



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

RATLARDA OVER TORSİYONU MODELİNDE SİLDENAFİL
KULLANIMININ ANTİ MÜLLERİAN HORMON SEVİYESİ
ÜZERİNE ETKİLERİ VAR MI?

UZMANLIK TEZİ
Dr. Didem ALKAŞ

Adana / 2016



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

**RATLARDA OVER TORSİYONU MODELİNDE SİLDENAFİL
KULLANIMININ ANTİ MÜLLERİAN HORMON SEVİYESİ
ÜZERİNE ETKİLERİ VAR MI?**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Didem ALKAŞ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. H.Ayşe PARLAKGÜMÜŞ

**Bu çalışma Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu tarafından
onaylanmış (Proje no: DA15/33) ve Başkent Üniversitesi Araştırma fonunca
desteklenmiştir.**

Adana / 2016

TEŞEKKÜR

Kadın Hastalıkları ve Doğum uzmanlık eğitimimi tamamlayıp, tezimi sunarken, eğitimimde çok önemli yeri olan ve tezimin hazırlanmasında bana yol gösteren, tez danışmanım Doç. Dr. H. Ayşe Parlakgümüş'e, uzmanlık eğitimim boyunca yetişmemde büyük emekleri olan Prof. Dr. Esra Bulgan Kılıçdağ'a, Prof. Dr. Hüsnü Çelik'e ve Prof. Dr. Ebru Tarım'a, cerrahi becerimin gelişmesine olan katkıları için Doç. Dr. Bülent Haydardedeoğlu'na, yalnızca mesleki deneyimlerini değil ağabeyliğini de esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Erhan Şimşek'e, mesleğe başladığım ilk günlerde umutsuzluğa düştüğüm anlarda hep yanımda olan Doç. Dr. Tayfun Çok'a, deneyimlerini paylaşmakta cömertliğini hiçbir zaman esirgemeyen tüm uzmanlarıma, tezimin deneysel aşamasının tamamlanmasında emeği geçen Başkent Üniversitesi Biyokimya Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. E. Suna Türkoğlu ve Öğr. Gör. Dr. H. Eda Özturan Özer'e, bu yolda tüm zorluklarda yanımda olan yol arkadaşım Dr. Selçuk Yetkinel'e, asistanlık eğitimini sıcak bir aile ortamında hep ve tam destek ile tamamlamamı sağlayan Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniğinin tüm çalışanlarına, eğitim hayatım boyunca her zaman sevgi ve şefkat ile arkamda olan annem, babam ve ablama, bugünlere gelmemde büyük emekleri olan anneannem ve rahmetli dedeme, hayatıma ışık tutan, umut veren minik yeğenim ARBEN'e sonsuz teşekkürlerimle.

Dr. Didem ALKAŞ

Adana / 2016

ÖZET

Ratlarda Over Torsiyonu Modelinde Sildenafil Kullanımının Anti Müllerian Hormon Seviyesi Üzerine Etkileri Var mı?

Adneksiyal torsiyon ovaryan pedinkülün eksenini etrafında dönmesi sonucu oluşur. Jinekolojik aciller arasında beşinci sıradadır. Adneksiyal torsiyonun klinik özellikleri akut abdominal ağrı, muayene sırasında ele gelen adneksiyal kitle, bulantı, kusma, hafif lökositoz ve ateştir. Ayırıcı tanıda ektopik gebelik, over kist rüptürü, pelvik enfeksiyon, akut apandisit, nefrolitiazis, miyom dejenerasyonu düşünülmelidir. Tanı koymak için anamnez, muayene, laboratuvar ve görüntüleme yöntemleri gereklidir. Sıklıkla adneksiyal kitleler torsiyona neden olur.

Tedavisinde altın standart laparoskopi ile detorsiyondur. Ancak detorsiyonun, overi iskemi reperfüzyon hasarından tamamen korumayacağı ve iskemi reperfüzyonun over rezervine zarar vereceği endişesi vardır. Bu görüşten yola çıkılarak torsiyon tedavisinde cerrahiye ek olarak antioksidan maddeler denenmiştir.

Çalışmamızda torsiyon detorsiyon modeli oluşturulan ratlarda, antioksidan bir madde olan sildenafilin over rezervine etkisi araştırılmıştır. Ovaryan rezerv en iyi indikatörlerden biri olan anti müllerian hormon ile değerlendirilmiştir.

Sildenafil uygulanan grupta anti müllerian hormon düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0.05$). Bu durum detorsiyon sonrası over dokusunun iyileşmesi ile rezerv kaybının olmaması ya da torsiyonda over kanlanması azalsa da rezervin korunacağı ile açıklanabilir.

Anahtar Kelimeler: Adneksiyal torsiyon, anti müllerian hormon, iskemi reperfüzyon, sildenafil.

ABSTRACT

Does Sildenafil have an Influence on Anti Mullerian Hormone Levels in Rat Ovarian Torsion Model?

Adnexal torsion occurs when the ovarian pedicle twist on itself. It is the fifth most common condition of the gynecologic emergencies. Clinical features of adnexal torsion are acute abdominal pain, palpable adnexial mass, nausea, vomiting, moderate leukocytosis and fever. Ectopic pregnancy, ovarian cyst rupture, pelvic infection, acute appendicitis, nephrolithiasis, degeneration of myomas should be remembered in differential diagnosis. For diagnosis, anamnesis, medical examination, laboratory tests and imaging are essential. Torsion is usually caused by adnexal masses.

Detorsion by laparoscopy is the gold standart in the treatmentof ovarian torsion. However there is a concern that ischemia reperfusion damage the ovarian reserve and ovaries will not be protected from ischemia-reperfusion injury fully.Taking these to account antioxidants has been tried in torsion model in addition to surgical therapy.

In this study, the effects of sildenafil, which is antioxidan agent, on ovarian reserve were investigated in torsion detorsioned rats' model. Ovarian reserve is evaluated by anti mullerian hormone which is one of the best indicators.

The anti mullerian hormone levels of sildenafil treatment group was not statistically significantly different ($p>0.05$). This situation can be explained with recovery of the ovarian tissue after detorsion or preservation of ovarian reserve despite the decreased blood supply.

Key Words: Adnexal torsion, anti mullerian hormone, ischemia reperfusion, sildenafil.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
KISALTMALAR	VII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Adneksiyal Torsiyon ve Tanı Yöntemleri	2
2.2. Tedavi Yaklaşımı	6
2.3. İskemi Reperfüzyon Süreci.....	9
2.4. AMH	11
2.5. İskemi Reperfüzyon Hasarından Korunma.....	13
3. GEREÇ ve YÖNTEM	15
3.1. Deneklerin Seçimi.....	15
3.2. Cerrahi Prosedür	15
3.3. Serum AMH Analizi	18
3.4. İstatistiksel Analiz.....	18
4. BULGULAR	19
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	20
6. KAYNAKLAR.....	24

KISALTMALAR

AFP	: Alfa Fetoprotein
AMH	: Anti Müllerian Hormon
AMP	: Adenozin Monofosfat
ATP	: Adenozin Trifosfat
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
C	: Kompleman
CA	: Karbonhidrat Antijen
cGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat
COX	: Siklooksijenaz
CRP	: C-Reaktif Protein
DHEA	: Dehidroepiandrosteron
E2	: Östradiol
ET	: Endotelin
FSH	: Follikül Stimulan Hormon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
GTP	: Guanozin Trifosfat
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
ICAM	: İntersellüler Adhezyon Molekülü
IL	: İnterlökin
KAT	: Katalaz
LH	: Lüteinizan Hormon
LT-B	: Lökotrien B
MCP	: Monosit Kemoatraktan Protein
MIP	: Makrofaj İnflamatuar Protein
MOP	: Miyeloperoksidaz
MR	: Manyetik Rezonans
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NO	: Nitrik Oksit
OH⁻	: Hidroksil Anyonu
OHSS	: Ovaryan Hiperstimulasyon Sendromu
PAF	: Trombosit Aktive Edici Faktör
PDE	: Fosfodiesteraz

PECAM	: Trombosit Endotel Adezyon Molekölü
PG	: Prostoglandin
PMNL	: Polimorf Nüveli Lökositler
SOD	: Süperoksit Dismütaz
TGF-β	: Transforming Growth Factor Beta
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
USG	: Ultrasonografi
βhcg	: Human Koryonik Gonadotropin



TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Gruplara Göre Ratların Ağırlıkları ve AMH Değerleri.....	19
---	----



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Multikistik over.....	3
Şekil 2.	Kistik over.....	3
Şekil 3.	Kompleks kitle	4
Şekil 4.	Solid kitle	4
Şekil 5.	Çoklu küçük periferik kistler içeren torsiyone olmuş normal overin transvajinal USG görüntüsü.....	4
Şekil 6.	Sağ over medialinde girdap işareti.....	4
Şekil 7.	Torsiyone olmuş adneksin laparoskopik görünümü	7
Şekil 8.	Ratların cerrahi öncesi hazırlanışı.....	15
Şekil 9.	Cerrahi için hazırlanmış rat.....	16
Şekil 10.	Ratlara yapılan orta hat insizyon.....	16
Şekil 11.	Cerrahi sonrası ratların görünümü	17
Şekil 12.	Cerrahi sonrası 1. ayda ratın görünümü	18

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Torsiyon, adneksiyal elemanların kendi etrafında dönmesi olarak yorumlanır. Over ve tüplerin her ikisi aynı anda ya da ayrı ayrı torsiyona katılabilir. Genellikle fertil çağıdaki kadınlarda görülür. Ani başlayan karın ağrısı, bulantı, kusma ile seyreder. Torsiyon nedensiz olabileceği gibi uteroovaryan ligamentin normalden uzun ve mobil olması, torsiyon olan tarafta adneksiyal kitle bulunması nedenleri ile daha sıklıkla gerçekleşir. Adneksiyal torsiyon kitle nedeni ile gerçekleştiyse ani başlayan karın ağrısına adneksiyal dolgunluk da eşlik eder (1).

Adneksiyal torsiyon tanısı anamnez, fizik muayene ve görüntüleme yöntemleri ile konulur. Görüntüleme yöntemlerinden sıklıkla kullanılan ultrasonografidir (USG). USG’de büyümüş ve anormal yerleşimli bir over, over korteksine dizili çok sayıda follikül, azalmış kan akımı ile tanı konulabilir. Adnekslerin, over ve uterusun damarlarından beslenmesi nedeni ile kan akımı tamamen bozulmayabilir. USG ile tanı konulamayan durumlarda bilgisayarlı tomografi (BT) ya da manyetik rezonans (MR) inceleme ile tanıya gidilebilir (2).

Adneksiyal torsiyon tanısı konulan hastalarda altın standart tedavi laparoskopi ile detorsiyondur. Bu şekilde ovaryan rezerv kaybının önüne geçileceğine inanılır (3). Ancak detorsiyona rağmen overin yeniden kanlanması ile iskemi reperfüzyon hasarı oluşabileceği gündeme gelmiştir. Bu hasarın oluşmasıyla korkulan over rezerv kaybıdır (4). Güncel literatürde, over rezervini gösteren en iyi parametre preantral ve küçük antral folliküllerden salgılanan Anti Müllerian Hormondur (AMH). İlerleyen yaşla ve oksidan stresle seviyesi giderek azalır (5).

