

# Proksimal tubal oklüzyon işleminin rat over histopatolojisi üzerine etkilerinin incelenmesi: Deneysel çalışma

## Examination of the histopathological effects of proximal tubal occlusion procedure on rat ovaries: An experimental study

Dr. Aygen Çelik / Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın hastalıkları ve Doğum

Dr. Remzi Atılğan / Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın hastalıkları ve Doğum

Dr. Berna Haliloğlu / Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın hastalıkları ve Doğum

Dr. Erdin İlter / Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın hastalıkları ve Doğum

Dr. Tonguç Gündüz / Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın hastalıkları ve Doğum

Dr. Nusret Akpolat / Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilimdalı

Dr. Ekrem Sapmaz / Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Elazığ

### ÖZET

**Amaç:** Bipolar koter kullanılarak yapılan unilateral proksimal tubal oklüzyon işleminin birinci ve altıncı aylarda rat over histopatolojisi üzerine etkilerinin incelenmesi.

**Yöntem:** Erişkin 28 Wistar albino rat östrus fazında rastgele 4 gruba ayrıldı.

G1 (n=7): Batın açılıp kapatılan ve 1 ay sonra sol ooferektomi yapılan grup.

G2 (n=7): Sol proksimal tubal oklüzyon yapıp 1 ay sonra sol ooferektomi yapılan grup.

G3 (n=7): Batın açılıp kapatılan ve 6 ay sonra sol ooferektomi yapılan grup.

G4 (n=7): Sol proksimal tubal oklüzyon yapıp 6 ay sonra sol ooferektomi yapılan grup.

Sol over örnekleri formaldehitte tespit edildi. Hematoksin Eozin ile boyanan preparatlarda over folikül rezervi saptandı. Atretik foliküllerin sayısı, corpus luteum, corpus albicans tespit edildi. Corpus luteum içi anjiyogenesiz varlığındaki gerileme ve ovarian stromada fibrozis varlığı incelendi. Overdeki folikül kisti sayıldı. G1-G2 ile G3-G4 ile karşılaştırıldı. Ordinal veriler için Mann Whitney U testi, nominal veriler için  $\chi^2$  testleri kullanıldı.  $p<0.05$  anlamlı kabul edildi.

**Bulgular:** G1-G2 ile, G3-G4 ile karşılaştırıldığında tüm değerler benzer bulundu ( $p>0.05$ , Mann Whitney U test). Corpus luteum içi anjiyogenesizdeki gerileme G2 ve G4'de anlamlı olmamakla birlikte azalmıştı. Hiçbir grupta makroskopik veya mikroskopik kist gelişmedi.

**Sonuç:** Ratlarda bipolar koter kullanılarak yapılan unilateral proksimal tubal oklüzyon işlemi, erken ve geç dönemde over histopatolojisi üzerine herhangi bir zararlı etki yapmamıştır.

**Anahtar kelimeler:** ovarian histopatoloji, proksimal tubal oklüzyon, rat.

### ABSTRACT

**Objective:** Examination of the effects of unilateral proximal tubal occlusion procedure by bipolar electrical coagulation on rat's ovarian histopathology at the first and six months.

**Material and Methods:** Adult 28 Wistar albino rats at estrous phase randomly divided into 4 groups.

G1 (n=7): Left oophorectomy, one month after laparotomy.

G2 (n=7): Left oophorectomy, one month after proximal tubal occlusion.

G3 (n=7): Left oophorectomy, six months after laparotomy.

G4 (n=7): Left oophorectomy, six months after proximal tubal occlusion.

Left ovary specimens fixed with formaldehyde, dyed with Hematoxylen-Eosin and ovarian reserve examined. The number of atretic follicles, corpus luteum and corpus albicans determined. Angiogenesis in corpus luteum and presence of ovarian stromal fibrosis examined. G1and G2 were compared with G3 and G4. Statistical analysis of ordinal results were examined by Mann Whitney U test and nominal results by  $\chi^2$  test.  $P<0.05$  accepted as statistically significant.

