

# Tek taraflı deneysel over torsiyon-detorsiyonunun karşı overe geç dönem etkileri

Haluk EMİR, Selma YILMAZER<sup>1</sup>, Ebru YEŞİLDAĞ, Mustafa AKMAN, Sema BOLKENT<sup>1</sup>, Yunus SÖYLET

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi ve Tıbbi Biyoloji<sup>1</sup> Anabilim Dalları, İstanbul

## Özet

Tek taraflı over torsiyon-detorsiyonunun karşı over üzerindeki etkilerini araştırmak üzere planlanan deneysel çalışmada Wistar-Albino türü dişi sıçanlar kullanıldı. Her biri 8 sıçandan oluşan 4 ayrı grup oluşturuldu. Grup 1'de sham ameliyatı, grup 2'de 6 saat torsiyon-detorsiyon, grup 3'te 12 saat torsiyon-detorsiyon grup 4'te tek taraflı ooforektomi uygulandı. Grup 4'teki çıkarılan sağ overler kontrol grubunu oluşturdu. Sıçanlar 3 hafta sonra yeniden ameliyat edilip karşı overler çıkarıldıktan sonra öldürüldü. Çıkarılan karşı over dokuları ikiye bölünüp ışık ve elektron mikroskopları ile incelendi. Dokulardaki normal follikül, korpus luteum, dejenere ve atretik follikül miktarları karşılaştırıldı. Işık mikroskobu ile yapılan incelemelerde; kontrol grubunda normal follikül oranı % 71, sham grubunda % 57 olarak bulundu, bu oran grup 2'de % 6.25, grup 3'te % 33 ve grup 4'te ise % 27 idi. Elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde; grup 2'de daha ağır olmak üzere grup 2, 3 ve 4'te karşı over dokularında belirgin yapısal değişiklikler ve dejeneratif özellikler gösteren folliküller saptandı.

Bulgularımız tek taraflı over torsiyon-detorsiyonunun ardından 3. hafta sonunda karşı overde ağır dejeneratif değişikliklerin sürdüğünü göstermektedir. 12 saatlik torsiyon-detorsiyon, tek taraflı ooforektomiye benzer etki yapmakla birlikte, 6 saatlik torsiyon-detorsiyon sonrası karşı overde daha ağır dejeneratif değişiklikler gelişmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Over, torsiyon, iske-mi-reperfüzyon, sıçan, ooforektomi

## Giriş

Çocuklarda özellikle kistik lezyonlara bağlı torsiyon ve daha sıklıkla inguinal hernilerde strangülasyon gelişimi ile over dokusunun kanlanması etkilenmek-

Adres: Dr. Haluk Emir, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Fatih-İstanbul

## Summary

**The late effects of the unilateral ovarian torsion-detorsion onto the contralateral ovary: An experimental study**

The aim of the study is to investigate the effects of unilateral ovarian torsion-detorsion to the contralateral ovary. 4 groups were created, each consisting of 8 Wistar-Albino female rats. Sham operation was performed in Group 1. After the torsion of the unilateral ovary; detorsion procedure was carried on 6 hours later in Group 2, detorsion was performed 12 hours later in Group 3. Unilateral oophorectomy was applied in Group 4 and the oophorectomized tissues were accepted as the control group. 3 weeks after the initial procedures, the rats were again anesthetized and the contralateral ovaries were excised. The specimens were divided for light and electron microscopic investigations. The amounts of normal follicles, corpus luteum, degenerated and atretic follicles were calculated in each group and were compared with each other. In the light microscopic investigation, normal follicle amount was 71 % in control group, 57 % in sham group and was 6.25 %, 33 %, 27 % in Group 2, Group 3 and Group 4 respectively. In electron microscopy; obvious ultrastructural changes and degenerative follicles were found in the contralateral ovaries in Group 2, but also in Group 3 and 4.

As a result we demonstrated that severe degenerative changes in contralateral ovary continues even 3 weeks after the unilateral torsion and detorsion of an ovary. While detorsion after a 12 hours period of torsion acts like unilateral oophorectomy; more severe degenerative changes occur in the contralateral ovary following a torsion-detorsion event of 6 hours duration.

**Key words:** Ovaries torsion, ischemia-reperfusion, rat, oophorectomy

te ve bazen tek taraflı over kaybı ile sonlanmaktadır. Bu olgularda karşı overdeki değişiklikler ve fertilitenin nasıl etkilendiği araştırma konusudur.