Reperfüzyon hasarına karşı antioksidan maddeler adneksiyal torsiyon tedavisinde kullanılmaya başlanmış ve farklı maddeler denenmiştir. Tüm bu çalışmalar iskemi reperfüzyon hasarının önüne geçmek için tasarlanmıştır.

Çalışmamızda da amaçlanan; vazoaaktif antioksidan bir madde olan sildenafilin, over torsiyon modelinde ratlarda iskemi reperfüzyon hasarına ve over rezervinin korunmasına karşı koruyucu etkisini araştırmaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Adneksiyal Torsiyon ve Tanı Yöntemleri

Adneksiyal torsiyon; ovaryan vasküler pedinkülün tam veya kısmi olarak dönüşü sonucu arteriyel ve/veya venöz kan akımının, lenfatik drenajın azalması olarak tanımlanır. 1748 yılında Morgagni ve 1850 yılında Rokitansky tarafından tanımlanmasına rağmen ilk vaka bildirimi 1890 yılında J. Bland Sutton tarafından yapılmıştır (6). Jinekolojik acillerin %2,7' sini oluşturur (7). Bir ile yirmi yaş aralığında sıklığı 4.9/100000' dir (7). Ani başlayan karın ağrısı, adneksiyal dolgunluk, bulantı, kusma, hafif ateş, taşikardi ve lökositoz ile seyreder. Semptomların hastalığa özgül olmaması nedeni ile tanı koymada gecikme sık olarak görülür. Semptomların başlangıcından hastanın hastaneye gelişine kadar geçen süre ortalama 24 saat, hastaneye kabulden cerrahiye kadar geçen süre ortalama 9,5 saattir. Torsiyon; adolesan ve üreme çağındaki kadınlarda görülür. Sol adneks mezosigmoide yapışık olduğundan torsiyon sıklıkla sağ adnekte görülür. İleum ve çekumun hipermobilitesi, venöz drenajın sağda vena cava inferiora direk, solda ise renal ven aracılığıyla olması da sağ adnekte torsiyonun daha sık olmasına neden olabilir. Sağ adneksiyel torsiyon sağ alt kadranda ağrısına yol açtığından bu şikâyeti olan hastalar akut apandisit şüphesi ile daha çok cerrahi müdahale geçirir. Dolayısıyla sağ adneksiyal torsiyonun tanısı daha sık konur (7,8).

Ovaryan kitlelerin torsiyon sıklığını arttırdığı gösterilmiştir. Torsiyone olmuş overlerde en sık görülen kitleler paraovaryan ve dermoid kistlerdir (1). Bilateral dermoid kist nedeni ile bildirilen bilateral torsiyon vakaları da mevcuttur (9). Endometrioma ve malign karakterde kitleler inflamasyon ve fibrotik değişiklikler ile adezyona neden olur ve bu nedenle de daha az sıklıkla torsiyona neden olurlar. Dört yüz yirmi dört vakalık bir derlemede torsiyonda malignite insidansı %1,8 olarak belirtilmiştir (10).

Ovulasyon indüksiyonu yapılmış olması, ovaryan hiperstimulasyon sendromu gelişmesi, adneksiyal torsiyon ve tubal ligasyon öyküsü, polikistik over, adneksiyal kitleler ve gebelik adneksiyal torsiyon riskini artırır (11).

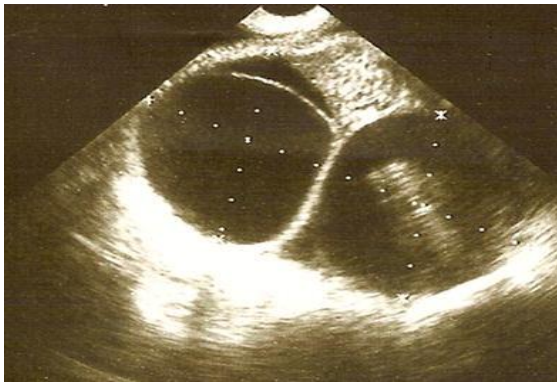
Ovaryan torsiyon üreme çağındaki kadınları daha çok etkileyen bir jinekolojik acildir; ancak menarş öncesi çocuklarda da görülebilir. Menarş öncesi ovaryan kistlerin neden olduğu torsiyon vakaları daha az görülür. Tamamen normal olan adneksler de torsiyone olabilir. Bu durum utero-ovaryan ligamenin uzunluğu ile açıklanabilir (12).

Ayırıcı tanıda apandisit, ovaryan kist rüptürü, pelvik inflamatuvar hastalık, nefrolitiazis, piyelonefrit, ektopik gebelik, kolit, myom dejenerasyonu düşünülmelidir. Adneksiyal torsiyon tanısı klinik, laboratuvar ve görüntüleme yöntemleri ile konur. Hafif lökositoz ve C- reaktif protein (CRP) artışı izlenebilir (11). Adneksiyal torsiyon şüphesi durumunda yapılması gereken fizik muayene bulguları ile laboratuvar ve görüntüleme yöntemlerini sentezleyerek tanıya varmaktır. Hastadan tam kan sayımı, tam idrar analizi, human koryonik gonadotropin (β -HCG), CRP, ovaryan tümör varlığı şüphesinde; alfa-fetoprotein (AFP), karbonhidrat antijen (CA)125, CA19-9 istenebilir. Tüm bu laboratuvar parametreleri klinisyeni kesin olarak over torsiyonu tanısına götürmez (10).

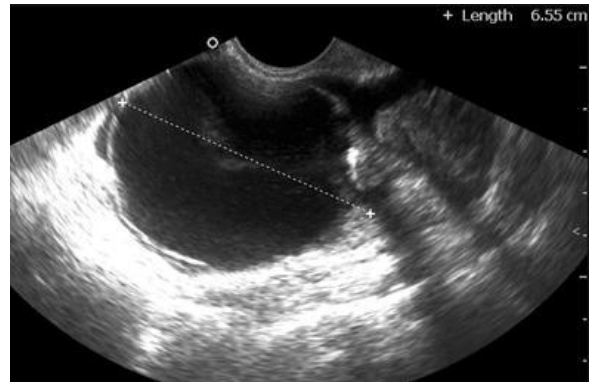
Bu noktadan hareketle yeni biyokimyasal belirteçler çalışılmaya başlanmıştır. 2006 yılında yayınlanan çalışmaya göre; ani başlangıçlı ağrı ile başvuran 50 kadın araştırılmış, ortalama interlökin 6 (IL6) düzeyi over torsiyonu tanısı alan grupta 30,2 pg/ml iken, over torsiyonu olmayan grupta 3,1 pg/ml' dir. Bu sonuç istatistiksel anlamlıdır (13).

Over torsiyonu tanısı koyarken kullanılan batin grafileri tanı koymada yardımcı olmasa da barsak obstrüksiyonlarını dışlamada kullanılabilir (10).

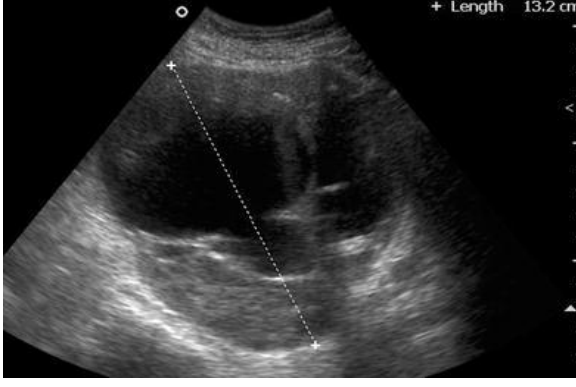
USG sırasında solid, kistik komponentli ya da kompleks kitleler, batında serbest sıvı, normalden büyük ve anormal pozisyonunda görülen over, over korteksine sıralanmış kistik foliküller izlenebilir (Şekil 1-4) (14-16).



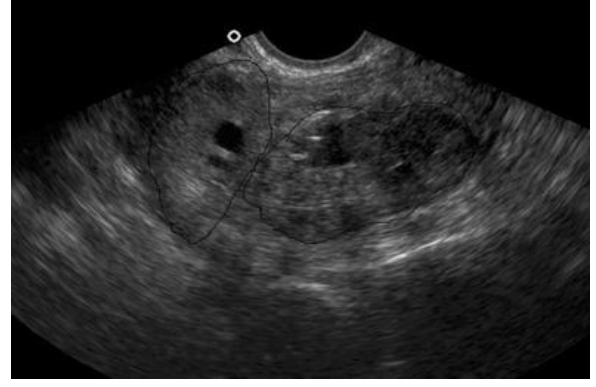
Şekil 1. Multikistik over (16)



Şekil 2. Kistik over (16)

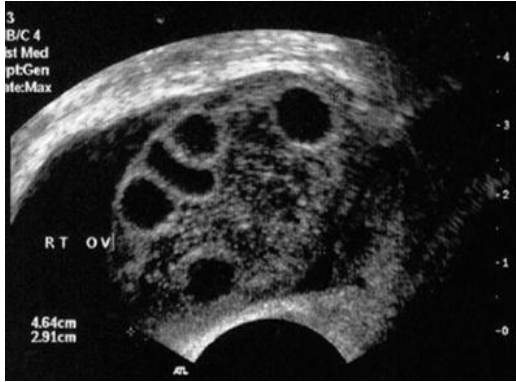


Şekil 3. Kompleks kitle (16)



Şekil 4. Solid kitle (16)

Torsiyone overde over korteksine sıralı folliküller ilk kez Graif tarafından tanımlanmıştır. Spesifite ve pozitif prediktif değeri sırasıyla %93 ve %87,5' tir (Şekil 5) (15,17). USG sırasında adneksiyal torsiyon tanısı koyduracak bir başka belirteç girdap işaretidir. Kendi etrafında dönmüş over pedinkülü merkezde hipoekoik, periferde hiperekoik görünüm oluşturur (Şekil 6) (18).



Şekil 5. Çoklu küçük periferik kistler içeren torsiyone olmuş normal overin transvajinal USG görüntüsü (17)



Şekil 6. Sağ over medialinde girdap işareti (18)

Kısa ve uzun dönem torsiyon sürelerinin karşılaştırıldığı bir doppler çalışmasında ovaryan parankimde izlenen küçük periferik folliküllerin, kısa dönem semptomları olan hastalarda daha sıklıkla görüldüğü istatistiksel anlamlı olarak ortaya konulmuştur. Bu durumu ovaryan yapının kısa süreli torsiyonda korunduğu, ancak uzun süren torsiyonda arteriyel ve venöz kan akımının bozulması ile oluşan iskemik sürecin, overi daha solid hale getirmesi ile açıklanabilir (17).