**Results:** The results were similar between G1and G2 when compared with G3and G4 ( $p>0.05$ , Mann Whitney U test). Angiogenesis regression in corpus luteum were lower in both G2 and G4. No macroscopic or microscopic cyst formation obtained in all groups.

**Conclusion:** Proximal tubal occlusion procedure by bipolar coagulation has no harmful effect on rat ovarian histopathology at both early and late period.

**Key words:** ovarian histopathology, proximal tubal occlusion, rat.

**GİRİŞ:**

Hidrosalpinksli olgularda IVF-ET (in vitro fertilizasyon-embryo transferi) sonuçları implantasyon, ve gebelik oranları açısından olumsuz yönde etkilenir (1-3). En kötü sonuçlar özellikle büyük hidrosalpinks tespit edilen vakalarda ortaya çıkar (4). Hidrosalpinks tedavisinde salpenjektomi en sık kullanılan yöntemdir (5-7). Ayrıca neosalpingostomi, drenaj ve proksimal tubal oklüzyon da kullanılabilir (8-13). Salpingostomi vakalarında salpenjektomi veya tubal oklüzyona göre daha fazla ektopik gebelik saptanır (8). Drenaj işlemi, alınan sıvının üç gün içinde tekrar birikmesi sonucunda implantasyon ve gebelik oranları üzerine etkisiz olduğu tespit edilmiştir (14,15). Salpenjektomi IVF-ET başarısını anlamlı olarak artırır (4-7). Ancak salpenjektominin insanlarda ve ratlarda over kan akımını bozarak over fonksiyonları ve rezervi üzerine olumsuz etki yaptığı ve postoperatif yoğun pelvik adezyonlara neden olduğu düşünülmüştür (10,16,17).

Dar P. ve arkadaşları (18) ektopik gebelik nedeniyle laparoskopik salpenjektomi yapılan vakalarda over üzerine herhangi bir olumsuz etki saptamamışken, Chan ve ark. (19) ektopik gebelik vakalarında laparotomi ile yapılan salpenjektominin herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığını ancak laparoskopik salpenjektominin overi olumsuz etkilediğini savunmuştur.

Oysa daha kolay ve az invaziv bir işlem olan, başarısı salpenjektomi ile benzer bulunan proksimal tubal oklüzyonda, mezosalpinkse travma olasılığı azaldığı için over rezervi daha az etkilenebilir ve adezyon azalabilir (9,10)

**GEREÇ VE YÖNTEMLER:**

Bu deneysel çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları laboratuvarında yapıldı. 28 adet düzenli siklusa sahip, 190-220 g ağırlığında, 14 haftalık, erişkin dişi Wistar Albino cinsi rat 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 komitesinden izin alındı ve deney şartları "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" prensiplerine uygun olarak düzenlendi. Deneyden 18 saat önce oral beslenme kesildi, sadece su içmelerine izin verildi. Vajinal sitoloji takibinde estrus fazında (Resim:1) tespit edilen ratlara anestezi sağlamak amacıyla 400 mg/kg/IP dozunda kloral hidrat uygulandı. Ratlar sırt üstü operasyon masasına yatırıldı, batın orta hat insizyonla açıldı. Ratlar rastgele 4 gruba ayrıldı.

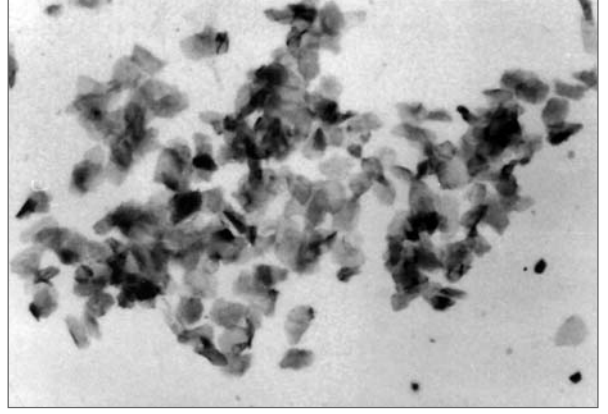
28 adet 3,5 aylık rat rastgele 4 gruba ayrıldı.