Yapılan deneysel çalışmalarda tek taraflı ooforektominin karşı overde, hemiooforektominin ise aynı tarafta hipertrofiye yol açtığı gösterilmiştir (1,2,4). An-

cak tek taraflı torsiyon veya fitik içinde strangülasyon ile oluşan, over kanlanması geçici olarak etkilendiği modeller ile yapılmış çalışma sayısı azdır. Tek taraflı over torsiyonunun erken dönem etkileri Çakmak ve ark. tarafından araştırılmıştır (5,6,7).

Çalışmamızda tek taraflı over torsiyon-detorsiyonunun karşı over üzerine geç dönem etkilerinin araştırılması planlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

*Bu çalışmada Wistar-Albino türü erişkin dişi sıçanlar kullanıldı ve her biri 8 sıçan içeren 4 deney grubu oluşturuldu.*

*Grup 1 (Sham): Bu gruptaki sıçanlara yalnız eter anestezisi ile median laparotomi yapıldı ve ardından karın kapatılarak işlem sonlandırıldı.*

*Grup 2 (6 saat torsiyon-detorsiyon): Bu grupta eter anestezisi ile median laparotomi yapıldı, sağ overler saat yönü tersine 720 derece döndürülüp karın duvarına sabitlendi, kesi kapatılıp sıçanlar uyandırıldı. Altı saat sonra, ikinci kez anestezi verilip yine laparotomi ile over detorsiyone edildi ve karın duvarına sabitlendi.*

*Grup 3 (12 saat torsiyon-detorsiyon): Bu grupta sağ over torsiyon-detorsiyon aralığı 12 saat tutuldu.*

*Grup 4 (Ooforektomi): Bu gruptaki sıçanlara sağ ooforektomi yapıldı. Çıkarılan sağ overler kontrol grubu olarak, 3 hafta sonra çıkarılan sol overler ise tek taraflı ooforektomi sonrası karşı overdeki değişiklikleri araştırmak üzere incelendi.*

*Tüm sıçanlar 3 hafta süre ile aynı ortamda standart besin ile beslenerek izlendi. Bu süre sonunda, eter anestezisi ile yeniden laparotomi yapılarak sol over dokuları çıkarıldı. Çevre yağ dokularından temizlenen overler ışık ve elektron mikroskopunda incelenmek üzere ikiye bölündü.*

*Doku örnekleri ışık mikroskopisi için Bouin fiksatifinde sabitlendi. Parafin bloklarından alınan 5 mikronluk kesitlere Hematoksilin+Eozin ve Masson boyama yöntemleri uygulandı. Tüm deney gruplarına ait over örneklerinden elde edilen seri kesitlerde*

*atretik follikül, normal follikül ve korpus luteum sayımları yapıldı ve histolojik olarak değerlendirildi. Elektron mikroskopunda incelenmek üzere ayrılan doku örneklerine Millonig fosfat tamponu ile hazırlanan % 4'lük glutaraldehit'te 2 saat sabitlemenin ardından % 1'lik osmium tetroksit ile 1 saat postfiksasyon uygulandı. Araldit gömme ortamına alınan dokulardan hazırlanan ultra-ince kesitler Zeiss EM9 S2 ve EM10 elektron mikroskopu ile incelendi.*

*İstatistiksel inceleme: Kontrol grubu, sham grubu (grup 1) ile 2, 3 ve 4. gruplara ait over dokuları ışık mikroskopu ile saptanan korpus luteum, çeşitli evrelerdeki normal follikül ve dejenere follikül frekansları açısından ki-kare (x<sup>2</sup>) ve Fisher testleriyle karşılaştırıldı.*

