

Sıçanlarda Pomeroy Tekniği ve Koterizasyon ile Tubal Sterilizasyon Sonrası Over ve Endometriyum Dokusunda Atrofi ve Apoptozis Varlığının Araştırılması*

Fatma KANSU¹, Gonca İMİR¹, Meral ÇETİN¹, Ali ÇETİN¹, Öztürk ÖZDEMİR²

¹Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Cumhuriyet University, Sivas, Turkey

²Department of Genetics, Faculty of Medicine, Cumhuriyet University, Sivas, Turkey

Received 20 March 2007; received in revised form 02 June 2007; accepted 26 June 2007;
published online 29 June 2007

Özet

Amaç: Tubal sterilizasyon, günümüzde aile planlaması yöntemleri arasında sıklıkla kullanılan ve uygulanan tekniğe göre komplikasyonları değişen bir sterilizasyon yöntemidir. Bu çalışmada, Pomeroy tekniği ve bipolar koterizasyonun over ve endometriyum doku atrofisine etkisi ve apoptozisin rolünün bu iki farklı tekniğin karşılaştırılmasıyla değerlendirilmesi amaçlandı.

Materyal ve Metot: Otuz Wistar albino dişi matür sıçan, her biri 10 sıçan olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Birinci gruptaki sıçanlara Pomeroy usulü ve 2. gruptaki sıçanlara bilateral bipolar koterizasyonla tubal sterilizasyon yapıldı. Kontrol grubundaki sıçanlara ise sadece laparotomi yapıldı. İki ay sonra laparotomi ile bütün sıçanların bilateral over ve endometriyum dokuları çıkartıldı ve genomik DNA izolasyonu yapıldı. DNA örnekleri belirteç eşliğinde agaroz jelde yürütüldü ve DNA profilleri Scion Image tekniği ile doku degradasyonları açısından karşılaştırıldı.

Sonuçlar: Agaroz jel elektroforezi ve Scion Image tekniği ile Pomeroy, koter ve kontrol gruplarındaki over ve endometriyum dokularının hiçbirinde apoptozis saptanmadı. Pomeroy grubunda nekrozis ve intakt DNA saptanırken koter grubunda sadece nekrozis vardı.

Tartışma: Çalışmamızda dişi ratlarda Pomeroy ve bipolar koterizasyon tekniği ile tubal sterilizasyon sonrası over ve endometriyum dokularında apoptozis gösterilemedi. Bununla birlikte bipolar koterizasyon ile karşılaştırıldığında Pomeroy tekniği sonrası dokuda daha fazla sağlam doku tespit edildi. Bu çalışma, tubal sterilizasyon sonrası over ve endometriyum dokusunda apoptotik değişikliklerin araştırıldığı literatürdeki ilk çalışma olup bu konuda daha geniş kapsamlı, kontrollü çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Anahtar sözcükler: tubal sterilizasyon, over, endometriyum, apoptozis, sıçan

Abstract

The Evaluation of Atrophy and Apoptosis in the Ovarian and Endometrial Tissue After Tubal Sterilization by Pomeroy Technique or Bilateral Electrocauterization

Objective: Tubal sterilization, is a common birth control method which the complication rates change according to the performed technique and methods. The aim of this study was to evaluate the effects of tubal sterilization techniques, Pomeroy and bilateral bipolar cauterization, on the apoptosis in the ovarian and endometrial tissue atrophy in rats.

Materials and Methods: Thirty female Wistar Albino rats were enrolled in the study and divided into three groups (n=10). In the first group, rats underwent bilateral uterine horn ligation with Pomeroy method, in the second group, bilateral bipolar cauterization was applied, and only laparotomy was performed in the control group. Two months later, uterine horns and ovaries of the rats in all groups were excised. After genomic DNA isolation, DNA samples were run in agarose gel and the Scion Images were compared with the DNA marker and control.

Corresponding Author: Dr. Gonca İmir
Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, 58140 Sivas, Türkiye
Phone : +90 346 258 05 98
GSM : +90 537 920 92 40
E-mail : imirgonca@yahoo.com

*Bu çalışma 5. Ulusal Jinekoloji ve Obstetrik Kongresi (TJOD) 2006'da poster olarak sunulmuştur.

Results: There was no apoptosis in the ovarian and endometrial tissues in all groups detected by agarose gel electrophoresis and Scion Image technique. In Pomeroy group, there were both necrosis and intact DNA in ovarian and endometrial tissues, while in cauterization group, there were only necrosis.

