* 1978; 130(8): 876-86. doi: 10.1016/0002-9378(78)90264-8
26. Fritz MA, Speroff L. The endocrinology of the menstrual cycle: the interaction of folliculogenesis and neuroendocrine mechanisms. *Fertil Steril* 1982; 38(5): 509-29. doi: 10.1016/s0015-0282(16)46628-8
27. Temporal relationships between ovulation and defined changes in the concentration of plasma estradiol-17 beta, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and progesterone. I. Probit analysis. World Health Organization, Task Force on Methods for the Determination of the Fertile Period, Special Programme of Research, Development and Research Training

- in Human Reproduction. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 138(4): 383-90. PMID: 6775535
28. Hoff JD, Quigley ME, Yen SS. Hormonal dynamics at midcycle: a reevaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 57(4): 792-6. doi: 10.1210/jcem-57-4-792
  29. La Marca A, Sunkara SK. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice. *Hum Reprod Update* 2014; 20(1): 124-40. doi: 10.1093/humupd/dmt037
  30. Hammarberg K, Wikland M, Nilsson L, Enk L. Patients' experience of transvaginal follicle aspiration under local anesthesia. *Ann N Y Acad Sci* 1988; 541: 134-7. doi: 10.1111/j.1749-6632.1988.tb22249.x
  31. Andersen AG, Als-Nielsen B, Hornnes PJ, Franch Andersen L. Time interval from human chorionic gonadotrophin (HCG) injection to follicular rupture. *Hum Reprod* 1995; 10(12): 3202-5. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a135888
  32. Kratochwil A, Urban G, Friedrich F. Ultrasonic tomography of the ovaries. *Ann Chir Gynaecol Fenn* 1972; 61(4): 211-4. PMID: 4640305
  33. Wikland M, Hamberger L. Ultrasound as a diagnostic and operative tool for in vitro fertilization and embryo replacement (IVF/ER) programs. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 1984; 1(4): 213-6. doi: 10.1007/BF01131618
  34. Lenz S, Lauritsen JG. Ultrasonically guided percutaneous aspiration of human follicles under local anesthesia: a new method of collecting oocytes for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1982; 38(6): 673-7. doi: 10.1016/s0015-0282(16)46692-6
  35. Parsons J, Riddle A, Booker M, Sharma V, Goswamy R, Wilson L, et al. Oocyte retrieval for in-vitro fertilisation by ultrasonically guided needle aspiration via the urethra. *Lancet* 1985; 1(8437): 1076-7. doi: 10.1016/s0140-6736(85)92373-6
  36. Dellenbach P, Nisand I, Moreau L, Feger B, Plumere C, Gerlinger P, et al. Transvaginal, sonographically controlled ovarian follicle puncture for egg retrieval. *Lancet* 1984; 1(8392): 1467. doi: 10.1016/s0140-6736(84)91958-5
  37. Roman-Rodriguez CF, Weissbrot E, Hsu C-D, Wong A, Siefert C, Sung L. Comparing transabdominal and transvaginal ultrasound-guided follicular aspiration: A risk assessment formula. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2015; 54(6): 693-9. doi: 10.1016/j.tjog.2015.02.004
  38. Rivera RM, Kelley KL, Erdos GW, Hansen PJ. Alterations in ultrastructural morphology of two-cell bovine embryos produced in vitro and in vivo