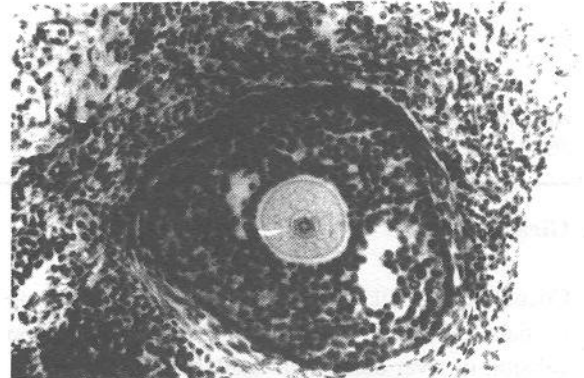
## Bulgular

*Işık mikroskopu bulguları:*

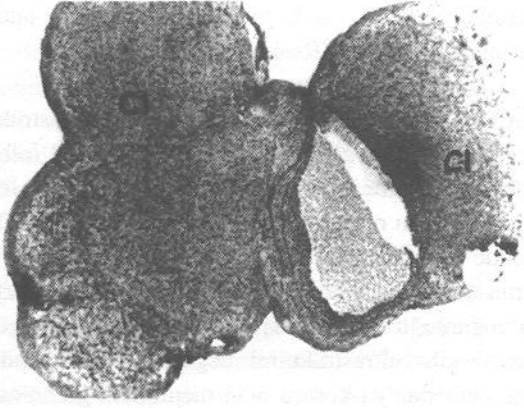
*Kontrol Grubu: (Grup 4'ün ooforektomi ile çıkarılan normal sağ overleri)*

*Farklı evrelerde çok sayıda normal follikül, az sayıda korpus luteum ve atretik folliküle rastlandı (Resim 1). Tüm over dokusu içinde follikül oranı % 71, korpus luteum oranı ise % 29 olarak bulundu.*

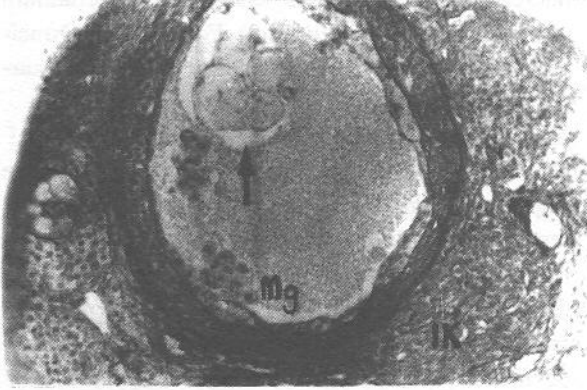
*Grup 1 (Sham): Bu grupta, kontrol grubuna benzer yapısal özellikler belirlendi. Çok sayıda çeşitli evrelerde bulunan normal follikül, daha az sayıda korpus luteum ve nadir atretik folliküller vardı. Over dokusunda follikül oranı % 57, korpus luteum oranı ise % 42 idi.*



**Resim 1.** Kontrol grubuna ait over kesiti. Gelişmekte olan follikül görülmektedir (MassonX400).



Resim 2. 6 saat torsiyon uygulanan grubun karşı over kesitinde çok sayıda korpus luteum (CL) görülmektedir (HEX100).



Resim 3. 12 saat torsiyon uygulanan gruba ait karşı over kesiti. Dejenere bir follikülde yarıklanmış oosit (↑), antrum içine dökülmüş membrana granulosa hücreleri (Mg) ve antrumun organize olduğu görülmektedir. İnterstisyel küme (IK) (Mas-sonX200).

**Grup 2 (6 saat sağ over torsiyon-detorsiyonu sonrası sol over):** Karşı over dokularında belirgin bir korpus luteum artışı, çeşitli evrelerdeki normal follikül sayısında azalma ve atretik follikül sayısında artma gözlemlendi (Resim 2). Over dokusunda korpus luteum oranı % 93, follikül oranı ise % 6.25 olarak hesaplandı.

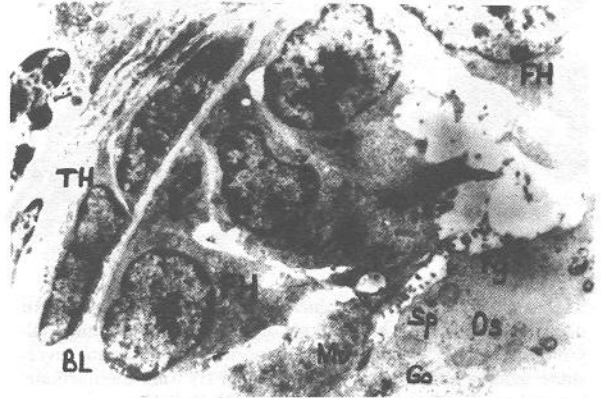
**Grup 3 (12 saat sağ over torsiyon-detorsiyonu sonrası sol over):** Karşı over dokularında en belirgin bulgu atretik follikül ve corpus luteum sayısında artış, buna karşın normal follikül sayısında azalma görülmüştü. Atretik antral folliküller, membrana granulosa tabakasında incelmeye, antrum içine granulosa hücrelerinin dökülmesi, antrumun organize olması ve teka interna hipertrofisi gibi bir seri yapısal değişiklik gösteriyordu. Antrumda dejenere olan oositler genellikle yarıklanmış olarak gözlemlendi. Ay-