Torsiyone overde; venöz ve lenfatik damarlar önce etkilenir. Arterler kas tabasının daha kalın olması sebebiyle torsiyon ile damarın tıkanmasına dirençlidir. Torsiyone adnekslerde venöz ve lenfatik damarlardaki basıya bağlı daralma akımı bozarken arteriyel

kan akımı devam eder. Bu durum over dokusunda ödem ile sonuçlanır (19). Overin; farklı arterlerden (uterin arter dalları-ovaryan arter) kanlanması nedeni ile torsiyon sırasında kan akımı bozulmayabilir. Bu durumda USG’ de ovaryan arterlerde doppler kan akımı normal olabilir (2).Torsiyonda kan akımı azalmış, kaybolmuş ya da normaldir. Torsiyon tanısı cerrahi ile doğrulanmış hastalar ile yapılan bir çalışmada hastaların %60’ ında doppler bulgularının normal olduğu görülmüştür. Yine torsiyon şüphesi ile laparoskopi yapılan hastaların ancak %46’ sında doppler USG ile doğru tanı konulduğu ortaya konulmuştur (20,21). Doppler USG üzerine yapılan çalışmaların bazılarında kan akımı izlenmeyen overlerden yapılan patolojik çalışmalarda nekroz izlemiş, kan akımı izlenen ancak torsiyon bulunan overlerin konservatif cerrahisi sonrası ovaryan follikül gelişiminin normal olduğu, ovulasyonun normal olarak devam ettiği ortaya konulmuştur. Konservatif cerrahi uygulanan hastaların hiç birinde pulmoner emboli izlenmemiştir (22,23).

Normal over boyutları 2 yaşına kadar ortalama; 0.46 cm³, 12 yaşına kadar 1 cm³, puberteden sonra 3 cm³ olarak ölçülür. Ovaryan torsiyon sırasında bu boyutlarda artış izlenebilir (15). Ancak yapılan bazı çalışmalarda USG sırasında görülen overde stromal ödem bulguları ya da dopplerde kan akımı izlenmemesi iskeminin derecesi ile ilişkili bulunmamıştır (24).

Doppler USG kolay uygulanabilir, daha az maliyetli olmasına rağmen adneksiyal torsiyon durumunda overde kan akımının tam kaybolmaması nedeni ile her zaman yüzde yüz sonuç vermez. Graif ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada USG’ nin torsiyone olmuş normal overde, torsiyonu saptama oranı %46 – 74 olarak belirlenmiştir (25).

Torsiyon tanısı koyma sırasında USG’nin yetersiz kaldığı durumlarda ileri tetkikler kullanılabilir. BT ve MR ile tanıya gidilebilir. BT’ de en sıklıkla görülen bulgu over boyutlarındaki asimmetrik artıştır. Ancak bu bulgu ovaryan torsiyona özgül değildir. Over kistleri, overdeki malign kitleler ve tuba ovaryan absede de over boyutlarında artma görülebilir. Ovaryan torsiyonda BT’de de boyutları artmış overde çevresel yerleşmiş over kistleri görülür. Ayrıca pelvik serbest sıvı ve uterusun torsiyone olan tarafa rotasyonu da tanıya yardımcı kriterlerdir. MR tanıya yardımcı bir diğer görüntüleme yöntemidir. Daha çok gebelerde ve yumuşak dokuları ayırma gücü nedeni ile torsiyone olan dokunun ayırmasına varmak için kullanılabilir. Gebelikte yükselen progesteron bağların gevşemesine neden olur. Bu nedenle overin bağları kendi eksenine etrafında daha kolay dönme kabiliyeti kazanır. Gebeliğin ilk haftalarında eşlik eden corpus luteum da ovaryan genişleme ve

hareket kolaylığı sağlaması nedeni ile torsiyoona sıklıkla neden olur. MR; USG ile tanı konulamayan gebelerde güvenle kullanılır (2).

2.2. Tedavi Yaklaşımı

Ovaryan torsiyon tanısı konulan hastalarda geleneksel müdahale torsiyoona uğramış olan overe ooforektomi yapmaktır. Geçmişte, torsiyoona olan overin kanlanması ileri derecede bozulması nedeni ile nekroza gideceği, enfeksiyon kaynağı olabileceği bu nedenle sepsis gelişebileceği, nekroz gelişen overde malignite ihtimalinin artacağı düşüncesi ve overin kanlanması detorsiyone edilerek yeniden kazandırılması halinde tromboz gelişen damarlardan emboli oluşabileceği ihtimali ile overin cerrahi olarak çıkarılması uygulanıyordu. Ancak, günümüzde tanının daha hızlı konulması, karşı overe ooforektomi gereken vakalarda fertilitenin kaybedilebileceği endişeleri ile ooforektomi neredeyse terk edildi (26).

1999 yılında yayınlanan 981 vakalık bir seride 672 hastaya adnektomi, 309 hastaya detorsiyon yapılmıştır. Pulmoner emboli yalnızca iki hastada bildirilmiştir. Beklenenin aksine her iki hasta da detorsiyon grubunda değil adnektomi grubundadır ve pulmoner embolinin görülme sıklığı %0.02 olarak belirlenmiştir (27). Ameliyat öncesi ultrasonografi bulgularının operasyon çeşidine olan etkisini araştıran bir başka çalışmada, adneksiyal rezeksiyon riskinin 6 santimetreden büyük adneksiyal kitlesi olan hasta grubunda daha yüksek olduğu bulunmuştur (16). Nekroz gelişen (mavi-siyah görünüm kazanan) over dokusunun dahi detorsiyone edilerek kanlanmasının yeniden sağlanması ile over fonksiyonlarının geri dönüşümlü olabileceği gösterilmiştir (28).

Çocuklarda ovaryan torsiyonu araştıran kırk vakalık bir seride; on iki yaşında sadece sağ overi olan bir çocukta dört aylık subakut karın ağrısı ardından gelişen akut ağrıyı takiben ovaryan torsiyon tanısı konulmuş ve kırk sekizinci saatte detorsiyon yapılmış. Operasyon sonrası üç yıl süre ile USG takibine alınan çocukta normal pubertal gelişim izlenmiş. Bu durum ovaryan fonksiyonların korunması için detorsiyonu anlamlı kılmaktadır (29). Teorik olarak detorsiyone edilen overden emboli riski olabileceği düşünülse de, detorsiyon sonrası embolik hastalık gelişen vaka bildirilmemiştir (6). Bu sebeple over torsiyonuna yaklaşımlar değişmiştir. Torsiyondan şüphelendiğimiz hasta grubunda, laparotomi veya laparoskopi ile söz konusu overin detorsiyone edilmesi güncel yaklaşımdır. Cohen ve arkadaşlarının yaptığı retrospektif bir çalışmaya göre laparoskopi ve laparotomi arasında operasyon sonrası ovaryan fonksiyonlar, ikincil cerrahideki

makroskopik görünüm arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Ancak hastanede kalış süresi laparoskopide daha kısadır. Laparoskopi grubunda ameliyat sonrası febril komplikasyonlar daha az görülür. Hasta daha az analjezik ihtiyacı duyar (3). Laparoskopi aynı zamanda daha iyi bir cerrahi görüş sağlar, daha küçük insizyonla yapılır ve daha az kan kaybına neden olur. Bu durumda teknik imkânlar dâhilinde cerrahi müdahale açısından ilk seçenek laparoskopi olmalıdır (Şekil 7) (11,30).



Şekil 7. Torsiyone olmuş adneksin laparoskopik görünümü (11)

Hastanede kalış süresi ve cerrahi süresinin azlığı, iyi kozmetik sonuç ve azalan morbidite nedeni ile laparoskopi ilk seçenektir. Ancak; 2009 yılında tavşanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, deney hayvanları üzerinde pnömoperitonyum modeli oluşturulmuş ve 1 saat süren intraabdominal basınç artışının, deney hayvanlarının overlerinde kontrol grubuna göre, kanlanmayı azalttığı, oksidatif strese, folliküler hücre dejenerasyonuna, vasküler konjesyona, hemoraji ve inflamatuvar hücre infiltrasyonuna neden olduğu ortaya konulmuştur. Bu çalışma entübe edilmeyen, solunumları oksijen maskesi ile sağlanan hayvanlar üzerinde ve damardaki basınçlar değil dokudaki intraabdominal basınçlar ölçülerek yapılmıştır. Bu nedenle insanlarda laparoskopi sırasında gelişen pnömoperitonyumda overin durumunu yansıtmayabilir (31).

Benign ovaryan kistlerin neden olduğu torsiyon vakalarında, detorsiyon sonrası söz konusu overin gangrenöz ve ödemli olması nedeni ile kistektomi önerilmez (32). Kistektomi yapılması halinde, overin ödemli ve normalden büyük olması nedeni ile overden sağlam doku kaybı daha fazla olur (33). Bu durum fertilitiyi azaltacak bir faktördür. Ancak retorsiyon ihtimaline karşı ovaryan ödem azalınca gerekli müdahale yapılmalıdır. Ovaryan hiperstimulasyon sendromu (OHSS) olan hastalarda kist

aspirasyonu yapılabilir (33). Detorsiyon sonrası overin kanlanması izlenmesi ile ilgili bekleme süresi net olarak bilinmesi de 10 dakika reperfüzyon izlenmesi önerilir (8).

Ovaryan torsiyonda güncel yaklaşım söz konusu overin laparoskopi ile detorsiyone edilmesidir; ancak tekrarlayan over torsiyonunda önerilen yaklaşım ooforopektisidir. Ooforopeksi; overin pelvik yan duvara, uterus arka yüzüne ya da uterosakral ligamente sütüre edilmesi olarak tanımlanabilir. Uzun olarak izlenen ligamentum ovarii proprium plike edilerek kısaltılabilir. Sütürasyon sırasında absorbe edilemeyen sütür materyalleri kullanılmalıdır. Ooforopeksi tubanın kan akımını bozabileceği, tuba over ilişkisine zarar verebileceği düşüncesi ile fertilitiyi etkilemesi muhtemel olduğundan hala tartışmalıdır (10). Fucks ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ooforopeksinin absorbe edilebilir sütürle yapılması durumunda 1 hastada torsiyonun tekrarladığı görülmüş, utero ovaryan ligamentin plikasyonla kısaltılmasının normal anatomisinin korunmasına yardımcı olacağı belirtilmiştir (34). Plikasyon sırasında korkulan komplikasyon uterin arterin ovaryan dalının travmatize edilmesi ile oluşabilecek kanamadır.

Detorsiyon yapılan hastalarda ovaryan fonksiyon hastaların %91' inde korunur (33). Doğru tanı, hızlı cerrahi kararı, cerrahi yöntemin seçimi, overin detorsiyone edilmesi, kitlesel lezyonlarda kistektominin ikincil cerrahiye bırakılması ile ovaryan rezerv korunabilir. Kliniğimizden bildirilen bir vakada tekrarlayan sağ adneksiyal torsiyon öyküsü olan hastaya elektif şartlarda ooforopeksi ve uteroovaryan ligamentplikasyonu yapılmış ve tekrarlayan torsiyonun önüne geçilmiştir. Sözü geçen vakada hastaya geçirmiş olduğu altı torsiyonda da laparoskopi ile detorsiyon işlemi yapılmış, bunların ikisinde ooforopeksi uygulanmıştır (35).