Discussion: In our study, there was no role of apoptosis in the atrophy of ovarian and endometrial tissues after tubal ligation by Pomeroy technique or bipolar cauterization in female rats. In Pomeroy technique, however, higher proportion of intact tissue was detected compared with bipolar cauterization. Further randomized controlled studies are needed to study the expression of atrophy and apoptosis.

Keywords: tubal sterilization, ovary, endometrium, apoptosis, rat

Giriş

Tubal sterilizasyon, günümüzde aile planlaması yöntemleri arasında sıklıkla (%10-40) kullanılan bir sterilizasyon yöntemidir (1). Teknolojideki gelişmeler sonucu güvenilir, etkin ve uzun dönemde maliyet açısından ucuz bir yöntem haline gelmiştir. Bununla birlikte, tubal sterilizasyonun kısa ve uzun dönemde riskleri bildirilmiştir (2). Etiyolojisi ve fizyopatolojisi henüz bilinmemekle birlikte tubal sterilizasyon sonrası hormonal değişiklikler (3), endometriyumda histolojik değişiklikler (4), menstrüel kanama bozuklukları (5) ve utero-ovaryen kan akımı anormallikleri (6) gibi değişiklikler saptanmıştır. Literatürde tubal sterilizasyon sonrası endometriyum ve over histopatolojisini inceleyen ve bu dokulardaki etkileri gösteren az sayıda çalışma vardır (7-10).

Apoptozis, normal gelişimin fizyolojik ve patolojik süreçlerinin zorunlu komponentidir, hasarlı ve gereğinden fazla hücrelerin eliminasyonu ile doku yapım ve yıkımının dengelemesini sağlar (11,12). Belirgin hücre morfolojisi değişikliği yanında, apoptotik hücrelerdeki en sık karakteristik yapı DNA fragmantasyonudur (6,13). Bu, apoptozisin nekrozdaki ayırımında en faydalı bulgulardan biridir (14). Literatürde, tubal sterilizasyonun over ve endometriyum dokusunda apoptozise etkisini gösteren bir çalışma yoktur.

Bu çalışmada, en sık kullanılan tubal sterilizasyon tekniklerinden Pomeroy tekniği ve bilateral bipolar koterizasyonun over ve endometriyum doku atrofisine etkisi ve apoptozisin bu olaydaki rolünün, bu iki farklı tekniğin karşılaştırılarak incelenmesi amaçlandı.

Materyal ve Metot

Hayvanlar

Bu çalışma, üniversitemizin Hayvan Etik Kurulu'nun onayı ve üniversitemizin deney hayvanları araştırma ve laboratuvarında gerçekleştirildi. Üniversitemizin Hayvan Etik Kurulu'nun önerileri doğrultusunda, sıçanların 22°C'de standart diyet ve su eklenerek ve ortama adaptasyonu amacıyla bir hafta laboratuvarında tutulmasından sonra, her sıçan numaralandırılarak çalışmaya alındı. Üniversitemiz laboratuvarından temin edilen ağırlıkları 180-230 gram arasında değişen 30 dişli matür Wistar albino (*Rattus norvegicus*) sıçan kullanıldı. Toplam 30 sıçan randomize olarak 3 gruba ayrıldı: 1. grup Pomeroy grubu (n=10), 2. grup koterizasyon grubu (n=10), 3. grup kontrol grubu (n=10).

Tüm sıçanlara 40 mg/kg intraperitoneal ketamin HCl (Ketarlar® 50 mg/ml, Eczacıbaşı İlaç Pazarlama A.Ş., Lüleburgaz, İstanbul, Türkiye) ve 1 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun®, Abdi İbrahim İlaç Pazarlama A.Ş., İstanbul, Türkiye) verilerek anestezi sağlandı. Sıçanların batinları eksternal üretral orifisin hemen üzerinden başlanarak 3 cm'lik orta hat insizyonla açıldı. Sıçan uterusu, medyan korpus ve buradan laterale uzanan sağ ve sol uterin hornlardan oluşmaktadır ve bu yapıların daha distalinde overler yerleşmiştir. Birinci gruptaki sıçanlarda (Pomeroy grubu) sağ ve sol uterin hornları 1 cm distalden tutularak kesildi ve 2/0 katgüt ile bağlandı. İkinci gruptaki sıçanlarda (Koter grubu) ise, sağ ve sol uterin hornları 1 cm distalden bipolar koter ucu ile tutuldu, sabit bir enerji kullanılarak elektrokoterizasyon (30 watt) ile koterize edildi. Kontrol grubundaki sıçanlara ise, sadece laparotomi yapıldı. Takipte, sıçanlarda kayıp olmadı. İki ay süreyle sıçanlara deney hayvanları laboratuvarında bakıldı. Bu sürenin sonunda bütün sıçanların aynı insizyon yerinden laparotomi ile tekrar batına girilerek bilateral over ve endometriyum dokuları çıkarıldı. Elde edilen dokular DNA analizi için -20°C'de saklandı.