rıca bu değişiklikler sonunda ortaya çıkan interstisyel kümelere sıklıkla rastlandı (Resim 3).

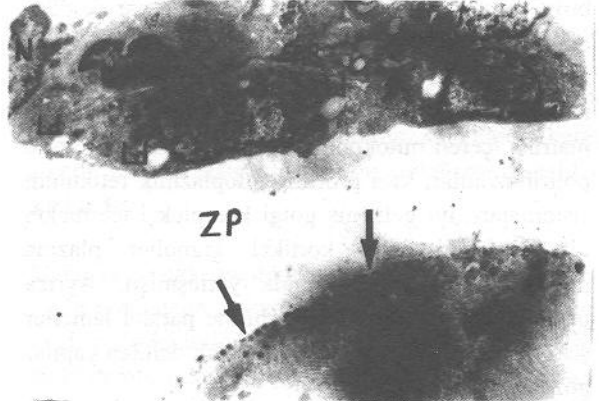
**Grup 4 (Sağ ooforektomi sonrası sol overler):** Bu grupta da grup 2 ve 3 ile benzer yapısal özellikler vardı. Korpus luteum (% 63) ve atrezinin çeşitli aşamalarında bulunan follikül sayısında artış ile normal follikül sayısında azalma görüldü.

#### Elektron mikroskobu bulguları:

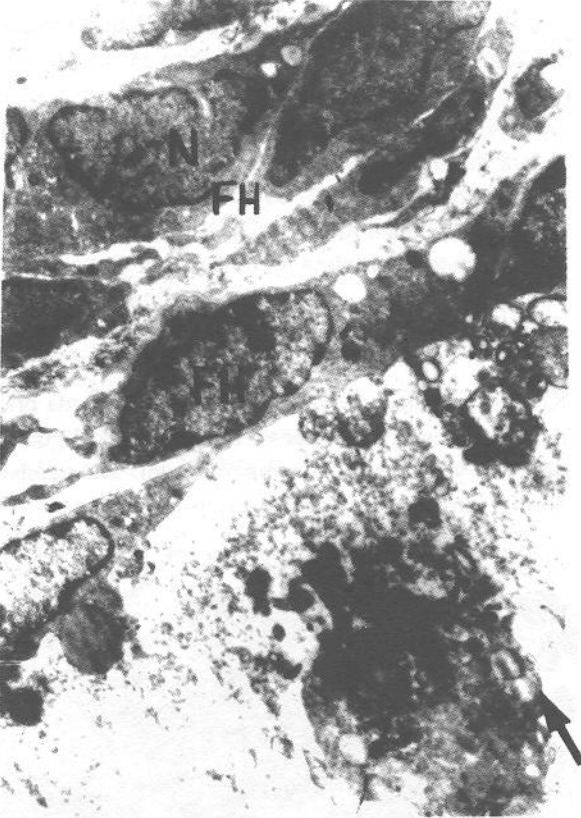
Kontrol grubuna ait over dokusunda çok sayıda primordiyal, primer, sekonder ve tersiyer follikül görüldü. Yer yer korpus luteuma rastlandı. Bu yapılar normal ultrastrüktürel özellikler göstermekte idi.



Resim 4. Kontrol grubu overi. Oosit (Os), sitoplazmik plaklar (Sp), kortikal granüller (Kg), ve Golgi kompleksi (Go) görülmekte. Membrana granulosa hücreleri bazalinde; bazal lamina (BL) ve teka hücreleri (TH) (X4000).