G1 (n=7): Batın açılıp kapatılan ve 1 ay sonra sol ooferektomi yapılan grup.

G2 (n=7): Bipolar koterle sol proksimal tubal oklüzyon yapıp 1 ay sonra sol ooferektomi yapılan grup.

G3 (n=7): Batın açılıp kapatılan ve 6 ay sonra sol ooferektomi yapılan grup.

G4 (n=7): Bipolar koterle sol proksimal tubal oklüzyon



**Resim 1:** Östrus fazındaki bir ratta vajinal smeeda sadece keratinize olmuş (kornufiye) süngerimsi hücreler görülüyor (HE, X 40).

yapılıp 6 ay sonra sol ooferektomi yapılan grup.

Batın tabakaları ve cilt 3/0 ipekle kapatıldı. Ratlar deney sonuna kadar ayrı ayrı yedışerli kafeslerde tutuldu. Sol over dokusu histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehitte fikse edildi, parafin bloklara gömüldü, 4 mikrometre kalınlığında kesit alındı. Kesitler hematoksilen eozin (HE) ile boyandı. Işık mikroskopisi altında incelenen preparatlarda primordial, primer, sekonder ve tersiyer foliküller sayıldı. Hepsi toplanarak over folikül rezervi hesaplandı (20). Atretik foliküller, corpus luteum (CL), corpus albicans sayıldı. Toplam corpus gelişimi hesaplandı. CL içi anjiogenezis varlığındaki gerileme incelendi. Ovaryan stromada fibrozis varlığı incelendi. CL içi anjiogenezisdeki gerileme ve fibrozis varlığı için ordinal skala (yok=0p, var=1p, Çok var=2p) oluşturuldu. Overdeki folikül kisti mikroskopik sayıldı. Overdeki folikül kisti için ayrıca nominal skala (makroskopik olarak yok=0p, var=1p) oluşturuldu. G1-G2 ile G3-G4 ile karşılaştırıldı (yaş karşılaştırmalı gruplar). Ordinal veriler için Mann Whitney U testi, nominal veriler için  $\chi^2$  testleri kullanıldı,  $p<0.05$  anlamlı kabul edildi.

**BULGULAR:**

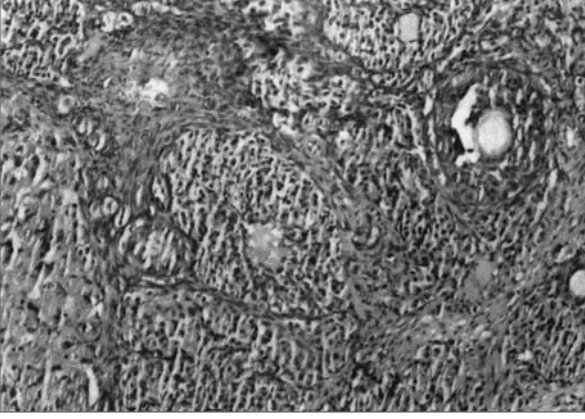
Tüm ratlarda deney başarı ile tamamlandı. G1ve G3'deki ratlarda normal over folikül gelişiminin tüm basamakları tespit edildi (Resim: 2 ve Resim: 3). Ancak G3'te (Resim: 3) yaşlanmaya bağlı olarak over folikül rezerv elemanlarında azalma tespit edildi. ( $P<0.05$ )

G1-G2 ile G3-G4 ile karşılaştırıldığında tüm değerler benzer bulundu.

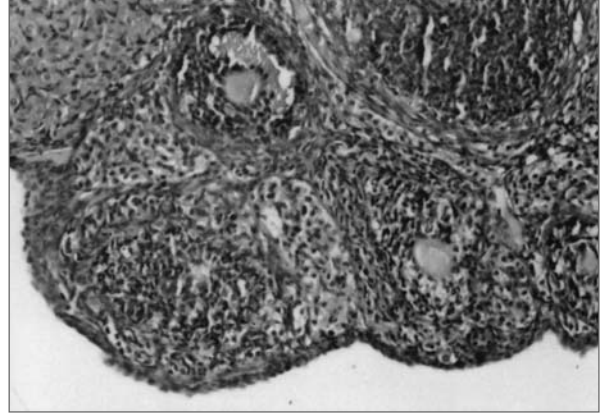
Over folikül rezervi elemanları G1'de G2'ye göre (Resim 2 ve Resim: 4 ile Resim: 5) G3'te G4'e göre yüksek olmasına rağmen (Resim: 3 ve Resim: 6 ile Resim: 7) istatistiksel fark tespit edilmedi ( $p>0.05$ , Mann Whitney U test).

