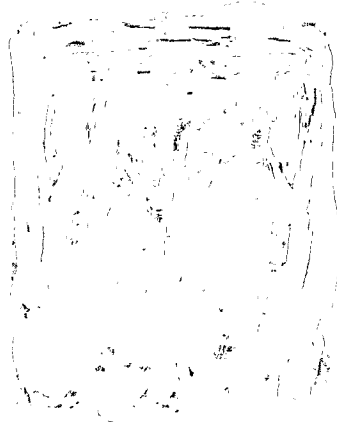


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سید



دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی  
(گرایش زیست شناسی سلولی تکوینی)

## پلی مورفیسم ژن CYP17 و احتمال ایجاد اندومتريوز

از:

علی بخشی

استاد راهنما:

دکتر فرهاد مشایخی

استاد مشاور:

دکتر مرضیه مهرافزا

شهریور ۱۳۸۸

۳ / ۷ / ۱۳۸۹



معاونت خدمات دانشجویی  
نمونه

۱۴۱۵۲۱

تقدیم به :

همراه و همسفر زندگیم (نسرین)

و

دخترم، فریناز

تقدیر و تشکر

سپاسگذاری :

اکنون که با استعانت از خداوند متعال و در سایه الطاف الهی موفق به گذراندن مرحله‌ای از مراحل زندگی خویش شدم، خداوند را بسیار شاکر هستم.

از همسر مهربان و دلسوزم که در طول مراحل تحصیل مشوق و حامی من بودند، کمال تشکر را دارم. از پدر و مادر فداکارم که زحمات زیادی در طول تحصیل کشیده‌اند، قدردانی می‌کنم. از استاد راهنمای بزرگووارم جناب آقای دکتر فرهاد مشایخی که در امر به پایان رساندن این پایان نامه از راهنمایی‌های ارزنده‌شان بهره بردم، بسیار سپاسگزارم. از استاد مشاور گرامی خانم دکتر مرضیه مهرافزا که در طی انجام کار با کمک‌های بی‌دریغ‌شان، در تنظیم بهتر این پایان نامه مرا یاری کردند، بسیار تشکر می‌نمایم.

از اساتید محترم، خانم دکتر زیور صالحی و آقای دکتر فرزاد رجائی که زحمت بازخوانی و داوری پایان‌نامه اینجانب را بر عهده گرفتند، کمال تشکر را دارم.

از کلیه اساتید محترم گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه به خاطر همکاری‌های صمیمانه‌شان قدردانی می‌نمایم.

از دوست عزیزم، آقای مسعود کاظمی که در طول مراحل آزمایشگاهی از کمک و تجربیاتش استفاده کردم، بسیار متشکر و قدردان هستم.

علی بخشی

۱۴ شهریور ۱۳۸۸

صفحه	عنوان
.....	فصل اول : مقدمه
.....	چکیده فارسی
.....	چکیده انگلیسی
.....	۱-۱ مقدمه
.....	۲-۱ علائم اندومتريوز
.....	۳-۱ طبقه بندی اندومتريوز
.....	۴-۱ روش های تشخيص بيماری
.....	۵-۱ درمان اندومتريوز
.....	۱-۵-۱ جراحی
.....	۲-۵-۱ درمان دارویی
.....	۳-۵-۱ درمان های جديد اندومتريوز
.....	۱- داروهای مهارکننده $TNF-\alpha$
.....	۲- مهارکننده های آنژیوژنز
.....	۳- مهارکننده های آروماتاز در درمان اندومتريوز
.....	۴-۱ اندومتريوز و سرطان
.....	۷-۱ عوامل احتمالی که در پاتولوژی اندومتريوز دخالت دارند
.....	۱-۷-۱ نقش عوامل محیطی در ایجاد اندومتريوز