Elektif cerrahi yapılmayan ooforopeksilerde rekürren torsiyon gelişmesi over operasyonun over dokusu ödemli ve frajilken yapılması, beraberinde plikasyon uygulanmaması nedenleri ile açıklanabilir. Rekürren torsiyon durumunda torsiyone over dokusunun mümkün ise laparoskopi ile detorsiyone edilmesi ve elektif şartlarda ooforopeksi ve uteroovaryan ligament plikasyonu yapılması tercih edilmelidir (34).

1990 – 2014 yılları arasındaki ovaryan torsiyon ile ilgili çalışmaları derleyen bir makaleye göre gebelikte retorsiyon ihtimali, gebe olmayan popülasyona göre daha yüksektir. Özellikle yardımcı üreme teknikleri ile oluşan gebeliklerde bu risk overin boyut artışı nedeni ile daha fazladır. Tedavisinde önerilen laparoskopi ile detorsiyon yapılmasıdır. Teknik olarak umblikustan açık olarak ya da palmer noktasından “Veres”

iğnesi ile girilerek intraabdominal görüş sağlanmalıdır. Gebeliğin ilerleyen haftalarında retorsiyon gelişme ihtimaline karşı ovaryan fiksasyon öneren yazarlar vardır (36).

Ovaryan torsiyon tedavisinde güncel yaklaşım laparaskopi ile detorsiyondur. Ancak bu yaklaşım; iskemiye uğramış over dokusunun, detorsiyone edilerek kanlanmasının sağlanması ile iskemi reperfüzyon hasarını beraberinde getirir. Ratlar üzerinde kademeli detorsiyon denenene çalışmaya göre; arteriyel ya da venöz kan akımının azalması veya kaybolması nedeni ile dokunun yetersiz perfüzyonu, oksijenden eksik kalması iskemi olarak tanımlanır. İskemi hücrede enerji depolarının boşalmasına neden olup, toksik metabolitler biriktirerek dokunun ölümüne yol açmaktadır. İskemik dokularda hücre yenilenmesi ve toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı ve oksijen gereklidir. Ancak hücreye oksijen girişi ile serbest oksijen radikallerinin hücrede birikmesi sonucu paradoksal olarak daha büyük bir hasar meydana gelir. Başta zar lipidleri, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere hücresel yapılar zarar görür, kademeli olarak yapılan detorsiyon overi iskemi reperfüzyon hasarından koruyabilir (4).

2.3. İskemi Reperfüzyon Süreci

Dokudaki kanlanmanın azalması ile hücresel düzeyde yüksek enerjili fosfat yapımı azalır. Hücre zarındaki $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPaz (adenozin trifosfat) pompası inhibe olur ve hücre içerisinde Na^+ , Ca^{2+} iyonları artmaya başlar. Hücrede Ca^{2+} iyon konsantrasyonunun artması hücre için sitotoksiktir. Bu durum hücrede lökosit adezyon moleküllerinin, proinflatuar sitokinlerin artmasına, antioksidan enzimlerin azalmasına neden olur. İskemide ATP üretimi durduğu halde tüketim devam eder ve ATP' den AMP (adenozin monofosfat) ve adenosin oluşur. Adenosin hücre dışına çıkarak inozin ve hipoksantine dönüşür. Normal şartlarda hipoksantin NAD^+ 'yi (nikotinamid adenin dinükleotid) elektron alıcı olarak kullanarak ksantin ve ürik asite metabolize olur. Ancak iskemi ya da hipoksi nedeni ile hipoksantin $\rightarrow$ ksantin + ürik asit dönüşümünde rol alan ksantin dehidrogenaz enzimi ksantin oksidaz olarak değişir. Sonuç olarak hipoksantin ürik aside dönüşümü ksantin oksidaz tarafından gerçekleştirilir ve bu reaksiyonda elektron alıcı olarak oksijen kullanılır (37).

İskemi reperfüzyon hasarı, bir dizi karmaşık biyokimyasal olaylar zinciridir. Bu zincirde serbest oksijen radikalleri, polimorf nüveli lökositler (PMNL), kompleman sistemi, ve endotel hücreleri yer alır. Serbest radikaller eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküllerdir. Bu nedenle stabil değildirler. Süperoksit radikali oksijen molekülüne

bir elektron ilavesi ile oluşur. Oksidan hasar oluşumuna karşı antioksidan bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile hidrojen peroksit (H_2O_2) indirgenir. H_2O_2 normal şartlarda katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) tarafından toksik olmayan metabolitlere dönüştürülür. Ancak iskemi reperfüzyon durumunda H_2O_2 , hidroksil anyonuna (OH^-) dönüşür. OH^- ; DNA, hücre içi proteinler, karbonhidrat ve lipitler ile reaksiyona girerek oksidatif hasara neden olur (37,38).

İskemi reperfüzyon hasarında bir diğer sorumlu PMNL'dir. Mikrovasküler oklüzyona, süperoksit radikallerinin ve sitotoksik enzimlerin salınmasına, vasküler geçirgenlik artışına ve sitokin salınmasına neden olurlar. PMNL'lerin aktivasyon ve migrasyonları adezyon molekülleri aracılığıyla olur. Adezyon moleküllerinin L, P ve E selektin olmak üzere üç üyesi vardır. P selektinler iskemi reperfüzyon hasarında lökositlerin endotel bağlantısını sağlar. Ardından lökosit beta-2 integrinler ve intersellüler adhezyon molekülü 1(ICAM-1) aracılığıyla PMNL'lerin adezyon ve agregasyonu gelişir. Bu zinciri trombosit endotel adezyon molekülü 1 (PECAM-1) lökosit transmigrasyonu takip eder. Lökositlerin bu yolculuğunu başlatan bir takım kemotaktik faktörler vardır. Bunlar; C3a (kompleman), interlekin-1 (IL-1), lökotrien B (LT-B), trombosit aktive edici faktör (PAF) ve prostoglandinlerdir (PG). Aktive olmuş lökositler nükleer transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna ve tümör nekrozis faktör (TNF- α) sentezine yol açar. Hücrede oluşan serbest radikaller, lökositlerin ürettiği maddeler, adezyon molekülleri inflamatuvar süreci başlatır. Tüm bu aktif metabolitler damar endoteline yapışarak mikrovasküler oklüzyona da neden olur (39).

İskemi reperfüzyon hasarında kompleman sisteminde C3a, C5a, iC3b ve C5b-9 aktive olur. Aktive olan bu komplemanlar lökositleri aktive eder, kemotaksisi uyarır, makrofaj inflamatuvar protein 2 (MIP), MIP-1a, MIP-1b, monosit kemoatraktan protein 1(MCP), TNF- α , IL-1 ve IL-6 salınmasını uyarak inflamatuvar yanıtı artırır (39).

Endotel mikrovasküler homeostazdan sorumlu nitrik oksit (NO) ve endotelin (ET) üretir. Normal şartlarda NO arteriyel dolaşımda ET' nin vasokonstriktör etkisini tersine çevirir. Venöz dolaşımda ise bunun tam tersi söz konusudur. İskemi reperfüzyon hasarında ise ET/NO oranı endotelin lehine bozulur. Arteriyel vazokonstriksiyon, venöz dilatasyon gerçekleşir (39).

İskemi reperfüzyon hasarında suçlanan bir diğer hücresel eleman siklooksijenazlardır (COX). COX2 bu hasarda inflamatuvar yanıttan sorumludur. COX2

aktivasyonu ile araziidonik asitlerden proinflatuar prostoglandinler salgılanır. Ratlarda over dokusunda yapılan bir çalışmada, kontrollü olarak iskemi süresi kısaltılmış, bu sayede ovaryan hasar azaltılmıştır. Yine aynı çalışmada kısalan iskemi süresi ile COX2 aktivitesi de azalmış olarak bulunmuştur (40). Ratlarda yapılan bir başka çalışmada iskemi süresi 4 ile 36 saat arasında belirlenen farklı gruplar üzerinde, SOD, KAT, GSH-Px bakılmış; 4-24 saat arasında anlamlı fark bulunmamıştır. 36. saatte gelişen nekrozla beraber anlamlı olarak bahsi geçen radikal temizleyicilerde azalma görölmüştür. Bu durum iskemiye erken müdahalenin önemini vurgulamaktadır (28).

İki bin sekiz yılında Somuncu ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka ovaryan torsiyon modelinde radikal temizleyicilerle ilgili çalışmada; rat overinde torsiyon detorsiyon yapılmış, bir gruba iskemi reperfüzyon hasarından korunmak için vazodilatör bir madde olan trapidil verilmiş. SOD, KAT, GSH-Px gibi radikal temizleyicilerinin oranında trapidil verilmeyen grupta istatistiksel olarak anlamlı düşüş izlenmiştir. İskemi ile indüklenen oksidatif hasarda vazodilatör maddelerin rat overlerinde etkinliği kanıtlanmıştır (41).

2.4. AMH

Overlerde ilk olarak izlenen küçük folliküller primordiyal folliküllerdir. Primordiyal folliküller birinci mayozun diploten aşamasında duraksamış, pregranüloza hücreleri ile çevrelenmiş oositler içerir. Primordiyal folliküllerin ilk kez ne zaman göröldüğü tartışmalıdır. Dişi fetüsler yirminci gebelik haftasında altı ile yedi milyon arasında oosite sahiptir. Bu sayı doğumda yaklaşık bir milyona geriler, ergenlik ile beraber üç yüz bin ile beş yüz bin arasındadır. Her ay atreziye giden folliküller ile beraber menopozda bu sayı yaklaşık bin civarına iner (42).

Mensturel siklusun tüm aşamalarında boyutları iki ile sekiz milimetre arasında ölçölen folliküllere antral follikül denir. Antral follikül aşamasına kadar oosit gelişimi gonadotropin bağımsızdır. Bu aşamadan sonra gelişim için follikül stimulan hormon (FSH) gereklidir (43).

Ovaryan rezervi göstermede daha önce antral follikül sayısı, FSH düzeyi bakılıyordu. Ancak günümüzde rezervi en iyi gösteren parametre anti müllerian hormon seviyesi olarak düşünölmektedir. AMH, transforming growth factor beta (TGFβ) ailesi üyesi bir glikopeptittir. Dişi fetüste otuz altıncı gebelik haftasında salgılanmaya başlar.

Preantral ve küçük antral folliküllerden salgılanır. AMH'dan yoksun fareler ile normal grubu karşılaştıran bir çalışmada, AMH salgılamayan grupta on altı ay civarında deney hayvanlarının yüzde elli altısında ovulasyon dururken, aynı aylarda AMH salgılayan grupta yüzde on sekizinde ovulasyon sonlanır. AMH, follikül rezervindeki erken tükenmenin önüne geçer (44).

