

Ratlarda Tubal Segmental Eksizyonun Over Histopatolojisi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi: Deneysel Çalışma

The Effects of Tubal Segmental Excision on Ovarian Histopathological Examination in the Rats: An Experimental Study

Dr. Remzi ATILGAN,^a
Dr. Salih Burçin KAVAK,^b
Dr. Aygen ÇELİK,^c
Dr. Ekrem SAPMAZ,^d
Dr. Nusret AKPOLAT,^e
Dr. Abdullah BOZTOSUN^f

^a2. Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Medicalpark Elazığ Hastanesi,

^bKadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Elazığ Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Elazığ

^cKadın Hastalıkları ve Doğum AD, Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul

^dKadın Hastalıkları ve Doğum AD,

^ePatoloji AD,

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Elazığ
^fKadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi, Yozgat

Bu makalenin özeti 7. Ulusal Jinekoloji Obstetrik Kongresi (14-19 Mayıs 2009, KKTC)'ne sunum olarak gönderilmiştir.

Geliş Tarihi/Received: 08.04.2009

Kabul Tarihi/Accepted: 27.05.2009

Yazışma Adresi/Correspondence:

Dr. Remzi ATILGAN
Medical Park Elazığ Hastanesi,
2. Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği,
Elazığ,
TÜRKİYE/TURKEY
remzi_atilgan@hotmail.com

ÖZET Amaç: Ratlarda tubal segmental eksizyon işleminin 1. ve 6. aylarda over histopatolojisi üzerine etkilerinin incelenmesidir. **Gereç ve Yöntemler:** Yirmi sekiz adet 3.5 aylık rat rastgele 4 gruba ayrıldı.

Grup 1 (n= 7): Laparotomi yapıp 1 ay sonra sol ooferektomi yapılan grup.

Grup 2 (n= 7): Sol tubal segmental eksizyon yapıp 1 ay sonra sol ooferektomi yapılan grup.

Grup 3 (n= 7): Laparotomi yapıp 6 ay sonra sol ooferektomi yapılan grup.

Grup 4 (n= 7): Sol tubal segmental eksizyon yapıp 6 ay sonra sol ooferektomi yapılan grup.

Sol over örnekleri formaldehidle tespit edildi. Hemotoksilen eozin (HE) ile boyanan preparatlarda over folikül rezervi saptandı. Atretik foliküller corpus luteum, corpus albicans sayıldı. Corpus luteum içi anjiyogenesiz varlığındaki gerileme ve ovarian stromada fibrozis varlığı incelendi. Overdeki folikül kisti sayıldı. Grup 1 grup 2 ile, grup 3 ise grup 4 ile karşılaştırıldı. Ordinal veriler için Mann Whitney U testi, nominal veriler için ki-kare testleri kullanıldı. $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi. **Bulgular:** Grup 1 grup 2 ile grup 3 grup 4 ile karşılaştırıldığında, atretik folikül sayısı segmental eksizyon yapılan gruplarda anlamlı olarak artmıştı. Diğer tüm değerler benzer bulundu. Erken dönemde grup 2'de corpus luteum içi anjiyogenesisteki gerilemede azalma ve corpus luteum sayısında artış tespit edildi. Geç dönemde sadece corpus luteum içi anjiyogenesisteki gerilemedeki azalma sebat ederken, corpus luteum sayısı normale döndü. Grup 4'de makroskobik kist tespit edildi. **Sonuç:** Ratlarda unilateral tubal segmental eksizyon işlemi, gerek erken gerekse geç dönemde atretik folikül sayısında anlamlı artışa neden olmaktadır. Ayrıca erken dönemde corpus luteumdaki anjiyogenesisteki gerilemede hafif bir azalma yaparken, corpus luteum sayısında hafif bir artışa neden olmaktadır. Geç dönemde ise over kistine neden olabilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Sterilizasyon, tubal; ovarian follikül; rat, wistar

ABSTRACT Objective: The aim of this study is to investigate the effects of tubal segmental excision on rat ovarian histopathology in the first and sixth months of operation. **Material and Methods:** 3.5 months old 28 rats are divided into 4 groups.

Group 1 (n= 7): Group in wich underwent left oophorectomy one month after laparotomy.

Group 2 (n= 7): Group in wich underwent left oophorectomy one month after tubal segmental excision.

Group 3 (n= 7): Group in wich left oophorectomy was done six month after laparotomy.

Group 4 (n= 7): Group in wich left oophorectomy was done six months after left tubal segmental excision.