۱۷	..... نقش سیستم ایمنی ذاتی در اندومتريوز (۲-۷-۱)
۱۷	..... الف- ماکروفاژها
۱۸	..... ب) سلول‌های دندريتيک
۱۹	..... ج) ماست سل‌ها
۱۹	..... د) سلول‌های کشنده طبيعي (Natural Killer cells)
۱۹	..... و) کمپلمان
۲۰	..... عوامل ژنتيکی (۳-۷-۱)
۲۲	..... ۱-۳-۷-۱) زن‌های دخيل در اندومتريوز
۲۲	..... ۱) زن <i>HOX</i>
۲۳	..... ۲) زن <i>HSD17-B1</i>
۲۴	..... ۳) فاکتور رشد ابي تليال رگی VEGF
۲۵	..... ۴) زن <i>P53</i>
۲۵	..... ۵) گلو تاتیون-S-ترانسفراز (Glutathione-S-Transferase)
۲۵	..... ۶) L1 CAM
۲۶	..... ۷) زن <i>CYP19</i>
۲۶	..... ۸) زن <i>CYP17</i>
۲۹	..... ۱-۳-۷-۲) پلی مورفيسم زن <i>CYP17</i> در بيماريهای مختلف
۲۹	..... الف- سرطان پستان
۳۰	..... ب- سرطان اندومتر

۳۰	..... عوامل هورمونی (۴-۷-۱)
۳۷	..... چند شکلی (پلی مورفیسم) (۵-۷-۱)
۳۸	..... هدف از تحقیق (۸-۱)
	..... فصل دوم : مواد و روش ها
۴۱	..... (۱-۲) مواد
۴۱	..... (۱-۱-۲) مواد و وسایل مصرفی استخراج
۴۱	..... (۲-۱-۲) مواد PCR
۴۱	..... (۳-۱-۲) مواد الکتروفورز محصولات PCR و رنگ آمیزی ژل پلی اکریل آمید
۴۲	..... (۲-۲) وسایل و تجهیزات مورد نیاز
۴۳	..... (۳-۲) روش کار
۴۳	..... (۱-۳-۲) ساخت بافرها
۴۴	..... (۲-۳-۲) استخراج DNA ژنومی
۴۴	..... (۱-۲-۳-۲) معرفی کیت DNG™-Plus
۴۴	..... (۲-۲-۳-۲) آماده سازی نمونه خون جهت فرایند استخراج DNA
۴۴	..... (۳-۲-۳-۲) مراحل استخراج DNA با استفاده از کیت DNG™-Plus شرکت سیناژن
۴۵	..... (۳-۳-۲) ارزیابی کمیت DNA با استفاده از الکتروفورز ژل آگاروز
۴۷	..... (۴-۳-۲) انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR)
۴۷	..... (۱-۴-۳-۲) مقادیر و مواد مورد استفاده در PCR
۴۸	..... (۲-۴-۳-۲) آغازگرهای (Primer) مورد استفاده

۴۹	..... PCR چرخه حرارتی (۲-۴-۳-۲)
۵۰	..... PCR (۳-۴-۳-۲) پروفایل حرارتی واکنش
۵۰	..... PCR (۵-۳-۲) الکتروفورز محصول های
۵۰	..... تهیه ژل آگارز ۲٪ (۱-۵-۳-۲)
۵۱	..... تهیه ژل پلی اکریل آمید ۶ درصد (۲-۵-۳-۲)
۵۱	..... رنگ آمیزی ژل پلی اکریل آمید با نیترا ت نقره (۳-۵-۳-۲)
۵۲	..... هضم آنزیمی (۶-۳-۲)
۵۴	..... الکتروفورز محصول بدست آمده از هضم آنزیمی بر روی ژل پلی اکریل آمید ۱۲٪ .... (۱-۶-۳-۲)
۵۵	..... پرسش نامه (۴-۲)
	..... فصل سوم : نتایج
۵۷	..... (۱-۳) نتایج بررسی
۵۷	..... (۱-۱-۳) تعداد بیماران مورد مطالعه
۵۷	..... (۲-۱-۳) بررسی بیماران از نظر وجود سابقه مثبت بیماری در خانواده مبتلایان به اندومتريوز
۵۷	..... (۳-۱-۳) بررسی نشانه های بیماری در مبتلایان به اندومتريوز
۵۸	..... (۴-۱-۳) بررسی تست هورمونی افراد بیمار و سالم
۵۸	..... (۲-۳) نتایج بررسی های مولکولی
۵۸	..... (۱-۲-۳) بررسی کیفیت DNA استخراج شده
۵۹	..... الف) روش الکتروفورزی
۶۰	..... ب) روش اسپکتروفوتومتری برای تعیین کیفیت DNA