Ovaryan rezervi, erken folliküler fazda bakılan FSH, inhibin B, östrodiol (E_2) ile belirlenebilir. Ovaryan yaşlanma ile beraber inhibin B ve E_2 seviyesi düşerken, FSH düzeyi artar. Ancak bu parametrelerin hipotalamo-hipofizer gonadal aks ile hareketleri belirlenir ve birbirinden bağımsız değildir. Bu yüzden ovaryan rezervi göstermede daha etkin olan antral follikül sayısı ya da AMH düzeyi kullanılabilir. Kevenaar ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı çalışmada, ovaryan yaşlanma ile AMH düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı azalma görülmüş. Ortalama yaşı dört ile sekiz ay arasında olan farelerde AMH düzeyi 28.34 ± 7.12 ng/ml, ortalama yaşı on ile on iki ay arasında olan farelerde 20.82 ± 5.35 , ortalama yaşı on dört ile on sekiz ay arasında olan farelerde 5.62 ± 3.78 olarak bulunmuştur (45).

AMH primordiyal follikül havuzunu gösteren en ideal parametredir. Seviyesi siklus, gebelik, hormon kullanımından bağımsızdır. Yaş ile olan ilişkisi FSH, luteinizan hormon (LH), inhibin B, E_2 ' den daha kuvvetlidir (5).

AMH salgılamayan ve AMH mutasyonu olan fareler ile kontrol grubu karşılaştıran çalışmalarda, AMH eksikliği olan gruplarda primordiyal follikül rezervinin daha hızlı tükendiği gösterilmiştir (46).

İnfertil kadınlar arasında yapılan bir çalışmada siklusun üçüncü gününde bakılan AMH düzeyinin, inhibin B, E_2 , FSH ve LH düzeyine göre antral follikül sayısı ile daha çok ilişkili olduğu ortaya konulmuştur (47).

Ovaryan torsiyonda over rezervinin değiştiğini gösteren bir rat çalışmasında, randomize olarak seçilen ratlarda bir gruba yalnızca sham operasyonu uygulanmış, ikinci gruba torsiyon yapılmış, üçüncü gruba ise üç saatlik torsiyon sonrası detorsiyon uygulanmış. Sonuçlar incelendiğinde detorsiyonun over dokusunu nekrozdan koruduğu ancak reperfüzyon sonrası ovaryan rezervin azalmaya devam ettiği gösterilmiştir. Torsiyon grubuna bakıldığında operasyon sonrası serum AMH, inhibin B, E_2 seviyesinin belirgin olarak azaldığı görülmüştür. Detorsiyon grubunda ise yalnızca AMH düzeyinin operasyon öncesi seviyeye göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş gösterdiği gösterilmiştir (48).

2.5. İskemi Reperfüzyon Hasarından Korunma

Torsiyon tedavisinde amaçlanan hızlı tanı koyma ve over rezervini korumak için uygun tedaviyi uygulamaktır. Sadece detorsiyon uygulamak overi uğrayacağı hasardan korumaz. İskemi reperfüzyon hasarına karşı alınması gereken bir takım ek önlemler gereklidir. Bu bağlamda pek çok çalışma yapılmış, farklı etken maddeler, antioksidanlar rezervi korumak için uygulanmıştır. Ratlarda torsiyon modelinde yapılan bir çalışmada iskemi reperfüzyon hasarında montelukast kullanılmış, doza bağlı olarak montelukastın iskemiden koruyucu etkisi olduğu antioksidan bir enzim olan SOD' ın seviyesini arttırdığı görülmüş (49).

Torsiyon modelinde iskemi reperfüzyon hasarına karşı büyüme hormonu denenmiş, iskemi öncesi verilen büyüme hormonunun SOD ve miyeloperoksidaz (MOP) gibi antioksidanların seviyesini arttırdığı, histolojik olarak incelendiğinde doza bağlı olarak apopitotik hücrelerin azaldığı görülmüştür (50).

Kliniğimizde 2014 yılında yapılan çalışmada torsiyon modelinde ratlarda oral atorvastatin kullanılmış ve atorvastatin verilerek torsiyon uygulanan grupta, ilaç verilmeyen gruba göre primordiyal follikül, AMH, vasküler endotelial büyüme faktörü ve vaskülarizasyonda belirgin artış izlenmiştir (51).

Düşük moleküler ağırlıklı heparin de torsiyon modelinde kullanılmıştır. Enoksaparin kullanılan bir çalışmada ovaryan boyutların kontrol grubunda daha yüksek olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı gösterilmiş. Yine aynı çalışmada enoksaparin kullanılan grupta vasküler konjesyon skoru ve hemorajinin yalnızca detorsiyon yapılan grup ve sham grubuna göre daha yüksek olduğu bulunmuş. Bu durum enoksaparin kullanımında artan kan akımı ile beraber gelişen doku hasarının şiddetinin artması ile açıklanmıştır. Üç grup arasında ovaryan follikül sayısında anlamlı fark bulunmazken, operasyon sonrası AMH seviyesi tüm gruplarda operasyon öncesine göre anlamlı düşük bulunmuştur (52). Benzer şekilde dehidroepiandrosteron (DHEA) kullanıldığı torsiyon çalışmasında, overde kanlanmayı arttırması nedeni ile uygulandığı grupta over ödemi artmış olarak bulunmuştur (53).

Torsiyon tedavisinde hormon ve ilaç seçenekleri dışında gıda ürünleri de kullanılmış. Bilinen en güçlü antioksidan, antitrombotik, antiinflamatuvar ve immunostimulan maddelerden olan üzüm çekirdeği ile yapılan çalışmada; üzüm

çekirdeğinde bulunan proantosiyanodin maddesi kullanılmış ve hemoraji, ödem ve vasküler dilatasyon gibi patolojik bulguların belirgin olarak azaldığı görülmüş (54).

Hint safranı olarak bilinen zerdeçala sarı rengini veren kurkumin antioksidan bir maddedir. Kurkumin kullanılan bir çalışmada; kurkumin öncesi total oksidan seviyesi, oksidatif stres indeksi ve histolojik skorlamanın, torsiyon ve detorsiyon grubunda sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu görülmüş. Kurkuminden sonra oksidan belirteçlerin seviyesi azalmıştır (55).

Vücudumuzun antioksidan ve nöroprotektif mekanizmalarda ihtiyaç duyduğu, oksidatif hasara karşı koruyucu olan GSH-Px' in yapısında bulunan bir element olan selenyum da torsiyon modelinde kullanılmıştır. Selenyum verilerek torsiyon detorsiyon uygulanan grupta oksidatif hasarın daha az olduğu gösterilmiştir (56).

Yapılan çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda, tanıda gecikme, detorsiyon sonrası iskemi reperfüzyon hasarı gelişmesi, ovaryan rezerv kaybı endişesi nedenleri ile torsiyon şüphesi olan hastalarda antioksidan maddelerin kullanımı gündeme gelmiştir. Bu bağlamda, güncel bir ilaç olan sildenafil çalışmamızda kullanılmıştır.

Sildenafil fosfodiesteraz tip 5 (PDE5) enzim inhibitörüdür. İlk kez 1989 yılında koroner arter hastalığı için geliştirilmiş ve 1998 yılında Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration – FDA) tarafından erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılmak üzere onay almıştır. PDE5 inhibitörü olan bu ilaç, vazoaaktif bir maddedir. Endotelde nitrik oksit salınması düz kas hücre membranında bulunan guanilat siklazı aktive eder. Guanilat siklaz ise guanozin trifosfattan (GTP), bir ikincil haberci olan siklik guanozin monofosfat (cGMP) oluşumunu artırır ve cGMP arter duvarında düz kas gevşemesine neden olur. Bu etkisi ile günümüze kadar başta erektil disfonksiyon olmak üzere, pulmoner arter hastalığı, koroner sendromlar, endotelial disfonksiyonlarda kullanılmıştır (57).

Çalışmamızda amaçlanan ratlarda over torsiyonu modelinde iskemi reperfüzyon hasarına karşı vazoaaktif bir madde olan sildenafilin ovaryan rezerve etkisini AMH düzeyi bakılarak ölçmektir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deneklerin Seçimi

Bu tez çalışması Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun bilimsel ve etik açılarından onayı alınarak (Proje No: DA 15/33) planlanmıştır. Çalışmada kullanılmak üzere 6 aylık Wistar Albino cinsi ağırlıkları 180 ile 250 gr arasında 27 dişi rat seçilmiştir. Ratlar uygulanacak cerrahi işlem öncesi, 12 saat aydınlık 12 saat karanlıktan faydalanacakları ortalama 20-24 °C sıcaklıkta, %50 – 60 nem düzeyinde 1 hafta süre ile tutulmuşlardır. Bu süre içerisinde ratlar istedikleri zaman ulaşabilecekleri (ad libitum) su ve pelet yem ile beslenmiştir.

3.2. Cerrahi Prosedür

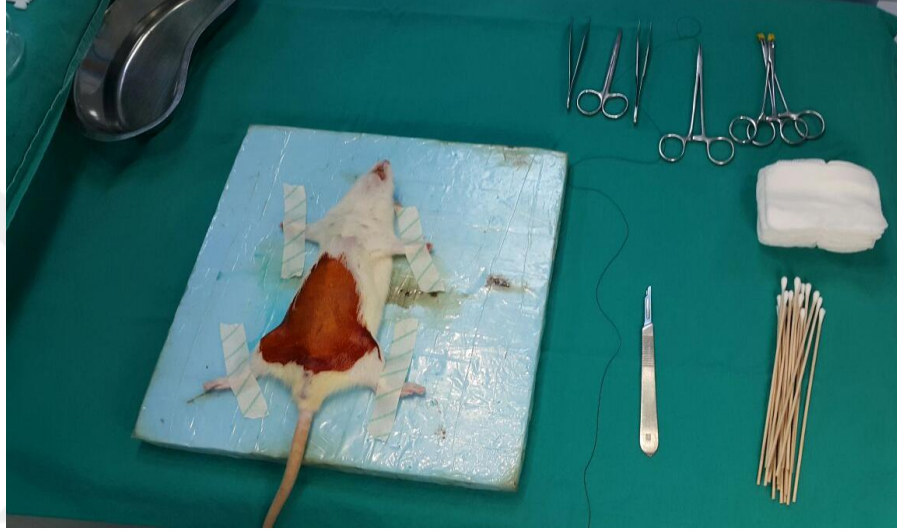
Cerrahi günü ratlar rastgele seçimle her biri dokuz rattan oluşan üç eşit gruba ayrılmıştır. Her bir rata cerrahi öncesi 60 mg/kg ketamin (Ketasol, Richter Pharma, Wels, Austria) ve 7 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun, Bayer, Leverkusen, Germany) ile intraperitoneal anestezi uygulanmıştır. Anestezi ardından ratlar dorsal pozisyonda cerrahi olarak hazırlanmış, cerrahi saha tıraşlanmış ve dezenfeksiyon yapılmıştır (Şekil 8,9).