DNA izolasyonu

Çalışma sonunda, çalışma gruplarına tek kör araştırmacı tarafından kontrol ve deney grubuna ait sıçanlardan alınan dokulardan modifiye alkol-proteinaz K yöntemi kullanılarak genomik DNA izolasyonları yapıldı (15). Yaklaşık 0.5-1 gramlık over ve endometriyum dokularına 45 µl sodyum klorür-tris-EDTA tamponu eklendi. Üzerine 8 µl %10'luk sodyum dodesil sülfat ve 5 µl 10 mg/ml proteinaz K ilave edildi. Karışım, etüvde 55°C'de 2 saat inkübe edilip belirli aralıklarla karıştırıldı. Dokuların enzim tarafından sindirimi tamamlandıktan sonra, tüp ortamına 58 µl fenol-kloroform-izoamilalkol eklenerek karıştırıldı ve 8000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst berrak tabaka bir mikropipet yardımıyla alındı ve başka bir tüpe aktarılarak -20°C soğutulmuş olan 1 ml saf etanol ilave edildi ve 8000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek ortamda bulunan DNA'nın çökmesi sağlandı. Pellet 100 µl distile su ilave edilerek yeniden çözülmesi sağlandı. DNA miktarı spektrofotometrede 260 nm'de absorbans okunarak hesaplandı.

Agaroz jel elektroforezi ve görüntüleme

Deney ve kontrol grubunun over ve endometriyum dokularından elde edilen genomik DNA %1.5'lik agaroz jel elektroforezde (Midicell EC330, Prisma, 100 V/45 dakika) 1xTAE tamponunda DNA belirteç (Gene Rule 100bp DNA ladder)

eşliğinde yürütülerek karşılaştırıldı. Daha sonra jeller, UV altında jel görüntüleme sisteminde değerlendirildi. Kontrol ve deney grubuna ait agaroz jel genomik DNA profilleri Scion Image (Scion Image Beta 4.0.2, Scion Corporation, Frederick, MD, USA) tekniği ile değerlendirildi. Doku degradasyonları sonucu meydana gelen genomik DNA fragmantleri karşılaştırıldı.

Veriler SPSS (version 13, Chicago, IL, USA) programına yüklenerek analiz edildi. Denek ağırlığı Kruskal-Wallis testi, kategorik veriler ise χ^2 veya Fisher's exact testi ile karşılaştırıldı. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

Sonuçlar

Sıçanların ağırlıkları Pomeroy, koter ve kontrol gruplarında sırasıyla 208 ± 10 gram, 212 ± 8 gram ve 204 ± 18 gram idi. Agaroz jel elektroforezi ile Pomeroy, koter ve kontrol grubundaki sıçanların over ve endometriyum dokusunun hiçbirinde apoptozise rastlanmadı.

Scion Image tekniği ile agaroz jel fragmentasyon profilleri 100 baz çifti (bç) DNA belirteci için profil (Şekil 1A) ile karşılaştırıldığında; kontrol grubuna ait genomik DNA'ların 22 000 bç bölgesinde bant verdiği, dokuların intakt ve non-fragmente yapıda olduğu saptandı. Kontrol grubunda over ve endometriyum dokusunda nekroz saptanmadı (Şekil 1B). Pomeroy grubuna ait over ve endometriyum dokularının genomik DNA'larının fragmentasyonunda nekrotik hücre profili yanı sıra yaklaşık 500 bç büyüklüğünde intakt DNA fragmantleri tespit edildi (Şekil 1C). Koterizasyon grubundaki over ve endometriyum dokularından izole edilen genomik DNA'nın ileri derecede fragmentasyon gösterdiği, fragmentasyon aralığının en sık 100 bç uzunluğu civarında olduğu izlendi (Şekil 1D). Bu durum, dokuda ileri derecede DNA degradasyonunun olduğunu, smear genomik DNA profilinin varlığı ile karakterize ileri derecede nekrozis olduğunu göstermekte idi. Keskin pik yoğunluğunun olmayışı, dokuda tetkik edilebilecek apoptotik hücrelerin (ladder DNA; merdiven tipi DNA) olmadığını göstermektedir.