---

۶۰	..... PCR از نتایج حاصل از ۲-۲-۳
۶۱	..... الگوی هضم آنزیمی ۳-۲-۳
۶۳	..... بررسی فراوانی الی و ژنوتیپ در زنان مبتلا به اندومتریوز و زنان سالم ۴-۲-۳
۶۶	..... سطح هورمون استرادیول ۵-۲-۳
	..... فصل چهارم : بحث
۶۹	..... بحث ۱-۴
۷۴	..... پیشنهادات ۲-۴
۷۶	..... فهرست منابع

## فهرست شکل ها

عنوان	صفحه
شکل (۱-۱) طبقه بندی اندومتريوز .....	۶
شکل (۲-۱) جایگاه های عمل مهارکننده های آروماتاز در درمان اندومتريوز .....	۱۴
شکل (۳-۱) مسیر سنتز و کاتابولیسم استروژن و حساسیت بافت ها به استروژن .....	۲۳
شکل (۴-۱) مسیر متابولیسم و سنتز هورمون های استروئیدی .....	۲۷
شکل (۵-۱) تشکیل استروژن خارج تخمدانی در زنان .....	۳۳
شکل (۶-۱) مکانیسم پیشنهادی تنظیم بیان آروماتاز توسط SF-1 و CREB در اندومتريوز .....	۳۴
شکل (۷-۱) منشاء استروژن در زخم های اندومتريوتیک .....	۳۴
شکل (۸-۱) نقص غیرفعال شدن استرادیول در اندومتريوز .....	۳۶
شکل (۱-۲) پروفایل حرارتی واکنش PCR .....	۵۰
شکل (۲-۲) جایگاه هضم آنزیم MSPA1 بر روی ژنوم CYP17 نشان داده شده است .....	۵۳
شکل (۱-۳) مقایسه میزان هورمون استرادیول مابین افراد دارای اندومتريوز و کنترل .....	۵۸
شکل (۲-۳) تصویر DNA استخراج شده بر ژل آگارز ۱٪ با استفاده از کیت DNG™-plus .....	۵۹
شکل (۳-۳) محصول PCR ژن CYP17 بر روی ژل اکريل آمید ۶٪ در افراد سالم و بیمار .....	۶۱
شکل (۴-۳) الگوی هضم ژن CYP17 با استفاده از آنزیم برشگر MSPAII .....	۶۳
شکل (۵-۳) نتایج مربوط به ژنوتیپ های مشاهده شده در افراد سالم و بیمار .....	۶۵
شکل (۶-۳) نتایج مربوط به فراوانی الل های مشاهده شده در افراد بیمار و سالم .....	۶۶
شکل (۷-۳) مقایسه سطح هورمون استرادیول در افراد سالم و بیماران با ژنوتیپ های مختلف .....	۶۶

## فهرست جدول ها

صفحه	عنوان
۴۷	جدول ۱-۲) مواد مصرفی در PCR .....
۴۸	جدول ۲-۲) مشخصات آغازگرهای مورد استفاده .....
۴۹	جدول ۳-۲) چرخه حرارتی PCR .....
۵۲	جدول ۴-۲) مواد واکنشگر لازم برای آنزیم MspAII .....
۵۳	جدول ۵-۲) خصوصیات آنزیم MSPA1 مورد استفاده .....
۶۲	جدول ۱-۳) تعداد و طول قطعات ایجاد شده توسط آنزیم برشگر .....
۶۴	جدول ۲-۳) توزیع ژنوتیپهای MSPA1 از ژن CYP17 در افراد بیمار و کنترل .....
۶۵	جدول ۳-۳) فراوانی الی T و C در افراد سالم و بیمار .....

پلی مورفیسیم ژن CYP17 و احتمال ایجاد اندومتريوز  
علی بخشی

مقدمه: اندومتريوز بوسیله بافت اندومتريال اکتوپیک مشخص می شود که می تواند سبب قاعدگی دردناک، درد لگنی غیر دوره ای و نیمه باروری شود. تشخیص بیماری توسط لاپاراسکوپی انجام می شود اکثر رسوبات اندومتريال در لگن یافت می شود. اگرچه، علت و پاتوژنز دقیق آن روشن نیست. هر دو فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در این بیماری درگیر هستند. یک سری از مطالعات ژنتیکی ارتباط بین رشد ونمو اندومتريوز و پلی مورفیسیم ژنتیکی را آشکار کرده اند. با این وجود، ژنهایی که نقشی در بروز رشد و پیشرفت اندومتريوز بازی می کنند، دقیقاً شناخته نشده است. ژن *CYP17* که روی کروموزوم 10 قرار دارد و شامل 8 اگزون است که آنزیم  $\alpha$ -17 سیتوکروم P450 را کد می کند. این آنزیم فعالیت های هر دو استروئید،  $\alpha$ -17 هیدروکسیلاز و 17، 20- لیااز را میانجی گری می کند و یک نقش کلیدی در بیوسنتز آندروژن ها بازی می کند.