Left ovary specimens are fixed with formaldehyde, dyed with hematoxylen-eosin and ovarian reserve is examined. The number of athretic follicles, corpus luteum and corpus albicans are determined. Draw back of angiogenesis in corpus luteum and presence of fibrosis in ovarian stroma are examined. Follicle cysts in the ovar yare counted. Group 1-groups 2 is compared with groups 3-groups 4. Mann Whitney U test is used for statistical analysis of ordinal results and X^2 test is used for analysis of nominal results. $p < 0.05$ accepted as statistically meaningful. **Results:** When group 1-groups 2 is compared with Group 3-Group 4, it is determined that the number of athretic follicle is increased significantly in the group underwent segmental excision. Other results are found similar. In the early period a decrease in draw back of angiogenesis in the corpus luteum and increase in number of corpus luteum are determined. In group 2. In the late period, decrease in draw back of angiogenesis in corpus luteum is persisted but number of corpus luteum is returned to normal. Macroscopic cysts is determined in groups 4. **Conclusion:** Unilateral tubal segmental excision prosedure of rats cause a significant increase in atretic follicle number both in early and late period. Additionally, in the early period it causes a slight decrease in draw back of angiogenesis in the corpus luteum and cause a slight increase in the number of corpus luteum. It can cause ovarian cyst in the late period.

Key Words: Sterilization, tubal; ovarian follicle; rats, wistar

Ektopik gebelik olgularında gebelik ürünü tubanın ampuller bölgesinde ise lineer salpingostomi; istmik bölgesinde lokalize ise segmental eksizyon işlemi tercih edilir. Aynı seansta veya daha ileri bir tarihte tubal anastomoz uygulanabilir. Segmental eksizyon işleminde salpenjektomiye nazaran daha az fallop tüpü bölümü çıkarılır.^{1,2} Segmental eksizyonu takiben aynı seansta fallop tüpü anastomozu yapılarak olgusunun gelecekteki fertilitesi de korunmuş olur.³

Gerek insan gerekse ratlarda tubal cerrahilerin ovaryan kan damarları üzerine yaptıkları hasardan dolayı, ovaryan rezervde ve kan akımında değişiklik yaptıkları kabul edilmektedir. Ayrıca, uterin ve tubal lenfatiklerin de bu işlem esnasında zarar görebileceği bildirilmektedir.⁴⁻⁸ Histerektomi operasyonları esnasında, reproduktif dönemde mümkün olduğu kadar ovaryan kan desteğinin korunması gerekmektedir.⁹

Pepler ve ark.¹⁰ yaptıkları iki ayrı çalışmada gerek uterin arter ligasyonu (UL)'nun gerekse histerektominin, ratlarda over kan akımını bozarak ovulasyon üzerine olumsuz etki yaptığını tespit etmişlerdir.

Zackrisson ve ark.¹¹ yaptıkları rat deneyinde ovaryan arter ligasyonu (OL)'nun veya UL'nin over kan akımı ve fonksiyonları üzerine olumsuz etkilerinin olduğunu göstermişlerdir.

Son zamanlarda tubal cerrahinin ovaryan Doppler kan akımı ve hormon belirteçleri üzerine olumsuz bir etki yapmadığını gösteren çalışmalar da yapılmıştır. Histerektomi ve uterin arter embolizasyonunun, perimenopozal kadınlarda ovaryan foliküler rezervi azalttığı görülmüştür. Uterin arter embolizasyonunun normal fonksiyon gören overler üzerine herhangi bir yan etki yapmadığı gösterilmiştir.¹²

Pub Med'de yapılan literatür taramasında, ratlarda yapılmış tubal segmental eksizyon ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışma ile ratlarda tubal segmental eksizyon işleminin 1. ve 6. aylarda over histopatolojisi üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu deneysel çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında yapıldı. Düzenli sıklusa sahip 190-220 g ağırlığında, 14 haftalık erişkin dişi Wistar Albino cinsi 28 rat, yaklaşık 12 saat ışık (08-22), 12 saat karanlık fotoperiyodunda ve 21-23°C sabit sıcaklıktaki odada standart pellet yemi ve şehir suyu ile beslendi. Bu çalışma için Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Komitesi'nden izin alındı. Deney şartları "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" prensiplerine uygun olarak düzenlendi. Deneyden 18 saat önce oral beslenme kesildi, ratların sadece su içmelerine izin verildi. Vajinal sitoloji takibinde estrus fazında tespit edilen ratlara anestezi sağlamak amacıyla 400 mg/kg/ intraperitoneal (IP) dozunda kloral hidrat uygulandı (Resim 1). Ratlar sırt üstü pozisyonda operasyon masasına yatırıldı. Batın, orta hat insizyonla açıldı.