Tartışma

Çalışmamızda, bipolar bilateral koterizasyon tekniğinin uygulandığı sıçanlarda tubal sterilizasyon sonrasında over ve endometriyum dokularının tamamının atrofik olduğu ve sağlıklı dokunun saptanmadığı tespit edilmiştir. Bu deney tekniği ile, bu dokulardaki atrofisinin nekrozise bağlı meydana geldiği ve apoptozisin rol oynamadığı saptanmıştır. Pomeroy usulü tubal sterilizasyonun uygulandığı sıçanlarda ise, tubal sterilizasyon sonrasında over ve endometriyum dokularının tamamının atrofiye uğramadığı, bu dokularda nekrozisin yanı sıra sağlıklı dokuların da olduğu gösterilmiştir. Dokularda saptanan bu kısmi doku atrofisinden, büyük çoğunlukla nekrozisin sorumlu olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, yine Pomeroy tekniği sonrası oluşan atrofide apoptozisin etkisi gösterilememiştir.

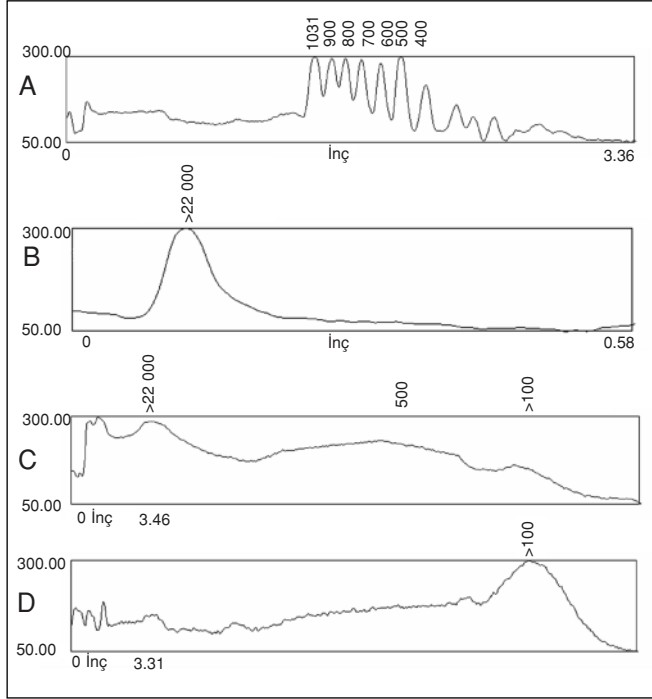
Bilateral tubal ligasyon, özellikle gelişmiş ülkelerde aile planlaması düşünen kadınlar arasında en popüler metot olmayı sürdürmektedir (16). Bununla birlikte, literatürde post-tubal ligasyon sendromu olarak da bilinen tablo menstrüel anormallikler, dismenore ve hormonal bozukluklarla karakterizedir ve bu şikâyetlerden dolayı artmış histerektomi oranları bildirilmiştir (17). Posttubal ligasyon sendromunun oluş mekanizması bazı hipotezlerle açıklanmaya çalışılmıştır. Bu hipotezlerden en önemlisi, fallop tüpüne yapılan destrüksiyonun mezosalpinksteki uteroovaryen kan akımını azaltması ve bunun overlerde doku hasarı oluşturması, foliküler gelişimin oluşmaması ve ovaryen fonksiyonların erken bozulmasıdır (18). Tubal sterilizasyon kadınlarda menstrüel siklus değişiklikleri ile birlikte klimakterik şikâyetlere de yol açabilir. Bu değişiklikleri, overin vasküler ve nöral beslenmesini bozarak, doku kanlanma bozukluğu sonrası overin metabolizmasını etkileyerek yapabilir (19). Bununla birlikte, endometriyuma etkisinin hangi mekanizma ile olduğu henüz bilinmemektedir.