مواد و روش ها: کل تعداد افراد بیمار مبتلا به اندومتريوز و سالم در این 132 عدد بوده است. DNA ژنومیک از خون با روش کلروفرم- فنل استاندارد استخراج شد. ژنوتیپ های پلی مورفیسیم *MspA1* در منطقه 5'-UTR ژن *CYP17* بوسیله آنالیز PCR-RFLP بدست آمد.

نتایج: فرکانس ژنوتیپی بیماران مبتلا به اندومتريوز (TT=33%, TC=58%, CC=9%) نسبت به افراد کنترل (TT=36%, TC=64%, CC=00%) متفاوت می باشد. اختلاف در فرکانس اللی بین دو گروه قابل توجه نبود (P>0/05). فرکانس ال T و C بین بیماران مبتلا به اندومتريوز و سالم متفاوت می باشد، که 62/5 درصد در مقابل 37/5 درصد و 70 درصد در مقابل 30 درصد می باشد.

بحث: نتایج این مطالعه نشان می دهد که پلی مورفیسیم *MspA1* در منطقه 5'-UTR ژن *CYP17* ممکن است با احتمال ابتلا به اندومتريوز در جمعیت ایران ارتباط نداشته باشد. همچنین نتیجه گرفتیم که ژنوتیپ CC ممکن است با خطر بروز اندومتريوز ارتباط داشته باشد.

کلید واژه: اندومتريوز، پلی مورفیسیم ژن *CYP17*، PCR-RFLP، ژنوتیپ

**CYP17 gene polymorphisms and endometriosis in an Iranian population**

Ali Bakhshi

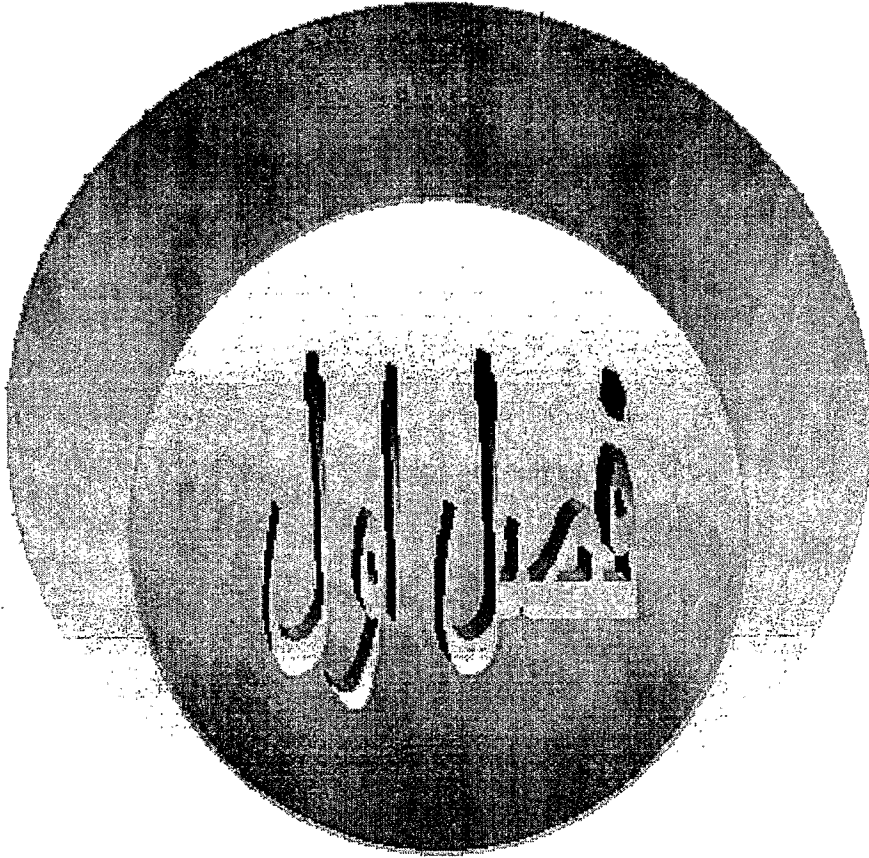
**Introduction:** Endometriosis is characterized by ectopic endometrial tissue, which can cause dysmenorrhoea, non-cyclical pelvic pain, and subfertility. Diagnosis is made by laparoscopy. Most endometrial deposits are found in the pelvis. Although the exact etiology and pathogenesis is unclear, both environmental and genetic factors have been implicated in the disease. A number of genetic studies have revealed association between the development of endometriosis and genetic polymorphisms, however, the exact genes that play a role in the susceptibility of development and progression of endometriosis is unknown. The *cyp17* gene, which is located on chromosome 10 and contains eight exons, encodes the cytochrome P45017 $\alpha$  enzyme. This enzyme mediates both steroid 17 $\alpha$ -hydroxylase and 17,20-lyase activities and plays a key role in androgen biosynthesis.