Resim 5. 12 saat torsiyon uygulanan grubun karşı overine ait elektron mikroskopu. Dejenere özellikler gösteren bir follikül kesiti. Oosit yüzeyinde belirgin mikrovilli kaybı (↑), genişlemiş ve elektron yoğunluğu azalmış zona pellusida (ZP), yassılaştırmış follikül hücreleri (FH). Follikül hücreleri içinde lipid damlacıkları (Ld) ve sekonder lizozomal yapılar (Li), düzensiz ve kromatin yoğunlaşması gösteren çekirdek (N), iyi gelişmiş endoplazmik retikulum sisternaları (X4000).



Resim 6. 6 saat torsiyon uygulanan deney grubu. Degeneratif değişiklikler gösteren bir follikül. Antrum içine dökülmüş follikül hücreleri (↑) ve hücre artıkları görülmekte. Antrum çevresinde uzamış şekilli follikül hücreleri (FH) lipid damlacıkları içermekte, düzensiz şekilli çekirdekler (N) (X4000).

Primer ve sekonder follikül yapısına katılan follikül hücreleri çok sayıda hücreler arası bağlantılarla birbirine tutunmuş olup, hücreler arasında dar ve düzgün olmayan yarıklar vardı. Oosit yüzeyinden uzanan çok sayıda mikrovillus gözlemlendi. Oosit sitoplazması az sayıda krista ve orta elektron yoğunlukta matriks içeren mitokondriler, serbest ribozomlar ve poliribozomlar, kısa profilli endoplazmik retikulum sisternaları, iyi gelişmiş golgi kompleksi içermekte idi. Elektron-yoğun kortikal granüller plazma membranının hemen altında yerleşmişti. Ayrıca plazma içinde çok sayıda birbirine paralel lameller şeklinde görülen ve sitoplazmik plak denilen yapılar gözlemlendi.

Follikül hücreleri, bazalinde belirgin bir bazal lamina ile teka hücrelerinden ayrılıyordu. Membrana granülosa hücrelerinin çekirdekleri ökromatinden zengin ve yer yer heterokromatin hücreleri içermekte idi. Teka hücreleri bazal laminanın altında

uzanmış, şekilli ve bir kaç sıra halinde dizilen hücreler olarak gözlemlendi (Resim 4).

Grup 2, 3 ve 4'te karşı overlerde belirgin ultrastrüktürel değişiklikler gözlemlendi. Az sayıda normal follikülün yanı sıra dejeneratif özellikler gösteren folliküllere sıklıkla rastlanıldı. Bu folliküllerde oosit yüzeyinde belirgin mikrovilli azalması, zona pellusida'nın normal yapısının değişikliğe uğrayarak elektron yoğunluğu az ve genişlemiş bir alan olarak görülmesi gibi ultrastrüktürel değişiklikler saptandı. Zona pellusida'ya komşu olan membrana granülosa hücreleri yer yer yassılaştırmış olup sekonder lizozomlar ve lipid damlacıkları içermekte idi. Bazı follikül hücreleri sitoplazmasında endoplazmik retikulum sisternaları gözlemlendi (Resim 5). Follikül boşluğu içine dökülmüş membrana granülosa hücreleri ve artıkları görüldü.

Membrana granülosa hücre çekirdekleri genellikle düzensiz kenarlı idi. Kromatin yoğunlaşması gösteren hücrelere sıklıkla rastlandı (Resim 6). Teka hücreleri artmış lipid granülleri içermekte idi.

#### İstatistiksel karşılaştırmalar:

Grup 1 (sham) grubu ile kontrol grubu arasında yapılan karşılaştırmada farklılık saptanmadı ( $p=0.77$ ). Kontrol grubu ile grup 2, 3 ve 4 arasında korpus luteum, normal follikül ve dejeneratif follikül frekansları açısından ki-kare testiyle karşılaştırmada ileri derecede anlamlı farklılık saptandı ( $p<0.001$ ). Aynı şekilde, Sham grubu sonuçları ile grup 2, 3 ve 4'ün sonuçları arasındaki farklılık ileri derecede anlamlı bulundu ( $p<0.001$ ). Grup 2 ile grup 4 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p=0.009$ ). Grup 2 ile grup 3 ve grup 3 ile grup 4 sonuçları arasındaki farklılıklar ise istatistiksel olarak anlamlı değildi (sırası ile "p" değeri, 0.06 ve 0.195). Elde edilen bu farklılıklar ise yine karşılaştırmalar ile özelde de araştırılmış, bu çözümlenmelerde kontrol grubunun grup 2, 3 ve 4'ten anlamlı derecede farklı olduğu saptanmıştır. Deney gruplarındaki korpus luteum ve dejeneratif follikül frekansları kontrol grubuna göre oldukça yüksektir.