Tubal sterilizasyon sonrası düzensiz menstrüel siklus, dismenore, prematür menopoz olduğu belirtilmektedir (5). Bu komplikasyonlar, fallop tüpüne yapılan vasküler hasardan dolayı, uteroovaryen artere oklüzyon ve uteroovaryen sirkülasyondaki bozukluktan dolayı olabilir. Tıraş ve arkadaşları (20) tarafından yapılan bir çalışmada, laparoskopik bipolar koterizasyon ile tubal sterilizasyonun ameliyat öncesi ve sonrası uteroovaryen kan akımında istatistiksel olmayan bir düşüş ve kan akımı direncinde lokal artış saptanmıştır. Geber ve Caetano (21), Pomeroy tekniği ile tubal sterilizasyon uygulanan hastalarda kısa süre sonra ovaryen ve uterin arterlerde kan akımı değişiklikleri gözlenmediğini ortaya koymuşlardır.

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, bir gruba bilateral Pomeroy usulü tubal sterilizasyon yapılmış ve bir overleri çıkarılmış, diğer gruba sadece unilateral ooferektomi yapılmış ve bir overleri yerinde bırakılmıştır. Bir yıl sonra her iki grubun kalan overleri çıkartılarak morfolojik olarak değerlendirilmiştir. Histolojik değerlendirmede, Pomeroy usulü tubal sterilizasyonun overde histolojik değişikliklere neden olmadığı gösterilmiştir (9).

Yine sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada, tubal ligasyon sonrası over ve endometriyum dokusunda histopatolojik değişiklikler değerlendirilmiştir. Çalışmada 24 sıçanın 12'sine bilateral tubal ligasyon, 12'sine sadece laparotomi yapılmıştır. Bütün sıçanların over ve endometriyum dokuları 6 hafta sonra çıkartılmıştır. Gruplar histopatolojik olarak değerlendirildiğinde, overlerde tersiyer folikül ve korpus luteum açısından Pomeroy tekniği ile yapılan tubal sterilizasyon grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmazken, tubal sterilizasyon grubundaki endometriyum dokusunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek oranda inflamasyon bulguları tespit edilmiştir (7).

Sonuç olarak, dişi sıçanlarda Pomeroy tekniği ve bilateral bipolar koterizasyon teknikleri ile yapılan tubal sterilizasyon



Şekil 1. Pomeroy, koter ve kontrol grubundaki sıçanlarda over ve endometriyum dokularındaki Scion Image profilleri. **A.** DNA belirteç (100 baz çifti). Her bir DNA fragmantinin büyüklüğü görülmektedir. **B.** Kontrol grubundaki sıçanların Scion Image profili. Non-fragman-te, 22 000 baz çiftinden büyük, yüksek moleküler ağırlıklı intakt DNA mevcuttur ve degradasyon görülmemiştir. **C.** Pomeroy grubundaki sıçanların Scion Image profili. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında fragman-te DNA ve smear görüntüsünün yanında sağlıklı, non-fragman-te DNA olduğu görüldü. Keskin pik yoğunluğunun olmayışı, dokuda saptanabilen apoptotik hücrelerin olmadığını göstermektedir. **D.** Koter grubundaki sıçanların Scion Image profili. Dokuda ileri de-recede DNA degradasyonun olduğu, smear genomik DNA profilinin varlığı ile karakterize ileri derecede nekrozis olduğu görülmektedir. Keskin pik yoğunluğunun olmayışı dokuda apoptotik hücrelerin ol-madığı ya da yok denecek kadar az olduğunu göstermektedir.

sonrasında over ve endometriyum dokusundaki atrofi-de apoptozisin rol oynamadığı saptanmıştır. Pomeroy grubunda daha az olmakla birlikte, her iki tubal sterilizasyon sonrası oluşan atrofinin çoğunlukla nekrozis ile meydana geldiği ve Pomeroy tekniği sonrası over ve endometriyum dokusunda daha fazla oranda sağlam doku kaldığı gösterilmiştir. Sonuç-ta her iki tubal sterilizasyon tekniğinin de, Pomeroy usulü tu-bal sterilizasyon sonrası daha az doku hasarı saptanmakla birlikte uteroovaryen kanlanma açısından birbirine üstünlüğü gösterilememiştir. Etiyopatogenezde altta yatan mekaniz-manın (apoptozis-programlı ölüm veya nekroz) bilinmesinin, tubal sterilizasyon sonrası oluşabilecek hasarın önlenmesi konusunda yapılacak çalışmalara ışık tutabileceği savunul-maktadır. Bu çalışma, tubal sterilizasyon sonrası over ve en-dometriyum dokusunda apoptotik değişikliklerin araştırıldığı