**Material and Methods:** The total number of 132 patients with endometriosis and healthy control women has been included in this study. Genomic DNA was prepared from blood using standard phenol-chloroform method. Genotyping of the *MspA1* polymorphism in the 5' untranslated region of the *CYP17* gene was determined by PCR-RFLP analysis.

**Results:** Genotype frequencies in the patients with endometriosis (TT=33%, TC=58% and CC=9%) were different from that in normal controls (TT=36%, TC=64% and CC=00%). The difference in allele frequency between two groups was not significant ( $P>0.05$ ). T and C Allele frequencies were different between patients with endometriosis and controls which was 62.5% versus 37.5% and 70% versus 30%, respectively ( $P>0.05$ ).

**Conclusion:** The results from this study suggest that *MspA1* polymorphisms in the 5' untranslated region of the *CYP17* gene may not be associated with the susceptibility of endometriosis in an Iranian population. It is also concluded that CC genotype may be associated with the risk of endometriosis.

**Key words :** Endometriosis, CYP17 gene polymorphism, PCR-RFLP, Genotype



مقدمه

## ۱-۱- مقدمه

اندومتريوز يك بيماری مزمن است كه به رشد بافت اندومتر ( غدد و استروما) در خارج از حفره رحمی اطلاق می شود (۱). تشخیص قطعی اندومتريوز، معمولاً پس از ارزیابی لاپاراسكویی و به دنبال بررسی های بافت شناسی بیوپسی ها انجام می گیرد. شیوع اندومتريوز بر حسب روش تشخیص فرق می کند. بر اساس بررسی های بافت شناسی روی نمونه های بیوپسی لگنی در زنانی كه جهت بستن لوله ها به پزشك مراجعه می کنند، شیوع اندومتريوز بدون علامت، از ۱ تا ۷ درصد متفاوت است (۲). بعلاوه، در زنانی كه به دلیل ناباروری اولیه به پزشك مراجعه می کنند، شیوع این بيماری ۹ تا ۵۰ درصد گزارش شده است (۳).

به دلیل عوارض بالینی متعدد، از جمله عادت ماهیانه دردناك<sup>۱</sup>، درد به هنگام مقاربت<sup>۲</sup>، اختلالات پرئود، لكه بینی و دردهای لگنی مزمن، این بيماری به شدت کیفیت زندگی را تحت تاثیر قرار می دهد و بر زندگی اجتماعی، جنسی و سلامت روانی فرد تاثیر می گذارد. از سویی، به دلیل رابطه اندومتريوز و ناباروری، چنانچه زنان مبتلا به اندومتريوز بارور هم نشود، کیفیت زندگی بیشتر پایین می آید.

علی رغم اینکه تقریباً بیش از يك قرن از زمان معرفی اندومتريوز توسط ون روکیتنسکی<sup>۳</sup> می گذرد (۴)، هنوز اطلاعات ما در مورد سبب شناسی این بيماری ناقص است. تئوری هایی گوناگون در مورد چگونگی پیدایش این بيماری پیشنهاد شده است. سه تئوری كه در حال حاضر پذیرفته شده اند. كه شامل:

۱- تئوری متاپلازی سلومیک<sup>۴</sup>: اندومتريوز از بقایای لوله های مولرین یا ولف و یا از متاپلازی بافت های تخمدانی یا صفاقی به وجود می آید. از جمله تئوری هایی است كه هنوز مورد قبول است (۵).