Şekil 8. Ratların cerrahi öncesi hazırlanışı

İlk grup sham grubu olarak seçilmiş; batına 2,5 cm orta hat insizyon yapılarak uterin hornlar ve adnekslerin görülmesi ardından batın katları ve cilt 3/0 polisorb sütür materyali ile kapatılmıştır (Şekil 10,11).

İkinci grup torsiyon detorsiyon grubudur. Dorsal pozisyonda hazırlanan 9 dokuz rata 2,5 cm orta hat batın insizyonu uygulanmış, uterin horn ve adneksler bulunmuştur. Her bir adneksin saat yönünde 360^0 rotasyonu sağlanarak torsiyon oluşturulmuş, adneksler batın duvarına 4/0 ipek sütürle fiske edilmiş, batın katları ve cilt 3/0 polisorb sütür ile kapatılarak 3 saat beklenilmiştir. 3 saatlik iskemi süresince torsiyon – detorsiyon grubundan 1 rat kaybedilmiştir. 3 saat sonunda kalan 8 rata relaparotomi yapılarak batın açılmış, torsiyon oluşturulan adneksler sütürleri alınarak detorsiyone edilmiş ve batın tekrar 3/0 polisorb sütür materyal ile kapatılmıştır.



Şekil 9. Cerrahi için hazırlanmış rat



Şekil 10. Ratlara yapılan orta hat insizyon

Üçüncü grup ise torsiyon detorsiyon öncesinde sildenafil uygulanan gruptur. Seçilen dokuz rata uygulanacak cerrahiden 1 saat önce 0,7 mg/kg sildenafil (Viagra, Pfizer, New York, ABD) intraperitoneal olarak uygulanmış ardından ikinci gruba yapılan cerrahi işlem uygulanmıştır.



Şekil 11. Cerrahi sonrası ratların görünümü

Tüm gruplara operasyon sonrası üç gün süre ile 0,02 mg/kg fentanil (Fentanyl, Janssen Pharma, Belgium) analjezik olarak uygulanmıştır. Bir ay süre ile iyileşme süreci beklenmiştir. Bir ay sonunda tüm ratlara intraperitoneal 60 mg/kg ketamin (Ketasol, Richter Pharma, Wels, Austria) ve 7 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun, Bayer, Leverkusen, Germany) ile anestezi uygulanmasını takiben intrakardiyak olarak kanları alınmış, anestezi altında servikal dislokasyon ile sakrifikasyon uygulanmıştır (Şekil 12).

Alınan kan örnekleri NF 415 cihazı ile beş bin devirde on dakika süre ile santrifüj edilmiş, kanların serum kısımları toplanmıştır. Alınan serum örnekleri -80 °C' de muhafaza edilerek saklanmıştır. Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı tarafından, serum örneklerinden her bir grup için AMH çalışılmıştır.



Şekil 12. Cerrahi sonrası 1. ayda ratın görünümü

3.3. Serum AMH Analizi

Serum AMH derişimleri Cusabio (Wuhan, P.R.) marka ticari kit (Katalog no: CSB-E11162r) kullanılarak ELISA yöntemiyle belirlenmiştir. AMH kiti yarışmalı enzim immünoassay prensibine göre çalışmaktadır. Kuyucuklara uygun hacimde örnek/standart/kontrol eklenmesi sonrası, konjugat olan “Horseradish Peroksidaz (HRP)” ile işaretlenmiş AMH ve işaretlenmemiş AMH antikorları arasında yarışmalı bir tepkime gerçekleşmektedir. İnkübasyon sonrası bağlanmamış konjugat ticari kitede belirtilen yıkama çözeltisi ile kit prosedürüne uygun olarak yıkanarak uzaklaştırılmaktadır. Substrat eklenmesi sonrası oluşan renk şiddeti örnekteki AMH derişimi ile ters orantılıdır. Tepkimenin durdurulması sonrası oluşan sarı rengin absorbansı ELISA okuyucusunda (ELx800 Universal Microplate Reader; Bio-Tek Instruments, Inc) 450 nm’de ölçülmüş ve standart eğri kullanılarak örnek derişimleri hesaplanmıştır. Sonuçlar ng/ml olarak ifade edilmiştir. Yöntemin hassasiyeti < 0.1 ng/ml’dir.

3.4. İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS versiyon 17.0 istatistik paket programına (Statistical Package for the Social Sciences, version 17.0, SPSS Inc, Chicago, III, USA) ile analiz edilmiştir. Analizde students T Test kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Ratların cerrahi öncesi ağırlıkları değerlendirildiğinde sham grubunda ortalama ağırlık 224 gr, torsiyon - detorsiyon grubunda 229 gr, torsiyon – detorsiyon öncesinde sildenafil uygulanan grupta 222 gr olarak bulunmuştur. Üç grupta da ağırlıklar benzerdir (Tablo 1).

Cerrahiden 1 ay sonra alınan AMH örnekleri değerlendirilmiştir. Torsiyon – detorsiyon grubundan bir ratın cerrahi günü kaybedilmesi nedeni ile grup sekiz rat üzerinden değerlendirilmeye alınmıştır. Alınan sonuçlara göre; AMH düzeyi sham grubunda $25,7 \pm 14,6$ ng/ml, torsiyon – detorsiyon grubunda $24,3 \pm 11,4$ ng/ml, torsiyon – detorsiyon öncesinde sildenafil uygulanan grupta $24,6 \pm 11,5$ ng/ml bulunmuştur. Üç grup da AMH düzeyi açısından benzerdir (Tablo 1.).

Gruplar karşılaştırıldığında sham grubuna göre, torsiyon - detorsiyon grubunda AMH düzeyi açısından beklenildiğinin aksine istatistiksel olarak anlamlı azalma ve sildenafil uygulanıp torsiyon - detorsiyon yapılan grupta sadece torsiyon – detorsiyon yapılan gruba göre AMH düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı artış izlenmemiştir. Sildenafil uygulanıp torsiyon – detorsiyon yapılan grupta kontrol grubu ve torsiyon – detorsiyon grubuna göre AMH düzeyindeki değişim istatistiki olarak anlamsızdır.

Tablo 1. Gruplara Göre Ratların Ağırlıkları ve AMH Değerleri

	Sham	T/D	T/D +Sildenafil	p
Kilo (gram $\pm$ SD)	224.0 $\pm$ 17,6	229 $\pm$ 14,3	222 $\pm$ 22,6	NS
AMH(ng/ml $\pm$ SD)	25.7 $\pm$ 14,6	24.3 $\pm$ 11,4	24.6 $\pm$ 11,5	NS

SD: Standart sapma

NS: İstatistiksel olarak anlamlı değil

T/D: Torsiyon - Detorsiyon

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, over torsiyonu modeli yaratılarak oksidatif stres karşısında over rezervinin bozulacağı öngörölmüş ve PDE inhibitörü olan sildenafilin over rezervine olan etkisi araştırılmıştır. Literatüre göre; over rezervini ölçmede en objektif parametre olan AMH seçilmiştir. Bilgilerimize göre torsiyon modelinde over rezervini ölçmek için, AMH sınırlı sayıda çalışmada kullanılmıştır. Ratlarda over torsiyonu modelinde cerrahi öncesi verilen sildenafilin AMH ile ölçölen over rezervine etkisi saptanmamıştır.

Oksidatif hasara karşı pek çok antioksidan madde farklı dokularda denenmiştir. Sildenafil de diğer organ ve dokularda oksidatif hasarı önleyici etkileri bulunmuştur. İntestinal iskemide sildenafil uygulanan ratlarda karaciğer fonksiyon testleri sadece iskemi reperfüzyon yapılan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düşük izlenmiştir (58).

Yine ratlarda akciğer dokusu ile yapılan çalışmada, iskemi reperfüzyon sırasında sildenafilin oksidatif hasara karşı koruyucu olduğu, programlı hücre ölümünden sorumlu kaspaz, TNF – α , IL – 6, p53 düzeylerinin sildenafil verilen grupta istatistiksel olarak anlamlı daha düşük izlendiğı ortaya konulmuştur. Bu çalışma; sildenafilin akciğer transplantında reperfüzyon hasarına karşı kullanımını gündeme getirmiştir (59).

Sildenafil testiküler torsiyonda yine antioksidan olarak kullanılmış, sildenafil uygulanan grupta lipid peroksidasyon belirteci olan malondialdehitin (MDA) sadece torsiyon- detorsiyon yapılan gruba göre daha düşük olduğu, oksidatif stres enzimleri olan KAT ve SOD'ın ise sildenafil grubunda, torsiyon-detorsiyon grubuna göre daha yüksek olduğu izlenmiştir (60).

Bir başka PDE inhibitörü olan vardenafil ile yapılan over torsiyonu çalışmasında yapılan cerrahiler sonrası over dokusu eksize edilerek histopatolojik olarak ödem, vasküler konjesyon, folliküler hücre dejenerasyonu bakılmış ve dokunun total oksidan ve antioksidan statüleri ölçölmüştür. Vardenafil uygulanan grupta tüm bu histopatolojik parametrelerin istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) düşük olduğu ve follikül dejenerasyonunun ise doz bağımlı olduğu bulunmuştur. Vardenafil dozu artırılması ile folliküler hasarın azaltılması sağlanmıştır. Ancak vardenafil grubunda dokudan çalışılan total oksidan statüsündeki azalma ve antioksidan statüsündeki artış istatistiksel olarak anlamsızdır (61).

Sildenafil over torsiyon modelinde histopatolojik parametrelerin değerlendirilmesi amacıyla kullanılmıştır. İncebiyık ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ratlarda over torsiyon modeli oluşturularak oksidatif strese korunma amacıyla sildenafil denenmiştir. Sildenafil uygulanan grupların bir tanesine bizim çalışmamızda olduğu gibi 0.7 mg/kg sildenafil operasyon öncesi intraperitoneal olarak uygulanırken bir diğer gruba 1.4 mg/kg dozda uygulanmıştır. Benzer cerrahi prosedürleri takiben over dokuları ve kan örnekleri incelendiğinde histopatolojik hasarın en çok torsiyon–detorsiyon grubunda görüldüğü, sildenafilin bu hasarı dokuda belirgin olarak azalttığı, doz artışı ile fark izlenmediği ve kanda bakılan oksidatif stres seviyesini belirgin azalttığı ortaya konmuştur (62).

Ancak bu çalışmalar histopatolojik oksidan hasar düzeyindedir ve sildenafilin over rezervine etkisini doğrudan göstermemektedir. Bu nedenle çalışmamızda over rezervini en iyi gösteren parametre olarak kabul edilen AMH kullanılmıştır. Sırasıyla AMH değerleri sham grubu için $25,7 \pm 14,6$ ng/ml, torsiyon-detorsiyon grubu için $24,3 \pm 11,4$, torsiyondan önce sildenafil uygulanan ratlar için ise $24,6 \pm 11,5$ bulunmuştur. Diğer çalışmaların aksine gruplar arasında AMH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0.05$).