Yirmi sekiz adet 3.5 aylık rat rastgele 4 gruba ayrıldı.

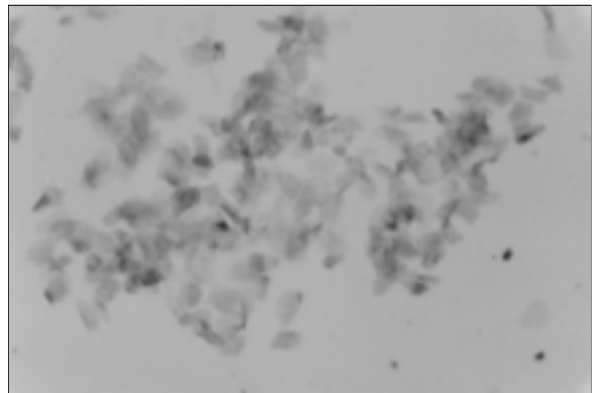
Grup 1 (n= 7): Laparotomi yapıp 1 ay sonra sol ooferektomi yapılan grup.

Grup 2 (n= 7): Sol tubal segmental eksizyon yapıp 1 ay sonra sol ooferektomi yapılan grup.

Grup 3 (n= 7): Laparotomi yapıp 6 ay sonra sol ooferektomi yapılan grup.

Grup 4 (n= 7): Sol tubal segmental eksizyon yapıp 6 ay sonra sol ooferektomi yapılan grup.

Tubal segmental eksizyon işleminde, fallop tüpünün orta 1/3'lük kısmı çıkartıldı.



RESİM 1: Östrus fazındaki bir ratta vajinal smearda sadece keratinize olmuş (kornifiye) süngerimsi hücreler görülmektedir (HE, x40).

Operasyon işlemi tamamlandıktan sonra batin tabakaları ve cilt 3/0 ipekle kapatıldı.

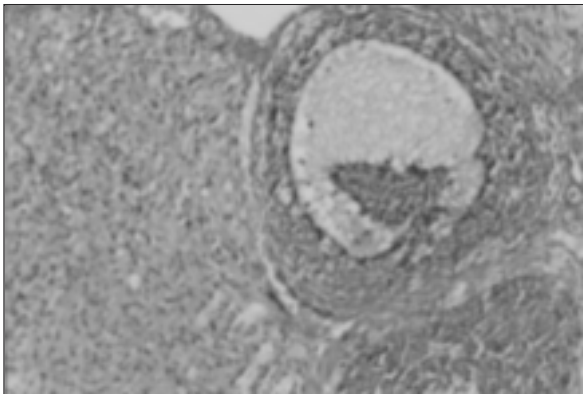
Ratlar deney sonuna kadar ayrı ayrı yedişerli kafeslerde tutuldu.

Sol over dokusu histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehidle fikse edildi, parafin bloklara gömüldü, 4 µm kalınlığında kesit alındı. Kesitler, hematoxilen eozin (HE) ile boyandı. Işık mikroskobu altında incelenen preparatlarda primordial, primer, sekonder ve tersiyer foliküller sayıldı. Hepsi toplanarak over folikül rezervi saptandı.¹³ Atretik foliküller, corpus luteum (CL), corpus albicans sayılarak total korpus sayısı hesaplandı. CL içi anjiyogenesisteki gerileme ve ovaryan stromadaki fibrozis varlığı incelendi. CL içi anjiyogenesisteki gerileme ve fibrozis varlığı için ordinal skala (Yok= 0p, Var= 1p, Çok var= 2p) oluşturuldu. Overdeki folikül kisti sayıldı. Verilerin istatistiksel analizi SPSS 12.0 programı kullanılarak yapıldı. Ordinal veriler için Mann Whitney U-testi, nominal veriler için ki kare testleri kullanıldı. $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Deney tüm ratlarda başarıyla sonuçlandırıldı.

Grup 1 ve grup 3'teki ratlarda normal over folikül gelişiminin tüm basamakları tespit edildi (Resim 2, 3). Ancak grup 4'te yaşlanmaya bağlı olarak over follikül rezerv elemanlarında azalma tespit edildi (Resim 4-6).



RESİM 2: Foliküler gelişimin safhalarının izlendiği genç 4.5 aylık grup 1 ratlara ait preparat. Fibrozis izlenmiyor. Korpus luteum içi anjiyogenesiz sonlanmış. HE, X40.

Grup 1 ile grup 2 ile karşılaştırıldığında atretik foliküller grup 2'de anlamlı olarak yüksek, diğer değerler benzer bulundu (Resim 7).

Over folikül rezervi elemanları grup 1'de grup 2'ye göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel fark tespit edilmedi (Resim 2, 7).