literatürdeki ilk çalışma olup bu konuda daha geniş, kontrol-lü çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Deneysel çalışmalar Üniversitemizin Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı'nca (Proje No: T265) desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Hulka JF, Phillips JM, Peterson HB, Surrey MW. Laparoscopic sterilization. American Association of Gynecologic Laparoscopists' 1993 membership survey. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 1995;2:137-8.
- Kwak HM, Chi I, Gardner SD, Laufe LE. Menstrual pattern changes in laparoscopic sterilization patients whose last pregnancy was terminated by therapeutic abortion. A two-year follow-up study. *J Reprod Med* 1980;25: 67-71.
- Rojansky N, Halbreich U. Prevalence and severity of premenstrual changes after tubal sterilization. *J Reprod Med* 1991;36:551-5.
- Hague WE, Maier DB, Schmidt CL, Randolph JF. An evaluation of late luteal phase endometriyum in women requesting reversal of tubal ligation. *Obstet Gynecol* 1987;69:926-8.
- Wilcox LS, Martinez-Schnell B, Peterson HB et al. Menstrual function after tubal sterilization. *Am J Epidemiol* 1992;135:1368-81.
- Tabibzadeh S. Signals and molecular pathways involved in apoptosis, with special emphasis on human endometrium. *Hum Reprod Update* 1995;1: 303-23.
- Duran B, Demirkoprulu N, Guvenal T et al. Histopathological changes in ovary and endometrium after tubal ligation: a rat model. *Acta Obstet Gynecol Scan* 2003;82:220-4.
- Kuscu E, Duran HE, Zeyneloglu HB et al. The effect of surgical sterilization on ovarian function: a rat model. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002;100:204-7.
- Aygen EM, Ozdamar S, Serin S, Babug M. Ovarian morphology of rats after fallopian tube sterilization. *Contraception*. 2002;66:211-4.
- de Cristofaro D, Zancanari C, Fiaccavento S, Pezzoli C. Endometrial pathological changes after fallopian ring tubal ligation. *Endoscopy* 1982;14:139-40.
- Samuilov VD, Oleskin AV, Lagunova EM. Programmed cell death. *Biochemistry (Mosc)* 2000;65:873-87.
- Harma MI, Harma M, Dilsiz N. Western blot determination of Caspase-3 apoptotic activity in complete hydatidiform mole and persistent trophoblastic disease. *J Turkish German Gynecol Assoc* 2005;6:226-8
- Spencer SJ, Cataldo NA, Jaffe RB. Apoptosis in the human female re-productive tract. *Obstet Gynecol Surv* 1996;51:314-23.
- Gavrieli Y, Sherman Y, Sasson SAB. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *The Journal of Cell Biology* 1992;119:493-501.
- Turgut B, Babul A, Ozdemir O, Erselcan T. Evaluation of the cell death pathway and apoptosis-stunning effect relationship after low- and high-dose I-131 administrations in rat thyroid tissue. *Cancer Biother Radiopharm* 2006;21:342-51.
- Baill IC, Cullins VE, Pati S. Counseling issues in tubal sterilization. *Am Fam Physician* 2003;67:1287-94.
- Gentile GP, Kaufmann SC, Helbig DW. Is there evidence for a posttubal sterilization syndrome? *Fertil Steril* 1998;69:179-86.
- Cooper GS, Thorp JM. FSH levels in relation to hysterectomy and to uni-lateral oophorectomy. *Obstet Gynecol* 1999;94:969-72.
- Alvarez F, Faundes A, Brache V et al. Prospective study of the pituitary-ovarian function after tubal sterilization by the Pomeroy or Uchida techniques. *Fertil Steril* 1989;51:604-7.
- Tiras BM, Noyan V, Ozdemir H et al. The changes in ovarian hormone levels and ovarian artery blood flow rate after laparoscopic tubal steriliza-tion. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001;99:219-21.
- Geber S, Caetano JP. Doppler colour flow analysis of uterine and ovarian arteries prior to and after surgery for tubal sterilization. a prospective study. *Hum Reprod* 1996;11:1195-8.