Kaya ve arkadaşlarının yapmış olduğu over dokusunda iskemi reperfüzyon hasarına karşı enoksaparin kullanılan bir diğer AMH çalışmasında, vasküler konjesyon ve hemoraji skorunun enoksaparin kullanılan grupta artış gösterdiği görülmüştür. Bu durum enoksaparinin antikoagülan etkisi ile açıklanabilir. Gruplar arasında folliküler hücre dejenerasyonu ve inflamatuvar skor açısından fark yoktur. Postoperatif AMH düzeyleri preoperatif AMH düzeylerine kıyasla tüm gruplarda azalmıştır. Ancak yalnızca detorsiyon uygulanan grupta bu düşüş daha belirgindir. Bu durumda ovaryan torsiyonun tedavisinde, detorsiyona enoksaparin kullanımı eklenebilir (52).

Yapılan bazı çalışmalar göstermiştir ki over dokusunda torsiyon oluşması ile gelişen iskemi ve yeniden kanlandırılması ile oluşan reperfüzyon hasarında over dokusunda ödem, vasküler konjesyon gelişmekte follikül rezervi etkilenmektedir. Bu rezervi ölçecek farklı ölçekler olsa da güncel yaklaşımda en iyi parametre AMH düzeyidir. Bu hasardan korunmak, AMH düzeyini korumak için pek çok ilaç denenmiş ancak henüz klinik kullanıma sunulmamıştır. Çalışmamız erektil disfonksiyon ve koroner hastalıklarda güvenle kullanılan sildenafilin torsiyon tedavisinde cerrahi öncesi kullanımı ile oksidatif hasarın önlenmesini amaçlamış ancak AMH düzeyindeki değişimleri istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p > 0.05$).

Literatürdeki mevcut çalışmalar torsiyon-detorsiyon ile overde histopatolojik ve biyokimyasal olarak hasar oluştuğunu göstermektedir. Ancak bizim çalışmamızda kanda AMH düzeyinde bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir. AMH düzeyi için kan örneği torsiyon-detorsiyon operasyonundan 1 ay sonra yapılmıştır. Çalışmada torsiyon-detorsiyon grubunda kontrol grubuna kıyasla AMH düzeyinde anlamlı düşüş izlenmemesi bir aylık sürenin uzun olması, bu süre zarfında over dokusunun iyileşerek rezervin kontrol grubuna benzer hale gelmesi ile açıklanabilir. Daha önce yapılan bazı çalışmalar torsiyon ile over rezervinin bozulmadığı %91 oranında korunduğu yönündedir (33).

Doppler USG üzerine yapılan bir çalışmada USG sırasında kan akımı izlenen ancak cerrahi ile over torsiyonu tanısı kesinleştirilmiş hastaların over biyopsilerinde normal folliküler gelişim izlenmiştir (20). Bu durumda overin kanlanması farklı arterlerden olması, kan akımının torsiyonda bozulmaması, gelişen ödem ve konjesyonun venöz ve lenfatik staza bağlı olarak olduğu ve bu durumun over canlılığını etkilemeyeceği düşünülebilir. Over rezervi yapmış olduğumuz çalışmada etkilenmemiş olabilir ya da histopatolojik olarak etkilenmiş olsa dahi bu hasar kan AMH düzeyini etkilemiyor olabilir.

Over torsiyonu üzerine yapılan çalışmalar, başlangıçta nekrotik izlenen overin damarlardaki staza bağlı emboliye neden olacağı, nekroz nedeni ile enfeksiyon kaynağı olabileceği, yine nekroza bağlı folliküler gelişimin olmayacağı yönündedir. Ancak değişen zaman, fertilitenin öneminin artması ile bu yaklaşımlar terk edilmiştir. Literatürde over torsiyonu nedeni ile pulmoner emboli görülme sıklığı %0.02 olarak belirtilmiş; ancak bu istatistiki veriyi sağlayan hastaların her ikisinin de adnektomi yapılan hastalar olduğu bilinmektedir (26). Bu durumda adnektomi hastayı emboliden korumamış, gelişen emboli torsiyondan bağımsızdır. Ayrıca bizim çalışmamız da dahil olmak üzere bazı çalışmalar over rezervinin torsiyon ile etkilenmediğini ortaya koymuştur. Bu durumda organ rezeksiyonu hasta için gereksiz bir tedavidir.

Çalışmamızda histopatolojik hasarın gösterilmemiş olması ve kan AMH düzeyine cerrahi öncesi bakılmamış olması çalışmanın kısıtlamalarındandır.

Sonuç olarak over torsiyonunda gelişen iskemi ile over rezervi etkilenmemektedir. İskemi-reperfüzyon hasarına karşı antioksidan bir madde olarak kullanılması amaçlanan sildenafilin çalışmamızda etkin olmadığı AMH ile değerlendirilen over rezervini değiştirmediği gösterilmiştir. Over rezervindeki değişiklikleri saptamak için; iskemi

reperfüzyon hasarının patolojik olarak da gösterildiği, daha çok denek kullanılan, demografik özellikleri belirlenmiş, homojen olduğu ispatlanmış gruplara ihtiyaç vardır. Bu bağlamda yapılan hayvan deneyleri ilerleyen zamanlarda insan çalışmalarına da ışık tutacaktır.



6. KAYNAKLAR

1. Hibbard, L. T. Adnexal torsion. American Journal of Obstetrics and Gynecology 152(4), 456-461. doi: 10.1016/s0002-9378(85)80157-5, 1985.
2. Lourenco, A. P., Swenson, D., Tubbs, R. J., Lazarus, E. Ovarian and tubal torsion: imaging findings on US, CT, and MRI. Emergency radiology 21(2), 179-187, 2014.
3. Cohen, S. B., Wattiez, A., Seidman, D. S., Goldenberg, M., Admon, D., Mashlach, S., Oelsner, G. Laparoscopy versus laparotomy for detorsion and sparing of twisted ischemic adnexa. JSLS: Journal of the Society of Laparoendoscopic Surgeons 7(4), 295, 2003.
4. Ozkisacik, S., Yazici, M., Gursoy, H., Culhaci, N. Does gradual detorsion protect the ovary against ischemia-reperfusion injury in rats?. Pediatr Surg Int. 30(4), 437-440. doi: 10.1007/s00383-014-3480-3, 2014.
5. Riggs, R. M., Duran, E. H., Baker, M. W., Kimble, T. D., Hobeika, E., Yin, L., Matos-Bodden, L., Leader, B., Stadtmauer, L. Assessment of ovarian reserve with anti-mullerian hormone: a comparison of the predictive value of anti-mullerian hormone, follicle-stimulating hormone, inhibin B, and age. Am J Obstet Gynecol 199(2), 202 e201-208. doi: 10.1016/j.ajog.2008.05.004, 2008.
6. Andre, I.B., Anne, K.W. Adnexal torsion: Can the adnexa be saved?. Am.J.Obstet Gynecol 171:1506 – 11, 1994.
7. Ashwal, E., Krissi, H., Hirsch, L., Less, S., Eitan, R., Peled, Y. Presentation, diagnosis and treatment of ovarian torsion in premenarchal girls. J Pediatr Adolesc Gynecol. 2015.
8. Rossi, B. V., Ference, E. H., Zurakowski, D., Scholz, S., Feins, N. R., Chow, J. S., Laufer, M. R. The clinical presentation and surgical management of adnexal torsion in the pediatric and adolescent population. J Pediatr Adolesc Gynecol 25(2), 109-113, 2012.

9. Abdusamad, K., Hamoudi, R., Maiti, S. Simultaneous bilateral torsion of the adnexae in an adult female without any history of ovarian stimulation. *BMJ case reports* bcr2012007909, 2013.
10. Azurah, A. G. N., Zainol, Z. W., Zainuddin, A. A., Lim, P. S., Sulaiman, A. S., Ng, B. K. Update on the management of ovarian torsion in children and adolescents. *World Journal of Pediatrics* 11(1), 35-40, 2015.
11. Sasaki, K. J., Miller, C. E. Adnexal torsion: review of the literature. *Journal of minimally invasive gynecology* 21(2), 196-202, 2014.
12. Herman, H. G., Shalev, A., Ginat, S., Kerner, R., Keidar, R., Bar, J., Sagiv, R. Clinical characteristics of adnexal torsion in premenarchal patients. *Arch Gynecol Obstet* 1-6, 2015.
13. Daponte, A., Pournaras, S., Hadjichristodoulou, C., Lialios, G., Kallitsaris, A., Maniatis, A.N., Messinis, I.E. Novel serum inflammatory markers in patients with adnexal mass who had surgery for ovarian torsion. *Fertil Steril* 85:1469 - 72, 2006.
14. Meyer, J. S., Harmon, C. M., Harty, M. P., Markowitz, R. I., Hubbard, A. M., Bellah, R. D. Ovarian torsion: clinical and imaging presentation in children. *J Pediatr Surg* 30(10), 1433-1436, 1995.
15. Graif, M., Itzhak, Y. Sonographic evaluation of ovarian torsion in childhood and adolescence. *American Journal of Roentgenology* 150(3), 647-649, 1988.
16. Dane, B., Dane, C., Kiray, M., Cetin, A. Sonographic findings in adnexal torsion: a report of 34 cases. *Arch Gynecol Obstet* 279:841 - 844, 2009.
17. Smorgick, N., Maymon, R., Mendelovic, S., Herman, A., Pansky, M. Torsion of normal adnexa in postmenarcheal women: can ultrasound indicate an ischemic process?. *Ultrasound Obstet Gynecol* 31:338 - 341, 2008.
18. Navve, D., HersHKovitz, R., Zetounie, E., Klein, Z., Tepper, R. Medial or lateral location of the whirlpool sign in adnexal torsion clinical importance. *Journal of ultrasound in medicine* 32(9), 1631-1634, 2013.