CL ve total korpus değeri grup 2'de grup 1'e, göre hafif yüksek olmasına rağmen istatistiksel fark tespit edilmedi (Resim 2, 7).

Grup 3 ile grup 4 karşılaştırıldığında atretik foliküller grup 4'te anlamlı olarak yüksek, diğer değerler benzer bulundu (Resim 3-6).

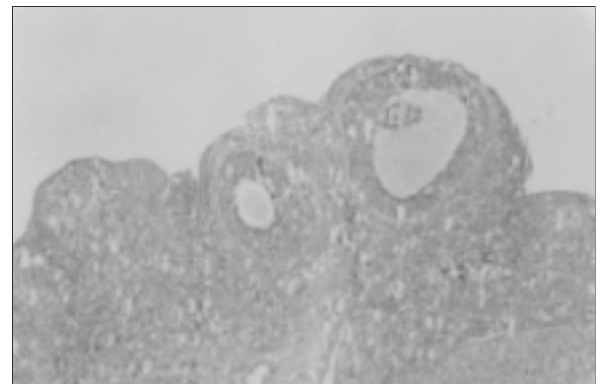
Over folikül rezervi elemanları ve CL, total korpus değeri grup 3 ve grup 4'te benzer değerlerde idi.

CL içi anjiyogenesisteki gerileme grup 2'de grup 1'e, grup 4'te grup 3'e göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte azalmıştı.

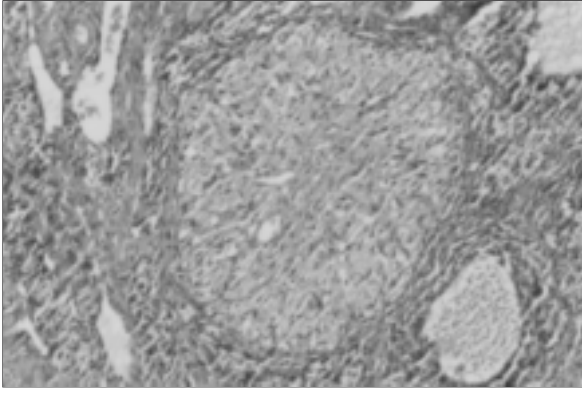
Grup 4'te CL içi anjiyogenesisteki gerilemedeki azalma segmental eksizyonun etkisi olarak sebat etti. Ayrıca grup 4'te 1 (%14) olguda makroskobik ve mikroskobik kist (Resim 6, 8, 9) tespit edildi ($p > 0.05$, ki kare testi). Bu denekte kendi grubu içinde over folikül rezervi elemanları en az, CL içi damarlanmada gerileme yok, atretik folikül fazla ve fibrozis ise 1 puan (var) olarak tespit edildi.

Segmental eksizyona bağlı olarak gelişen over kistleri, over histopatolojisi üzerine olumsuz etki yapabilir.

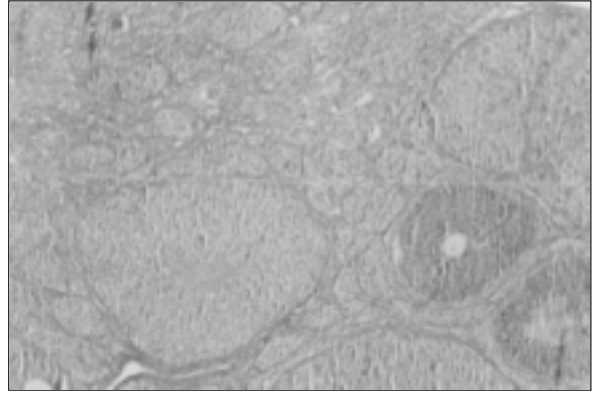
Grup 1, grup 2, grup 3 ve grup 4'e ait incelenen parametreler Tablo 1'de görülmektedir.



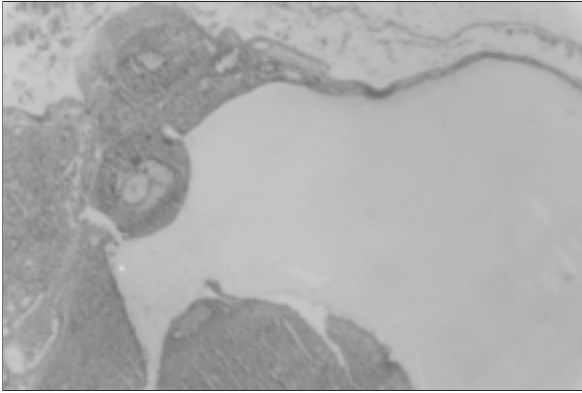
RESİM 3: Foliküler gelişimin tüm safhalarının izlendiği 9.5 aylık grup 3 ratlara ait preparat. Over folikül rezerv elemanlarında grup 1'e göre azalma mevcut. Korpus luteum içi anjiyogenesiz tamamen sonlanmış. Fibrozis yok (HE, X40).