G2 ve G4'te (Resim: 3 ve Resim 6 ve Resim: 7) atretik folikül ve fibrozis biraz fazla olmasına rağmen istatistiksel fark tespit edilmedi ( $p>0.05$ , Mann Whitney U test).

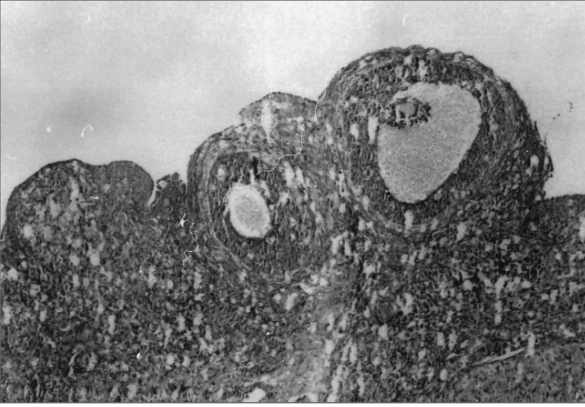
CL içi anjiogenezisdeki gerileme G2 ve G4'de azalmıştı.



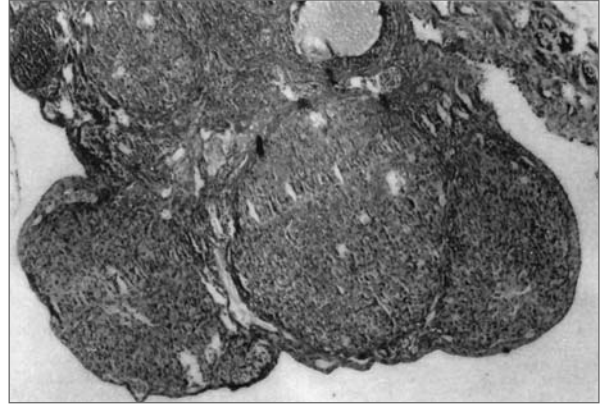
**Resim 2:** Foliküler gelişimin tüm safhalarının net olarak izlendiği (genç, 4.5 aylık) G1 ratlara ait preparat. Corpus luteum içi anjiogenezis tamamen sonlanmış. Fibrozis yok. (HE, X 40)



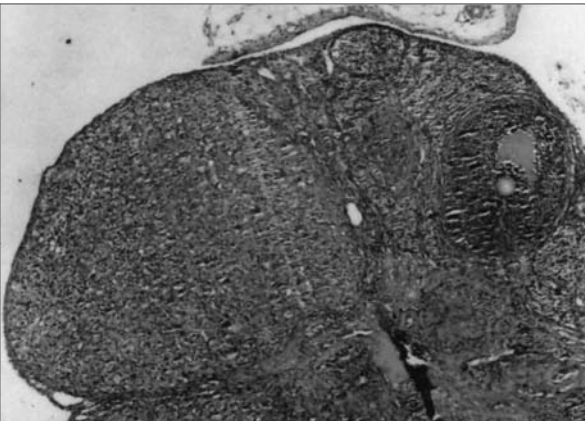
**Resim 5:** Proksimal tubal okluzyon 1. Ay. Korpus luteum içi anjiogenezisteki gerilemede anlamlı azalma mevcut. Atretik folikül ve fibroziste artış var. (HE, X100).