#### Tartışma

Hemiooforektomi sonrası aynı tarafta kompensatuar

hipertrofi oluşmaktadır (1). Benzer şekilde tek taraflı ooforektomi sonrası karşı over dokusunda da bir kompensatuar hipertrofi gözlenir ve bu hipertrofi vagotomi ile bloke edilebilir (2,4). Burada overlerin gonodotropinlere yanıtını etkileyen ve vagus sinirinin etkili olması olası bir nöroendokrin mekanizma rol oynamaktadır (3,4).

Çocuklarda kitlelere bağlı over torsiyonu ile nadir olmakla birlikte karşılaşılmakta ve olay çoğunlukla over kaybına neden olmaktadır (9,10). Benzer şekilde daha sık karşılaşılan bir tabloda da indirekt kasık fitiği kesesi içine tuba uterina ve over girebilmekte, torsiyon veya strangülasyon sonucu over kan dolaşımını etkilenmektedir. Her iki durumda da fertilitte ve hormonal işlevlerin sürmesi açısından karşı overin nasıl etkilendiği önem kazanmaktadır.

Literatürde, tek taraflı torsiyonun karşı over üzerine etkilerinin araştırıldığı az sayıda çalışma vardır. Çakmak ve ark. tarafından yapılmış bir dizi deneysel çalışma ile konu araştırılmıştır. Tavşanlarda yapılan bu çalışmaların ilkinde, tek taraflı over torsiyonunun ardından erken dönemde 17-beta-östradiol düzeyinin azaldığı ve daha sonra muhtemelen FSH aktivitesinin artışına bağlı bir kompensatuar dönem geliştiği saptanmıştır (7). Diğer çalışmalarda; tek taraflı over torsiyonunun ardından, karşı overde stromal ve folliküler yapılarda hücre hasarı geliştiği ve bunun muhtemelen karşı over kan akımında refleks bir azalmaya bağlı hipoksi sonucu oluştuğu belirtilmiştir (5,6).

Tek taraflı testis torsiyonunun karşı testis üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, karşı testiste erken dönemde belirlenen bazı dejeneratif değişikliklerin hücrelerin rejenerasyonu ile geç dönemde ortadan kalkabileceği bildirilmektedir (8). Çalışmamızda 3 hafta sonra yapılan örneklemelerde karşı overde hala ağır değişikliklerin sürdüğünün saptanması Çakmak ve ark.'ın bulgularını desteklemekte ve oluşan hasarın bir erken dönem etkisi olmadığını göstermektedir.

Çalışmamızda ooforektomi grubunun (grup 4) çıkarılan sağ over dokularından elde edilen bulgular normal değerler olarak alınmıştır. Bu dokulardaki ana özellik, follikül hakimiyeti ve dejeneratif değişikliklerin olmaması idi. Sham grubunda elde edilen so-

nuçlar da bu grup ile benzerlik göstermektedir ve Follikül/Korpus luteum oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda, tek taraflı ooforektomi (grup 4) sonrası karşı overde ağır bir normal follikül azlığı ve artmış bir korpus luteum yoğunluğu saptanmıştır. 12 saatlik torsiyon grubundaki (grup 3) bulgular da grup 4 bulguları ile benzerlik göstermektedir. Yaptığımız ön çalışmada 8 saati aşan 720 derecelik torsiyonun over dokusunda tam nekroz ile sonuçlandığını belirlemiştik. Bu bilgi ışığında 12 saatlik torsiyonun, aynı tarafta nekrozla sonuçlandığı ve bu nedenle karşı overdeki bulguların ooforektomi grubuna benzerlik gösterdiği düşünülmüştür. 6 saatlik torsiyon-detorsiyon grubunda, karşı overde daha ağır dejeneratif değişikliklerin oluşmasında ise detorsiyon sonrası over dokusunda kan akımının tekrar başlaması ve reperfüzyonla ortaya çıkan metabolitler veya canlı dokuda uyarının devam etmesi ile daha önceki çalışmalarda etkinliği belirlenmiş olan nöroendokrin mekanizma rol oynayabilir.