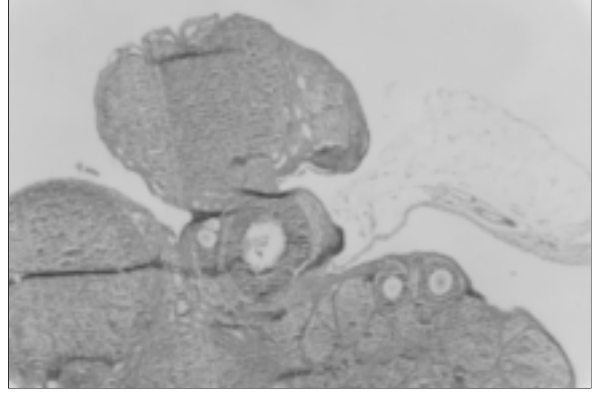
RESİM 4: Grup 4'teki ratlara ait preparat. Korpus luteum içi anjiyogenezisteki gerilemede anlamlı azalma izlenmektedir (HE, x40).



RESİM 5: Grup 4'teki ratlara ait preparat. Korpus luteum içi anjiyogenezisteki gerilemede azalma, ovaryan stromadaki fibroziste ve atretik folikül sayısında artış izlenmektedir (HE, x40).



RESİM 6: Grup 4'teki ratlara ait preparat. Mikroskobik kistin görünümü. Over folikül rezervi ve corpus luteum elemanları azalmış ve fibroziste artış izlenmektedir (HE, x40).



RESİM 7: Grup 2'deki ratlara ait preparat. Korpus luteum içi anjiyogenezisteki gerilemede anlamlı azalma mevcut. Atretik folikül ve fibroziste anlamlı artma olduğu görülmektedir (HE, x40).

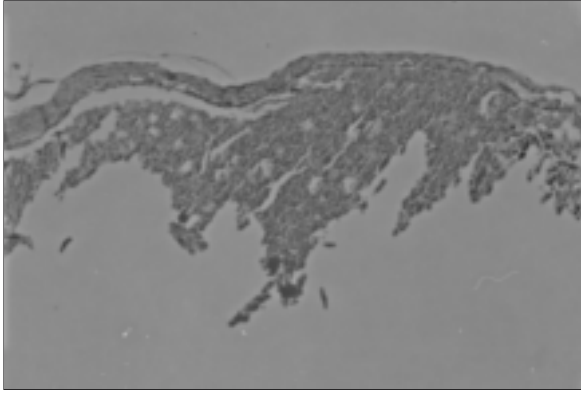
TARTIŞMA

Ratlarda laparotomi yoluyla yapılan sol segmental eksizyon işlemi, gerek erken gerekse geç dönemde atretik folikül sayısında anlamlı bir artışa neden olmaktadır. Ayrıca istatistiksel açıdan anlamlı olmakla birlikte, erken dönemde CL sayısında artma, CL içi anjiyogenezisteki gerilemede azalma yapmaktadır. Geç dönemde ise corpus sayısı tamamen düşülürken, anjiyogenezisteki gerilemenin azalması sebat etmektedir. Ayrıca makroskobik ve mikroskobik over kisti gelişimine neden olmaktadır. Bu kist gelişimi over folikül rezervinde azalma, fibroziste ve atretik folikül sayısında artmaya neden olmaktadır.

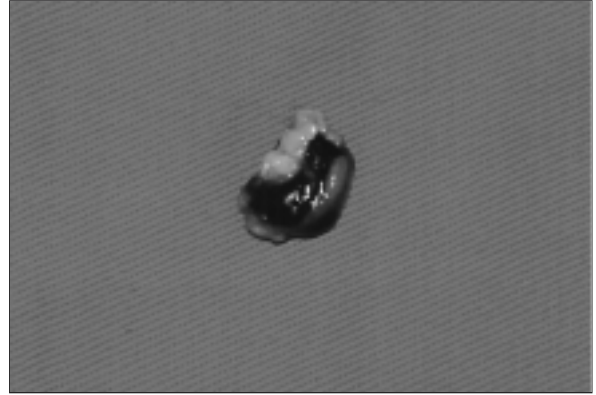
Rat yaşı arttıkça over fonksiyonları gerilemektedir.⁹ Deneyimizde yaşları aynı rat grubu karşılaştırılarak, yaşa bağlı ortaya çıkabilecek hataların önlenmesine çalışılmıştır.