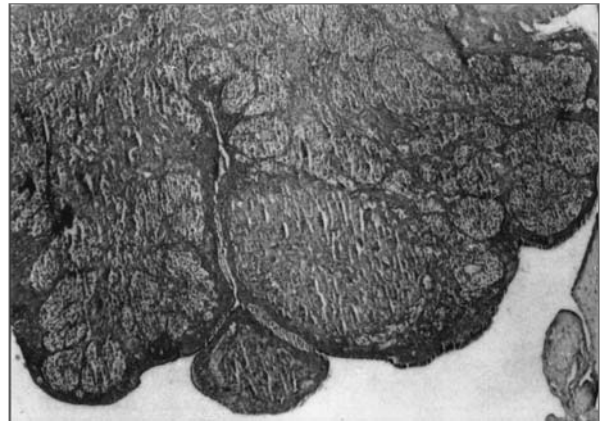
**Resim 3:** Foliküler gelişimin tüm safhalarının net olarak izlendiği (9.5 aylık) G3 ratlara ait preparat. Over Folikül rezerv elemanlarında G1'e göre azalma mevcut. Corpus luteum içi anjiogenezis tamamen sonlanmış. Fibrozis yok. (HE, X 40).



**Resim 6:** Proksimal tubal okluzyon 6. Ay. Korpus luteum içi anjiogenezisteki gerilemede anlamlı azalma ve konjesyon izleniyor. (HE,X40).



**Resim 4:** Proksimal tubal okluzyon 1. Ay. X 40. Atretik folikül mevcut. Atretik folikül ve diğer foliküllerde normal damarlanma izleniyor. (HE, X 40).



**Resim 7:** Proksimal tubal okluzyon 6. Ay. Corpus luteum içi anjiogenezisteki gerilemede azalma, ovaryan stromadaki fibroziste ve atretik folikül sayısında artış izleniyor. (HE,X40).

CL ve total corpus değeri G2'de ve G4'te hafif yüksek olmasına rağmen istatistiksel fark tespit edilmedi ( $p>0.05$ , Mann Whitney U test).

Grupların hiçbirinde makroskopik veya mikroskopik follikül kistine rastlanmadı Tüm gruplara ait incelenen parametreler Tablo I'de gösterildi.

### TARTIŞMA:

Ratlarda laparotomi yoluyla bipolar koterle yaptığımız sol proksimal tubal oklüzyon işlemi gerek 1. ve gerekse 6. aylarda over histopatolojisi üzerine herhangi bir anlamlı etki yapmamıştır.

Rat yaşı arttıkça over fonksiyonları gerilemektedir (21). Deneyimizde yaşları aynı rat grubu karşılaştırılarak, yaşa bağlı ortaya çıkabilecek hataların önlenmesine çalışıldı.

G4'de ve özellikle G2'de CL içinde anjiogenezise ait değişikliklerin gerilemesinde G3 ve G1'e göre ortalama değerlerde azalma tespit edildi. Ancak istatistiksel anlam tes-

pit edilemedi. Normal rat overinde CL'da ortaya çıkan kapiller yapılar regrese olur. CL'daki bu yapıların ortaya çıkmasında en önemli rolü vasküler endotelial growth faktör (VEGF) oynar. VEGF'ün en önemli uyarılarından birisi hipoksidir (22–25). Proksimal tubal oklüzyon işlemi esnasında utero-ovaryan anastomozdaki kan akımını çok az bozduğumuz için overde hipoksi ortaya çıkmakta (17), bu da muhtemelen VEGF üzerinden CL'daki anjiogenezisin artmasına, regresyonundaki gerilemenin azalmasına neden olmaktadır. Çünkü G2'de G4'e göre anjiogenezisdeki gerileme daha yüksektir. Bu da akut dönemdeki hipoksiye bağlı olabilir. Uzun dönemde gelişen anastomozlar sayesinde hipoksinin etkisi göreceli olarak azalabilir. Çünkü ovaryan arter ligasyonunun (OL) ovulasyon üzerine olan etkisi saatler ilerledikçe artarken, uterin arter ligasyonunun (UL) etkisi saatler ilerledikçe azalmaktadır (17). Bu da G4'deki anjiogenezisdeki gerilemenin G2'ye göre daha iyi olmasını açıklayabilir.