- following a physiologically relevant heat shock. *Biol Reprod* 2003; 69(6): 2068-77. doi: 10.1095/biolreprod.103.020347
39. Yeung QS, Briton-Jones CM, Tjer GCC, Chiu TTY, Haines C. The efficacy of test tube warming devices used during oocyte retrieval for IVF. *J Assist Reprod Genet* 2004; 21(10): 355-60. doi: 10.1023/b:jarg.0000046203.44045.0e
  40. Rivera RM, Hansen PJ. Development of cultured bovine embryos after exposure to high temperatures in the physiological range. *Reproduction* 2001; 121(1): 107-15. PMID: 11226033
  41. Awonuga A, Waterstone J, Oyesanya O, Curson R, Nargund G, Parsons J. A prospective randomized study comparing needles of different diameters for transvaginal ultrasound-directed follicle aspiration. *Fertil Steril* 1996; 65(1): 109-13. doi: 10.1016/s0015-0282(16)58036-4
  42. Miller KA, Elkind-Hirsch K, Benson M, Bergh P, Drews M, Scott RT. A new follicle aspiration needle set is equally effective and as well tolerated as the standard needle when used in a prospective randomized trial in a large in vitro fertilization program. *Fertil Steril* 2004; 81(1): 191-3. doi: 10.1016/j.fertnstert.2003.06.010
  43. Haydardedeoglu B, Cok T, Bulgan Kilicdag E, Parlakgumus AH, Simsek A, Bagis T. In vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection outcomes in single- versus double-lumen oocyte retrieval needles in normally responding patients: a randomized trial. *Fertil Steril* 2011; 95(2): 812-4. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.09.013
  44. Levi-Setti PE, Cirillo F, Scolaro V, Morengi E, Heilbron F, Girardello D, et al. Appraisal of clinical complications after 23,827 oocyte retrievals in a large assisted reproductive technology program. *Fertil Steril* 2018; 109(6): 1038-43.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.02.002
  45. Wyns C, De Geyter C, Calhaz-Jorge C, Kupra MS, Motrenko T, Smeenk J, Bergh C, et al. ART in Europe, 2018: results generated from European registries by ESHRE. *Hum Reprod Open* 2022; 2022(3): hoac022. doi: 10.1093/hropen/hoac022
  46. Dessole S, Rubattu G, Ambrosini G, Miele M, Nardelli GB, Cherchi PL. Blood loss following noncomplicated transvaginal oocyte retrieval for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2001; 76(1): 205-6. doi: 10.1016/s0015-0282(01)01858-1
  47. Aragona C, Mohamed MA, Espinola MSB, Linari A, Pecorini F, Micara G, et al. Clinical complications after transvaginal oocyte retrieval in 7,098 IVF cycles. *Fertil Steril* 2011; 95(1): 293-4. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.07.1054

48. De los Santos MJ, Apter S, Coticchio G, Debrock S, Lundin K, Plancha CE, et al. Revised guidelines for good practice in IVF laboratories (2015). *Hum Reprod* 2016; 31(4): 685-6. doi: 10.1093/humrep/dew016
49. Magli MC, Van den Abdeel E, Lundin K, Royere D, Van der Elst J, Gianaroli L, et al. Revised guidelines for good practice in IVF laboratories. *Hum Reprod* 2008; 23(6): 1253-62. doi: 10.1093/humrep/den068
50. McGinnis LK, Pelech S, Kinsey WH. Post-ovulatory aging of oocytes disrupts kinase signaling pathways and lysosome biogenesis. *Mol Reprod Dev* 2014; 81(10): 928-45. doi: 10.1002/mrd.22413
51. Gilchrist RB, Lane M, Thompson JG. Oocyte-secreted factors: regulators of cumulus cell function and oocyte quality. *Hum Reprod Update* 2008; 14(2): 159-77. doi: 10.1093/humupd/dmm040
52. Rienzi L, Vajta G, Ubaldi F. Predictive value of oocyte morphology in human IVF: a systematic review of the literature. *Hum Reprod Update* 2011; 17(1): 34-45. doi: 10.1093/humupd/dmq029
53. Swain JE, Pool TB. ART failure: oocyte contributions to unsuccessful fertilization. *Hum Reprod Update* 2008; 14(5): 431-46. doi: 10.1093/humupd/dmn025
54. Coticchio G, Del Canto M, Fadini R, Renzini MM, Guglielmo MC, Miglietta S, et al. Ultrastructure of human oocytes after in vitro maturation. *Mol Hum Reprod* 2016; 22(2): 110-8. doi: 10.1093/molehr/gav071
55. Ampha Sci Reprod Med ESHRE Spec Inter Group Embryol. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod* 2011; 26(6): 1270-83. doi: 10.1093/humrep/der037
56. Sunkara SK, Rittenberg V, Raine-Fenning N, Bhattacharya S, Zamora J, Coomarasamy A. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Hum Reprod* 2011; 26(7): 1768-74. doi: 10.1093/humrep/der106
57. Malhotra N, Vignarajan CP, Dolkar D, Mahey R, Vanamail P. Follicular Flushing Versus Direct Aspiration at Oocyte Retrieval in Poor Responders Undergoing in vitro Fertilization: A Randomized Controlled Trial. *J Hum Reprod Sci* 2020; 13(2): 150-4. doi: 10.4103/jhrs.JHRS\_59\_19
58. Mok-Lin E, Brauer AA, Schattman G, Zaninovic N, Rosenwaks Z, Spandorfer S. Follicular flushing and in vitro fertilization outcomes in the poorest responders: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2013; 28(11): 2990-5. doi: 10.1093/humrep/det350