Grup 2 ve grup 4'te CL içinde anjiyogenezise ait değişikliklerin gerilemesinde grup 1 ve grup 3'e göre ortalama değerlerde azalma tespit edilmiştir. Ancak istatistiksel açıdan bir anlam saptanamamıştır.

Normal rat overinde CL'de ortaya çıkan kapiller yapılar regrese olmaktadır. CL'deki bu yapıların ortaya çıkmasında en önemli rolü vasküler endotelial büyüme faktörü [vascular endothelial growth factor (VEGF)] oynamaktadır. VEGF, anjiyogenezisin temel mediatörüdür. Endotelial hücre proliferasyonu, migrasyonu, vasküler permeabilite ve damar lümen formasyonunu indüklemektedir. Foliküler büyüme, ve CL formasyonu ve fonksiyonunda çok önemli rol oynamaktadır. VEGF hormonal olarak (özellikle luteinizan hormon tarafından) regüle edilebilmektedir, fakat temel salgılanım regülatörü hipoksidir. VEGF'nin hem hormonal hem



RESİM 8: Grup 4'teki kistin mikroskobik görünümü. Over dokusunda atrofik ve kist içi hemoraji izlenmektedir.Over follikül rezervi elemanları kaybolmuştur (HE, x100).



RESİM 9: Grup 4'teki follikül kistin makroskobik görünümü izlenmektedir.

de hipoksik regülasyonunda “hipoksi induced factor-1 (HIF-1)” alfa rol oynamaktadır.¹⁴⁻¹⁹

Çalışmamızda segmental eksizyon işlemi esnasında, utero-ovaryan anastomozdaki kan akımı çok az bozulduğu için overde hafif düzeyde hipoksi ortaya çıkmış, bu da muhtemelen VEGF üzerinden CL'daki anjiyogenezisin artmasına ve regresyondaki gerilemenin azalmasına neden olmuştur.¹²

Anjiyogenezisteki gerileme grup 4'te grup 2'ye göre daha yüksektir. Bu da akut dönemdeki hipoksiye bağlı olabilir. Uzun dönemde gelişen anastomozlar sayesinde hipoksinin etkisi göreceli

olarak azalabilir. Çünkü OL'nin ovulasyon üzerine olan etkisi saatler ilerledikçe artarken, UL'nin etkisi saatler ilerledikçe azalmaktadır.¹² Bu da grup 4'teki anjiyogenezisteki gerilemenin azalmasını açıklayabilir.

Anderson ve ark.²⁰ uterusu yapılan luteolitik faktörler (bunlar luteal hücrelerdeki mitokondri ve lizozomları etkileyerek CL'nin regresyonunu sağlarlar) olduğunu ve kan akımının bozulması nedeni ile bu maddelerin overe taşınmadığı için CL'nin regresyonunda gecikme olduğunu tespit etmişlerdir. Gruplar arasında istatistiksel fark olmamakla

TABLO 1: Tüm gruplara ait incelenen parametreler.*

Parametre	Grup 1	Grup 2	p	Grup 3	Grup 4	p
Primordial follikül (adet)	9.5 ± 2.5	8.5 ± 3.7	Ns	8.5 ± 2.7	8.0 ± 2.0	Ns
Primer follikül (adet)	18 ± 7.5	22 ± 12.5	Ns	8.5 ± 3.0	10 ± 4.0	Ns
Sekonder follikül (adet)	5.0 ± 2.2	4.0 ± 1.5	Ns	1.4 ± 0.5	2.8 ± 1.7	Ns
Tersiyer follikül (adet)	2.0 ± 1.5	2.0 ± 2.0	Ns	3.0 ± 0.7	2.5 ± 1.5	Ns
Over follikül rezervi (adet)	40 ± 8.5	37 ± 17	Ns	24 ± 5.8	24 ± 5.6	Ns
Corpus luteum (adet)	5.5 ± 1.2	7.0 ± 1.5	Ns	6.2 ± 1.5	6.7 ± 1.8	Ns
Corpus albicans (adet)	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	Ns	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	Ns
Toplam corpus (adet)	5.5 ± 1.7	7.0 ± 2.5	Ns	6.0 ± 1.5	7.0 ± 2.0	Ns
Atretik follikül (adet)	0.2 ± 0.4	2.0 ± 0.7	**	0.0 ± 0.0	2.0 ± 1.0	**
CLA (puan)	2.0 ± 0.0	1.5 ± 0.7	Ns	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.4	Ns
Stromal fibrozis (puan)	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	Ns	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	Ns
Kistik follikül (makroskobik)	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	Ns	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	Ns

*Değerler ortalama ± SD ve n, (%) olarak gösterilmiştir.