19. Chang, K. H., Hwang, K. J., Kwon, H. C., Yoo, J. H., Ryu, H. S., Lee, E. J., Oh, K. S. Conservative therapy of adnexal torsion employing color doppler sonography. *The Journal of the American Association of Gynecologic Laparoscopists*. 5(1):13 - 17, 1998.
20. Pena, J.E., Ufberg, D., Cooney, N., Denis, A.L. Usefulness of doppler sonography in the diagnosis of ovarian torsion. *Fertil Steril* 73:1047 - 50, 2000.
21. Bar-On, S., Mashiac, R., Stockheim, D., Soriano, D., Goldenberg, M., Schiff, E., Seidman, D.S. Emergency laparoscopy for suspected ovarian torsion: are we too hasty to operate?. *Fertil Steril* doi:10.1016/fertnstert.2008.12.022, 2009.
22. Lee, E. J., Kwon, H. C., Joo, H. J., Suh, J. H., Fleischer, A. C. Diagnosis of ovarian torsion with color doppler sonography: depiction of twisted vascular pedicle. *Journal of Ultrasound in Medicine* 17:83 - 89, 1998.
23. Wagaman, R., Williams, R. Conservative therapy for adnexal torsion. *J. Reprod Med*. 35:833, 1990.
24. Yaakov, O., Zohav, E., Kapustian, V., Gdalevich, M., Volodarsky, M., Anteby, E., Gerner, O. Are ultrasonographic findings suggestive of ovarian stromal edema associated with ischemic adnexal torsion ?. *Gynecologic and obstetric investigation*. 2015.
25. Graif, M., Shalev, J., Strauss, S., Engelberg, S., Mashiach, S., Itzhak, Y. Torsion of the ovary: sonographic features. *AJR American Journal of Roentgenology* 143: 1331 - 1334, 1984.
26. Chen, M., Chen, C. D., Yang, Y. S. Torsion of the previously normal uterine adnexa. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica* 80(1), 58-61, 2001.
27. McGovern, P. G., Noah, R., Koenigsberg, R., Little, A. B. Adnexal torsion and pulmonary embolism: case report and review of the literature. *Lippincott Williams & Wilkins* 54(9):601 - 608, 1999.
28. Taskin, O., Birincioglu, M., Aydin, A., Buhur, A., Burak, F., Yilmaz, I., Wheeler, J. M. The effects of twisted ischaemic adnexa managed by detorsion on ovarian viability

- and histology: an ischaemia-reperfusion rodent model. *Hum Reprod* 13(10), 2823-2827, 1998.
29. Rousseau, V., Massicot, R., Darwish, A. A., Sauvat, F., Emond, S., Thibaud, E., Nihoul-Fekete, C. Emergency management and conservative surgery of ovarian torsion in children: a report of 40 cases. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 21(4), 201-206. doi: 10.1016/j.jpbg.2007.11.003, 2008.
 30. Nair, S., Joy, S., Nayar, J. Five year retrospective case series of adnexal torsion. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR* 8(12), OC09, 2014.
 31. Guven, S., Muci, E., Unsal, M. A., Yulug, E., Alver, A., Duman, M. K., Mentese, A. The effects of carbon dioxide pneumoperitoneum on ovarian blood flow, oxidative stress markers, and morphology during laparoscopy: a rabbit model. *Fertil Steril* 93(4), 1327-1332, 2010.
 32. Pansky, M., Abargil, A., Dreazen, E., Golan, A., Bukovsky, I., ve Herman, A. Conservative management of adnexal torsion in premenarchal girls. *The Journal of the American Association of Gynecologic Laparoscopists* 7(1), 121-124, 2000.
 33. Oelsner, G., Cohen, S. B., Soriano, D., Admon, D., Mashiach, S., Carp, H. Minimal surgery for the twisted ischaemic adnexa can preserve ovarian function. *Hum Reprod* 18(12), 2599-2602, 2003.
 34. Fuchs, N., Smorgick, N., Tovbin, Y., Ami, I. B., Maymon, R., Halperin, R., Pansky, M. Oophoropexy to prevent adnexal torsion: how, when, and for whom?. *Journal of minimally invasive gynecology* 17(2), 205-208, 2010.
 35. Simsek, E., Kilicdag, E., Kalayci, H., Simsek, S. Y., Parlakgumus, A. Repeated ovariopexy failure in recurrent adnexal torsion: combined approach and review of the literature. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 170(2), 305-308, 2013.
 36. Hyttel, T. E., Bak, G. S., Larsen, S. B., Løkkegaard, E. C. Re-torsion of the ovaries. *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica* 94(3), 236-244, 2015.

37. Li, C., Jackson, R. M. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 282(2), C227-C241, 2002.
38. Slater, T. F. Free radical mechanisms in tissue injury cell function and disease. Springer 209-218, 1988.
39. Granger, D. N., Kvietys, P. R. Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept. *Redox biology* 6, 524-551, 2015.
40. Yapca, O. E., Kumbasar, S., Salman, S., Yarali, O., Sener, E., Mammadov, R., Tekin, Y. B., Aksoy, A., Albayrak, A., Cetin, N. Controlled reperfusion for different durations in the treatment of ischemia-reperfusion injury of the rat ovary: evaluation of biochemical features, molecular gene expression, and histopathology. *Canadian journal of physiology and pharmacology* 93(4), 269-274, 2015.
41. Somuncu, S., Cakmak, M., Dikmen, G., Akman, H., Kaya, M. Ischemia-reperfusion injury of rabbit ovary and protective effect of trapidil: an experimental study. *Pediatr Surg Int* 24(3), 315-318, 2008.
42. Adhikari, D., Liu, K. Molecular mechanisms underlying the activation of mammalian primordial follicles. *Endocr Rev* 30(5), 438-464. doi: 10.1210/er.2008-0048, 2009.
43. Te Velde, E., Scheffer, G., Dorland, M., Broekmans, F., Fauser, B. Developmental and endocrine aspects of normal ovarian aging. *Molecular and Cellular Endocrinology* 145(1), 67-73, 1998.
44. Gruijters, M. J. G., Visser, J. A., Durlinger, A. L. L., Themmen, A. P. N. Anti mullerian hormone and its role in ovarian function. *Molecular and Cellular Endocrinology* 211(1-2), 85-90. doi: 10.1016/j.mce.2003.09.024, 2003.
45. Kevenaar, M. E., Meerasahib, M. F., Kramer, P., van de Lang-Born, B. M., de Jong, F. H., Groome, N. P., Themmen, A. P., Visser, J. A. Serum anti mullerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice. *Endocrinology* 147(7), 3228-3234. doi: 10.1210/en.2005-1588, 2006.

46. Durlinger, A. L., Kramer, P., Karels, B., de Jong, F. H., Uilenbroek, J. T. J., Grootegeed, J. A., Themmen, A. P. Control of primordial follicle recruitment by anti mullerian hormone in the mouse ovary 1. *Endocrinology* 140(12), 5789-5796, 1999.
47. Fanchin, R., Schonäuer, L. M., Righini, C., Guibourdenche, J., Frydman, R., Taieb, J. Serum anti mullerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod* 18(2), 323-327, 2003.
48. Ozler, A., Turgut, A., Soydinc, H. E., Sak, M. E., Evsen, M. S., Alabalik, U., Basarali, M. K., Deveci, E. The biochemical and histologic effects of adnexal torsion and early surgical intervention to unwind detorsion on ovarian reserve: an experimental study. *Reprod Sci* 20(11), 1349-1355. doi: 10.1177/1933719113485300, 2013.
49. Oral, A., Odabasoglu, F., Halici, Z., Keles, O. N., Unal, B., Coskun, A. K., Kilic, C., Surer, İ., Salman, A. Protective effects of montelukast on ischemia-reperfusion injury in rat ovaries subjected to torsion and detorsion: biochemical and histopathologic evaluation. *Fertil Steril* 95(4), 1360-1366, 2011.
50. Yigiter, M., Halici, Z., Odabasoglu, F., Keles, O. N., Atalay, F., Unal, B., Salman, A. B. Growth hormone reduces tissue damage in rat ovaries subjected to torsion and detorsion: biochemical and histopathologic evaluation. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 157(1), 94-100, 2011.
51. Parlakgumus, H. A., Aka Bolat, F., Bulgan Kilicdag, E., Simsek, E., Parlakgumus, A. Atorvastatin for ovarian torsion: effects on follicle counts, AMH, and VEGF expression. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 175, 186-190. doi: 10.1016/j.ejogrb.2014.01.017, 2014.
52. Kaya, C., Turgut, H., Cengiz, H., Turan, A., Ekin, M., Yasar, L. Effect of detorsion alone and in combination with enoxaparin therapy on ovarian reserve and serum anti mullerian hormone levels in a rat ovarian torsion model. *Fertil Steril* 102(3), 878-884 e871. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.06.007, 2014.
53. Borekci, B., Gundogdu, C., Altunkaynak, B. Z., Calık, M., Altunkaynak, M. E., Unal, D., Unal, B. The protective effect of dehydroepiandrosterone on ovarian tissues after torsion-detorsion injury: a stereological and histopathological study. *The Eurasian Journal of Medicine* 41(1), 22, 2009.

54. Yıldırım, S., Topaloglu, N., Tekin, M., Kucuk, A., Erdem, H., Erbas, M., Yıldırım, A. Protective role of Proanthocyanidin in experimental ovarian torsion. *Medical Journal of The Islamic Republic of Iran (MJIRI)* 29, 185-180, 2015.
55. Sak, M. E., Soydinc, H. E., Sak, S., Evsen, M. S., Alabalik, U., Akdemir, F., Gul, T. The protective effect of curcumin on ischemia-reperfusion injury in rat ovary. *Int J Surg* 11(9), 967-970. doi: 10.1016/j.ijssu.2013.06.007, 2013.
56. Bozkurt, S., Arikan, D. C., Kurutas, E. B., Sayar, H., Okumus, M., Coskun, A., Bakan, V. Selenium has a protective effect on ischemia/reperfusion injury in a rat ovary model: biochemical and histopathologic evaluation. *J Pediatr Surg* 47(9), 1735-1741. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2012.03.053, 2012.
57. Kukreja, R. C., Salloum, F., Das, A., Ockaili, R., Yin, C., Bremer, Y. A., Fisher, P. W., Wittkamp, M., Hawkins, J., Chou, E., Kukreja, A. K., Wang, X., Marwaha, V. R., Xi, L. Pharmacological preconditioning with sildenafil: Basic mechanisms and clinical implications. *Vascul Pharmacol* 42(5-6), 219-232. doi: 10.1016/j.vph.2005.02.010, 2005.
58. Inan, M., Uz, Y. H., Kizilay, G., Topcu-Tarlacalisir, Y., Sapmaz-Metin, M., Akpolat, M., Aydogdu, N. Protective effect of sildenafil on liver injury induced by intestinal ischemia/reperfusion. *J Pediatr Surg* 48(8), 1707-1715. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2012.12.054, 2013.
59. Shih, P. K., Cheng, C. M., Li, H. P., Huang, M. F., Chiu, C. W., Chen, J. X., Chen, N. W., Chou, S. H. Pretreatment with sildenafil alleviates early lung ischemia-reperfusion injury in a rat model. *J Surg Res* 185(2), e77-83. doi: 10.1016/j.jss.2013.07.010, 2013.
60. Beheshtian, A., Salmasi, A.H., Payabvash, S., Kieumehr, S., Ghazinezami, B., Rahimpour, S., Tavangar, S. M., Dehpour, A.R. Protective effects of sildenafil administration on testicular torsion/detorsion damage in rats. *World J Urol* 26:197-202, 2008.
61. Yurtcu, E., Togrul, C., Ozyer, S., Uzunlar, O., Karataş, Y. H., Seckin, K. D., Caydere, M., Hucumenoglu, S., Cicek, N. Dose dependent protective effects of vardenafil on ischemia-reperfusion injury with biochemical and histopathologic evaluation in rat ovary. *Journal of Pediatric Surgery* 50 (2015) 1205-1209, 2015.

62. Incebiyık, A., Seker, A., Camuzoglu, H., Kocaaslan, S., Camuzoglu, A., Hilali, N. G., Vural, M., Taskın, A., Aksoy, N. Does sildenafil have protective effects against ovarian ischemia-reperfusion injury in rats?. Arch Gynecol Obstet (2015) 291:1283-1288, 2015.