**Tablo I:** Tüm gruplara ait incelenen parametreler.

Parametre	G1	G2	P	G3	G4	P
Primordial follikül (adet)	11.14±4.05	10.42±4.07	N	8.00±3.36	7.57±2.99	N
Primer follikül (adet)	21.00±8.48	20.28±8.69	N	9.42±2.14	9.28±2.36	N
Sekonder follikül (adet)	7.00±1.82	6.71±2.05	N	1.28±0.48	1.14±0.37	N
Tersiyer follikül (adet)	2.28±1.49	2.14±1.34	N	3.00±0.57	3.00±0.57	N
Over follikül rezervi (adet)	41.42±8.65	39.57±8.58	N	21.71±2.81	21.00±3.00	N
Corpus luteum (adet)	5.00±1.91	5.28±1.60	N	6.57±1.27	7.14±1.46	N
Corpus albicans (adet)	0.14±0.37	0.14±0.37	N	0.00±0.00	0.00±0.00	N
Toplam	5.14 ±1.67	5.42±1.39N	N	6.57±1.27	7.14±1.46	N
Atretik follikül (adet)	0.14±0.37	0.28±0.48	N	0.14±0.37	0.42±0.53	N
C.L.Anjiogenezis (puan)	0.0±0.0	0.42±0.53	N	0.00±0.00	0.14±0.37	N
Stromal fibrozis (puan)	0.0±0.0	0.14±0.37	N	0.00±0.00	0.14±0.37	N
Kistik follikül (makroskopik)	0	0	N	0.0	0.0	N
Kistik follikül (mikroskopik)	0	0	N	0.0	0.0	N

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

Anderson ve ark ( 26 ) uterusu yapılan luteolitik faktörler (bunlar luteal hücrelerdeki mitokondri ve lizozomları etkileyerek CL'un regresyonunu sağlarlar) olduğunu ve kan akımının bozulması nedeniyle bu maddelerin overe taşınmadığı için CL'un regresyonunda gecikme olduğunu tespit etmişlerdir. Gruplar arasında istatistiksel fark olmamakla beraber G2 ve G4'teki CL'un ortalama değerlerinin G1 ve G2'ye göre daha fazla olması ile uyumludur.

Ovaryan fibrozis ve atretik folikül sayısı G1 ve G3'de az iken, G2 ve G4'de çok hafif artmıştır. İnsan over stroma yapısı yaşla birlikte değişiklik gösterir. Reprodüktif yaşta, korteks farklı evrelerdeki foliküllerle doludur ve medulla elastik fibrillerle gevşek konnektif doku, kan damarları, lenfatikler ve sinir liflerinden oluşur. Menapozdan sonra over hacmi gözle görülür derecede azalır. Stromada daha fazla fibröz konnektif doku ile birlikte korpus albicans, kan damarları, lenfatikler ve sinirler bulunur (27). Kan veya lenfatik dolaşım bozukluğunda kollajen neoformasyonu sitemüle olur (20). Uterin ve tubal lenfatikler broad ligament içerisinde birbirlerine çok yakın seyrederek (28). Bulgularımıza göre proksimal tubal oklüzyon işlemi esnasında kollajen oluşumunda artışa neden olan lenfatik dolaşımında hasar meydana gelebilir.

G1 ve G3'de istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, over folikül rezervi ortalama değerleri G2 ve G4'e göre daha fazla idi. Bunun nedeni over folikül rezervindeki azalmaya kompensatuar olarak fibrozisde artış olmasıdır (20).

Akut veya kronik hipoksi durumunda overlerde, diğer organlarda olduğu gibi hipoksi induced faktör-1 ( HIF-1 ) aktive olur (30-32). HIF-1 alfa ve hipoksik ortam, foliküllerde regresyon ve apoptozise, sonuçta atretik foliküllerde artışa ve foliküler rezervde azalmaya neden olur (30). G2 ve G4'teki atretik foliküllerdeki ve fibrozisdeki istatistiksel olarak anlamsız artışın nedeni kronik hipoksinin apoptotik etkisine bağlı olabilir (32). HIF-1 alfa aynı zamanda VEGF salınımını artırır. VEGF anjiyogenezi, vasküler geçirgenlikte artışı, overlerde follikülogenezisin normal işleyişini, overde folikül kisti gelişimini, uzun dönemde ise fibroblast growth faktör-2 üzerinden fibrozis gelişmesini uyarır (24,25,29,33). G2 ve G4'teki hafif derecede fibrozis artışının nedeni VEGF olabilir.