** = p < 0.05, Mann Whitney U-test.

Ns = p > 0.05, Mann Whitney U-test

CLA = Corpus luteum içi anjiyogeneziste gerileme.

birlikte grup 2'deki CL'nin ortalama değerleri grup 1'e göre daha fazladır. Grup 3 ve grup 4'ün ortalama değerleri aynıdır. Bulgularımız uyumludur.

Akar ve ark. ratlarda salpenjektomi yapılan grupta, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, anlamlı derecede tersiyer follikül sayısında azalma olduğunu göstermişlerdir.²¹

Holt ve ark. tubal sterilizasyonun, özellikle postpartum dönemde yapılırsa, fonksiyonel over kisti oluşumunda artışa neden olduğunu tespit etmişlerdir.²²

Biz yaptığımız bir rat çalışmasında total salpenjektomi sonrası 6. ayda overde yüksek oranda (%80) makroskobik follikül kisti geliştiği gösterilmiştir.²³ Segmental seksizyon deneyimizin sonucunda ise %14 oranında kist geliştiği tespit edilmiştir.

Atretik folikül gelişiminin hem erken hem de geç dönemdeki segmental eksizyon olgularında arttığı bulunmuştur. Akut veya kronik hipoksi durumunda gerek overlerde gerekse diğer organlarda HIF-1 alfa aktive olmaktadır. HIF-1 alfa ve hipok-

sik ortam foliküllerde regresyon ve apoptozise, sonuçta atretik foliküllerde artışa ve foliküler rezervde azalmaya neden olmaktadır.^{15,24-26} HIF-1 alfa aynı zamanda VEGF salınımını da artırmaktadır. VEGF, anjiyogenezise, vasküler permeabilitede artışa, overlerde folikülogenezisin normal işleyişine, overde folikül kist gelişimine ve üç hafta içinde fibroblast büyüme faktörü-2 üzerinden fibrozis gelişmesine yardımcı olmaktadır.^{14,15,18,19,27,28} Grup 2 ve grup 4'teki olgularda fibrozis olması segmental eksizyonun yan etkilerine bağlı olabilir. Ovaryan kist gelişimi grup 4'te bir olguda tespit edilmiştir. Bulgularımız literatürle uyumludur.

Sonuç olarak; ratlarda unilateral tubal segmental eksizyon işlemi gerek erken gerekse geç dönemde, atretik folikül sayısında anlamlı artışa neden olmaktadır. Ayrıca erken dönemde corpus luteumdaki anjiyogenezisteki gerilemede hafif bir azalma yaparken, CL sayısında hafif bir artışa neden olmaktadır. Geç dönemde over kistine neden olabilmektedir. Ortaya çıkan bu kistler uzun dönemde over dokusu üzerine yapabileceği basınç etkisiyle atrofiye neden olabilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Fylstra DL. Tubal pregnancy: a review of current diagnosis and treatment. *Obstet Gynecol Surv* 1998;53(5):320-8.
2. Sherman D, Langer R, Herman A, Bukovsky I, Caspi E. Reproductive outcome after fimbrial evacuation of tubal pregnancy. *Fertil Steril* 1987;47(3):420-4.
3. Stangel JJ, Gomel V. Techniques in conservative surgery for tubal gestation. *Clin Obstet Gynecol* 1980;23(4):1221-8.
4. Alvarez F, Faundes A, Brache V, Tejada AS, Segal S. Prospective study of the pituitary-ovarian function after tubal sterilization by the Pomeroy or Uchida techniques. *Fertil Steril* 1989;51(4):604-8.
5. Gentile GP, Kaufman SC, Helbig DW. Is there any evidence for a post-tubal sterilization syndrome? *Fertil Steril* 1998;69(2): 179-86.
6. Cattanach J. Oestrogen deficiency after tubal ligation. *Lancet* 1985;1(8433):847-9.
7. McComb P, Delbeke L. Decreasing the number of ovulations in the rabbit with surgical division of the blood vessels between the fallopian tube and ovary. *J Reprod Med* 1984; 29(11):827-9.
8. Anzalone CR, Hong LS, Lu JK, LaPolt PS. Influences of age and ovarian follicular reserve on estrous cycle patterns, ovulation, and hormone secretion in the Long-Evans rat. *Biol Reprod* 2001;64(4):1056-62.
9. Sezik M, Ozkaya O, Demir F, Sezik HT, Kaya H. Total salpingectomy during abdominal hysterectomy: effects on ovarian reserve and ovarian stromal blood flow. *J Obstet Gynaecol Res* 2007;33(6):863-9.
10. Peppler RD. Hysterectomy in the rat: surgical disruption of the vascular channels reduces number of ova shed. *Am J Anat* 1976;145(1): 121-3.
11. Zackrisson U, Mikuni M, Peterson MC, Nilsson B, Janson PO, Brännström M. Evidence for the involvement of blood flow-related mechanisms in the ovulatory process of the rat. *Hum Reprod* 2000;15(2): 264-72.
12. Belaisch-Allart J, Mayenga JM, Castaing N, Allart JP. [Is tubal and uterine surgery deleterious to ovarian reserve?] [Article in French] *Gynecol Obstet Fertil* 2006;34(12): 1111-7.
13. Souza AZ, Fonseca AM, Izzo VM, Clauzet RM, Salvatore CA. Ovarian histology and function after total abdominal hysterectomy. *Obstet Gynecol* 1986;68(6):847-9.
14. Ribeiro LA, Bacci ML, Seren E, Tamanini C, Forni M. Characterization and differential expression of vascular endothelial growth factor isoforms and receptors in swine corpus luteum throughout estrous cycle. *Mol Reprod Dev* 2007;74(2):163-71.
15. Duncan WC, van den Driesche S, Fraser HM. Inhibition of vascular endothelial growth factor in the primate ovary up-regulates hypoxia-inducible factor-1alpha in the follicle and corpus luteum. *Endocrinology* 2008;149(7): 3313-20.
16. Trollmann R, Amann K, Schoof E, Beinder E, Wenzel D, Rascher W, et al. Hypoxia activates the human placental vascular endothelial growth factor system in vitro and in vivo: up-regulation of vascular endothelial growth factor in clinically relevant hypoxic ischemia in birth asphyxia. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188(2): 517-23.