59. Bagtharia S, Haloob AR. Is there a benefit from routine follicular flushing for oocyte retrieval? *J Obstet Gynaecol* 2005; 25(4): 374-6. doi: 10.1080/01443610500118970
60. Horne R, Bishop CJ, Reeves G, Wood C, Kovacs GT. Aspiration of oocytes for in-vitro fertilization. *Hum Reprod Update* 1996; 2(1): 77-85. doi: 10.1093/humupd/2.1.77
61. Penzias AS, Emmi AM, Dubey AK, Layman LC, DeCherney AH, Reindollar RH, et al. Ultrasound prediction of follicle volume: is the mean diameter reflective? *Fertil Steril* 1994; 62(6): 1274-6. PMID: 7957999
62. Wirleitner B, Okhowat J, Vistejnova L, Kralickova M, Karlikova M, Vanderzwalmen P, et al. Relationship between follicular volume and oocyte competence, blastocyst development and live-birth rate: optimal follicle size for oocyte retrieval. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2018; 51(1): 118-25. doi: 10.1002/uog.18955
63. Nivet AL, Leveille MC, Leader A, Sirard MA. Transcriptional characteristics of different sized follicles in relation to embryo transferability: potential role of hepatocyte growth factor signalling. *Mol Hum Reprod* 2016; 22(7): 475-84. doi: 10.1093/molehr/gaw029
64. Simonetti S, Veeck LL, Jones Jr HW. Correlation of follicular fluid volume with oocyte morphology from follicles stimulated by human menopausal gonadotropin. *Fertil Steril* 1985; 44(2): 177-80. doi: 10.1016/s0015-0282(16)48731-5
65. Triwitayakorn A, Suwajanakorn S, Pruksananonda K, Sereepapong W, Ahnonkitpanit V. Correlation between human follicular diameter and oocyte outcomes in an ICSI program. *J Assist Reprod Genet* 2003; 20(4): 143-7. doi: 10.1023/a:1022977002954
66. Mehri S, Levi Setti PE, Greco K, Sakkas D, Martinez G, Patrizio P. Correlation between follicular diameters and flushing versus no flushing on oocyte maturity, fertilization rate and embryo quality. *J Assist Reprod Genet* 2014; 31(1): 73-7. doi: 10.1007/s10815-013-0124-9
67. Lozano DHM, Fanchin R, Chevalier N, Feyereisen E, Hesters L, Frydman N, et al. Optimising the semi natural cycle IVF: the importance of follicular flushing. *J Indian Med Assoc* 2006; 104(8): 423-7. PMID: 17240797
68. Knight DC, Tyler JP, Driscoll GL. Follicular flushing at oocyte retrieval: a reappraisal. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2001; 41(2): 210-3. doi: 10.1111/j.1479-828x.2001.tb01212.x

## 10. EKLER

**Ek 1.** Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onayı

*“Kişisel Verilerin Korunması Kanunu  
kapsamında ilgili belge açık erişime  
kapatılmıştır”*