Çünkü VEGF, 3. haftadan itibaren fibrozisi uyaran fibroblast growth faktör-2'nin sentezini modüle eder. G4'de fibrozisin G2'ye göre biraz fazla olmasının nedeni G2'nin bir aylık zaman diliminde işleme tabi tutulması olabilir. Ayrıca VEGF'in direk kollajen sentezini uyarıcı etkisi de vardır (33, 34 ).

IVF tedavisinden önce unilateral veya bilateral hidrosalpinksli kadınlarda proksimal tubal oklüzyon yapılması gebelik oranlarını klinik olarak anlamlı derecede yükseltir. Salpenjektominin teknik olarak uygulanmasının zor olduğu vakalarda ise proksimal tubal oklüzyon tercih edilebilir (35).

Sonuç olarak, ratlarda laparotomi yoluyla bipolar koterle yaptığımız sol proksimal tubal oklüzyon işleminin birinci ve altıncı ayların sonunda over histopatolojisi üzerine an-

lamlı sayılabilecek herhangi bir olumsuz etki yapmamıştır. Bu bulgular ışığında hidrosalpinks tespit edilen vakalarda enfeksiyon, torsiyon ve oosit toplanmasını engellemesini önlemek için salpenjektomi yerine proksimal tubal oklüzyon tercih edilebilen bir yöntem olabilir.

#### KAYNAKLAR:

1. Akman MA, Garca JE, Damewood MD, Watts LD and Katz E. Hydrosalpinx affects the implantation of previously cryopreserved embryos. Hum Reprod 1996; 11: 1013-1014.
2. Camus E, Poncelet C, Goffinet F, Wainer B, Merlet F, Nisand I, et al. Pregnancy rates after IVF in cases of tubal infertility with and without hydrosalpinx: meta-analysis of published comparative studies. Hum Reprod. 1999;14:1243-1249.
3. Andersen AN, Yue Z, Meng FJ and Petersen K. Low implantation rate after in-vitro fertilization in patients with hydrosalpinges diagnosed by ultrasonography. Hum Reprod 1994;9: 1935-1938.
4. Strandell A, Lindhard A, Waldenstrom U, Thorburn J, Janson PO, Hamberger L. Hydrosalpinx and IVF outcome: a prospective randomized multicentre trial in Scandinavia on salpingectomy prior to IVF. Hum Reprod 1999;14:2762-2769.
5. Daftary GS, Kayisli U, Seli E, Bukulmez O, Arici A, Taylor HS. Salpingectomy increases peri-implantation endometrial HOXA10 expression in women with hydrosalpinx. Fertil Steril 2007;87:367-372.
6. Zarei A, Al- Ghafri W, Tulandi T. Tubal surgery. Clin Obstet Gynecol. 2009;52:344-350.
7. Shelton KE, Butler L, Toner JP, Oehninger S, Muasher SJ. Salpingectomy improves the pregnancy rate in in-vitro fertilization patients with hydrosalpinx. Hum Reprod 1996;11: 523-525.
8. Yao M, Tulandi T. Current status of surgical and non-surgical management of ectopic pregnancy. Fertil Steril 1997;67:421-433.
9. Murray DL, Sagoskin AW, Widra EA, Levy MJ. The adverse effect of hydrosalpinges on in vitro fertilization pregnancy rates and the benefit of surgical correction. Fertil Steril 1998;69: 41-45.
10. Surrey ES, Schoolcraft WB. Laparoscopic management of hydrosalpinges before in vitro fertilization-embryo transfer: salpingectomy versus proximal tubal occlusion. Fertil Steril 2001; 75: 612-617.
11. Sharara FJ, Scott RT, Marut EL, Queenan JT. In-vitro fertilization outcome in women with hydrosalpinx. Hum Reprod 1996;11: 526-530.
12. Van Voorhis BJ, Sparks AET, Syrop CH, Stovall DW. Ultrasound-guided aspiration of hydrosalpinges is associated with improved pregnancy and implantation rates after in-vitro fertilization cycles. Hum Reprod 1998;13:736-739.

13. Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI, Settar MA, Awad MM, Amin Y. Transvaginal ultrasonic guided aspiration of pelvic inflammatory cystic masses before ovulation induction for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1990;53: 311-314.
14. Sowter MC, Akande VA, Williams JAG, Hull MG. Is the outcome of in-vitro fertilization and embryo transfer treatment improved by spontaneous or surgical drainage of a hydrosalpinx?. *Hum Reprod* 1997;10: 2147-2150.
15. Bloechle M, Schreiner T, Lise K. Recurrence of hydrosalpinges after transvaginal aspiration of tubal fluid in an IVF cycle with development of a serometra. *Hum Reprod* 1997;12: 703-705.
16. San Filippo JS, Lincoln SR. Surgical treatment of diseases of the ovary. In: Keye WR, Chang RJ, Rebar RW, Soules MR, eds. *Infertility: evaluation and treatment*. Philadelphia: WB Saunders, 539-551.
17. Zackrisson U, Mikuni M, Peterson MC, Nilsson B, Janzon P and Brannstrom M. Evidence for the involvement of blood flow-related mechanisms in the ovulatory process of the rat. *Hum Reprod* 2000;15: 264-272.
18. Dar P, Sachs GS, Strassburger D, Bukovsky I, Arieli S. Ovarian function before and after salpingectomy in artificial reproductive technology patients. *Hum Reprod*. 2000;15:142-144.
19. Chan CC, Ng EH, Li CF, Ho PC. Impaired ovarian blood flow and reduced antral follicle count following laparoscopic salpingectomy for ectopic pregnancy. *Hum Reprod*. 2003;18: 2175-2180.
20. Souza AZ, Fonseca AM, Izzo VM, Clauzet RM, Salvatore CA. Ovarian histology and function after total abdominal hysterectomy. *Obstet Gynecol*. 1986;68: 847-849.
21. 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: 1056-1062.
22. 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: 517-523.
23. 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: 57-70. Review.
24. Abulafia O, Sherer DM. Angiogenesis of the ovary. *Am J Obstet Gynecol*. 2000;182: 240-246.
25. Geva E, Jaffe RB. Role of vascular endothelial growth factor in ovarian physiology and pathology. *Fertil Steril* 2000;74: 429-438.
26. Anderson LL, Bland KP, Melampy RM. Comparative aspects of uterine luteal relationship. *Recent Progr Horm Res* 1969; 25: 57.
27. Rolaki A, Drakakis P, Millingos S, Loutradis D, Makriginakis A. Novel trends in follicular development, atresia and corpus luteum regression: role for apoptosis. *Reprod Biomed Online* 2005; 11: 93-103.
28. Barber HRK: *Anatomy, embryology, and comparative anatomy. Ovarian Carcinoma: Etiology, Diagnosis and treatment*. Edited by HRK Barber. New York, Masson, 1978, 13-27.
29. 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: 353-359.
30. 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: 1881-1893.
31. 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: 779-786.
32. 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;12:222-231.
33. 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: 1065-1073.
34. Corpechot C, Barbu V, Wendum D, Kinnman N, Rey C, Poupon R, et al. Hypoxia induced VEGF and collagen I expressions are associated with angiogenesis and fibrogenesis in experimental cirrhosis. *Hepatology* 2002;35:1010-1021.
35. Kontoravdis A, Makrakis E, Pantos K, Botsis D, Deligeoroglou E, Creatsas G. Proximal tubal occlusion and salpingectomy result in similar improvement in in vitro fertilization outcome in patients with hydrosalpinx. *Fertil Steril* 2006;86:1642-1649.