17. Neeman M, Abramovitch R, Schiffenbauer YS, Tempel C. Regulation of angiogenesis by hypoxic stress: from solid tumours to the ovarian follicle. *Int J Exp Pathol* 1997;78(2):57-70.
18. Abulafia O, Sherer DM. Angiogenesis of the ovary. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182(1 Pt 1):240-6.
19. Geva E, Jaffe RB. Role of vascular endothelial growth factor in ovarian physiology and pathology. *Fertil Steril* 2000;74(3):429-38.
20. Anderson LL, Bland KP, Melampy RM. Comparative aspects of uterine-luteal relationships. *Recent Prog Horm Res* 1969;25:57-104.
21. Akar ME, Arı ES, Gündüz T, Erdogan G, Taskın O. 3Ovarian function in rats following bilateral salpingectomy and tubal ligation. *Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst* 2004;14(6):317-20.
22. Holt VL, Cushing-Haugen KL, Daling JR. Oral contraceptives, tubal sterilization, and functional ovarian cyst risk. *Obstet Gynecol* 2003;102(2):252-8.
23. Atilgan R, Celik A, Sapmaz E, Akpolat N, Ozcan Z, Pala S, et al. [The effect of unilateral salpingectomy on ovarian histopathological examination: an experimental study]. *Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst* 2005;15(5):235-42.
24. Ferrara N, Frantz G, LeCouter J, Dillard-Telm L, Pham T, Draksharapu A, et al. Differential expression of the angiogenic factor genes vascular endothelial growth factor (VEGF) and endocrine gland-derived VEGF in normal and polycystic human ovaries. *Am J Pathol* 2003;162(6):1881-93.
25. Hejmadi MV, Dajas-Bailador F, Barns SM, Jones B, Wonnacott S. Neuroprotection by nicotine against hypoxia-induced apoptosis in cortical cultures involves activation of multiple nicotinic acetylcholine receptor subtypes. *Mol Cell Neurosci* 2003;24(3):779-86.
26. Tanaka T, Hanafusa N, Ingelfinger JR, Ohse T, Fujita T, Nangaku M. Hypoxia induces apoptosis in SV40-immortalized rat proximal tubular cells through the mitochondrial pathways, devoid of HIF1-mediated upregulation of Bax. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;309(1):222-31.
27. Gordon JD, Mesiano S, Zaloudek CJ, Jaffe RB. Vascular endothelial growth factor localization in human ovary and fallopian tubes: possible role in reproductive function and ovarian cyst formation. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81(1):353-9.
28. Rosmorduc O, Wendum D, Corpechot C, Galy B, Sebbagh N, Raleigh J, et al. Hepatocellular hypoxia-induced vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis in experimental biliary cirrhosis. *Am J Pathol* 1999;155(4):1065-73.