6 saatlik torsiyon grubunun (grup 2) sonuçları sham grubu (grup 1) ve kontrol over dokuları ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı olarak, normal follikül sayısında azalma, atretik follikül sayısında artma ve ciddi korpus luteum hakimiyeti göze çarpmaktadır. Normal follikül oranı kontrol ve grup 1 de sırasıyla % 71 ve 57 iken; grup 4'te % 36, grup 3'te % 33 grup 2'de ise % 6.25'e düşmektedir. Bulgular grup 3 ve 4 bulgularına benzemekle birlikte, grup 2'deki etkilenmenin daha ağır olduğunu, dolayısıyla torsiyone-detorsiyone edilmiş canlı over dokusunun bırakıldığı sıçanlarda karşı overin etkilenmesinin daha ağır olduğunu desteklemektedir.

Çakmak ve ark. yaptıkları ultrastrüktürel incelemelerde torsiyonun ardından 1 saat sonra karşı overde, oosit çekirdeklerinde düzensizlik, küçük miktarlarda lipid damlacıkları ve bazal laminadaki hücre duvarlarında hasar gibi erken dönemde ortaya çıkan dejeneratif değişiklik belirlemişlerdir (6). Çalışmamızda, benzer ultrastrüktürel değişikliklerin daha ileri ve ağır hasar bulguları ile 3 hafta sonra da bulunduğu gözlenmiştir.

Bulgularımız tek taraflı over torsiyonunun karşı over dokusunda dejeneratif değişikliklere yol açtığını göstermektedir. Bu etkileşim 3 haftalık dönemde de hala sürmektedir. Çalışmamızın verileri ile bu negatif etkinin mekanizması hakkında yorum yapmak mümkün olmamakla birlikte, diğer çalışmalarda burada rol oynayabilecek sempatik refleks ile karşı over kan akımının azalması, uzun dönemde gonadotropin düzeylerinde değişiklik ve karşı overin aşırı uyarılması gibi faktörlere dikkat çekilmiştir. Tüm bu bulguların klinik düzeyde yorumu ise, tek over kanlanması herhangi bir şekilde etkilendiği; kitlelere bağlı torsiyon veya fitıklara bağlı strangülasyon gibi olgularda karşı overin de risk altında olduğunu göstermektedir.

### Kaynaklar

1. Alvarez DR, Grizzle WE, Smith LJ, Miller MD: Compensatory ovarian hypertrophy occurs by a mechanism distinct from compensatory growth in regenerating liver. *Am J Obstet Gynecol* 161:1653, 1989
2. Burden HW, Lawrence IE Jr, Smith JP Jr, et al: The effects of vagotomy on compensatory ovarian hypertrophy and follicular activation after unilateral ovariectomy. *Anat Rec* 214:61, 1986

3. Chavez R, Cruz ME, Dominguez R: Differences in the ovulation rate of the right or the left ovary in unilaterally ovariectomized rats: effect of ipsi-and contralateral vagus nerves on the remaining ovary. *J Endocrinol* 113:397, 1987
4. Chavez R and Dominguez R: Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of compensatory ovarian hypertrophy: the effects of its section performed on each day of the oesterus cycle. *J Endocrinol* 140:197, 1994
5. Çakmak M, Aras T, Dindar H, et al: Blood flow determination in contralateral ovary with <sup>133</sup>Xe in unilateral ovarian torsion (Experimental study in rabbits). *Tokai Exp Clin Med* 19:61, 1994
6. Çakmak M, Kaya M, Barlas M, et al: Histologic and ultrastructural changes in the contralateral ovary in unilateral ovarian torsion: An experimental study in rabbits. *Tokai J Exp Clin Med* 18:167, 1993
7. Çakmak M, Mergen K, Dindar H, et al: Influence of unilateral ovarian torsion to the contralateral ovary. *Tokai J Exp Med* 17:105, 1992
8. Janetschek G, Heilbronner, Schachtner W, et al: Unilateral testicular disease: effect on the contralateral testis (morphometric study). *J Urol* 138:878, 1987
9. Meyer JS, Harmon CM, Harty MP, et al: Ovarian torsion: clinical and imaging presentation in children. *J Pediatr Surg* 30:1433, 1995
10. Mordehal J, Mares AJ, Barki Y, et al: Torsion of uterine and adnexa in neonates and children: A report of 20 cases. *J Pediatr Surg* 26:1195, 1991