۲- تئوری القاء<sup>۵</sup>: اندومتريوز از تمایز سلول های مزانشیم به وجود می آید. این سلول ها در اثر مواد آزاد شده از اندومتر القاء می شوند و به داخل محوطه شکمی راه پیدا می یابند. بر این اساس، اندومتريوز

<sup>1</sup>- Dysmenorrhea

<sup>2</sup>-Dyspareunia

<sup>3</sup>- Von Rokitansky

<sup>4</sup>- Coelomic metaplasia theory

<sup>5</sup>- Induction theory

توسط مواد و ترکیبات خاص آزاد شده از اندومتر در حال ریزش به وجود می‌آید که باعث القاء اندومتريوز از بلاستما<sup>۱</sup> موجود در بافت همبند می‌شود.

۳- تئوری کاشته شدن یا قاعدگی برگشت پذیر<sup>۲</sup>: اندومتريوز از انتقال و لانه‌گزینی بافت اندومتر بر سطح صفاق به وجود می‌آید. بر اساس این تئوری سلول‌های اندومتر در زمان قاعدگی در طول لوله‌های فالوپ به ناحیه حفره شکمی انتقال می‌یابند و بر روی پرده صفاق جای می‌گیرند و بافت اندومتريوتیک را تشکیل می‌دهند (۶).

۴- تئوری سلول‌های بنیادی: رایج‌ترین نظریه درباره سبب‌شناسی اندومتريوز این است که سلول‌های اندومتريال طی چرخه ماهیانه وارد حفره صفاقی می‌شوند. با این وجود، این مطلب نیز به خوبی مشخص شده است که در ۹۰٪ زنان ورود خون ناشی از سیکل ماهیانه به حفره صفاقی اتفاق می‌افتد و از این رو فقط تعدادی از سلول‌های اندومتر در بعضی از این افراد می‌توانند باعث ایجاد ضایعات اندومتريوتیک شوند. احتمالاً در برخی از زنانی که دچار اندومتريوز می‌شوند، این سلول‌های بنیادی اندومتر هستند که در طی چرخه ماهیانه وارد حفره صفاق می‌شوند و به صفاق می‌چسبند. ضایعات اندومتريوتیک پایدار و قدیمی احتمالاً از سلول‌های بنیادی / اجدادی اندومتر سرچشمه گرفته‌اند (۷).

در بین تئوری‌های مطرح شده، تئوری برگشت محتویات خون قاعدگی به محوطه شکمی در بین محققان از ارزش بیشتری برخوردار است. از جمله شواهدی که در حمایت از این تئوری وجود دارد، می‌توان به دو مورد اشاره نمود:

۱- اندومتريوز بیشتر در زنان دچار نقص خروجی حفره رحمی<sup>۳</sup> دیده می‌شود (۸).

۲- انسداد نسبی سرویکس در بایون‌ها باعث القاء اندومتريوز در ۱۰۰٪ حیوانات در مدت زمان ۳ ماه می‌شود (۹).

<sup>۱</sup>- Blastema

<sup>۲</sup>- Retrograde menstruation

<sup>۳</sup>- Out flow of Uterine Cavity



با این حال، این نکته دارای اهمیت است که پدیده برگشت خون قاعدگی یا خونریزی در حفره شکمی، تقریباً در ۷۰ تا ۹۰٪ زنان وجود دارد و اندومتريوز در بسیاری از این موارد اتفاق نمی‌افتد. بنابراین، به نظر می‌رسد فاکتورهای دیگر در پاتوژنز اندومتريوز موثر باشند.

به طور کلی، عواملی نظیر برگشت خون قاعدگی، انتشار در سیستم گردش خون یا سیستم لنفی، مستعد بودن ژنتیکی، نقص سیستم ایمنی و یا دلایل محیطی، به عنوان فاکتورهای دخیل در پاتوژنز این بیماری معرفی شده‌اند (۱۰).

### ۱-۲) علائم اندومتريوز

اندومتريوز دارای علائم متنوع و متفاوتی می‌باشد اگرچه بسیاری از بیماران، بدون علامت می‌باشند. هیچ یک از علائم شاخص قطعی جهت تشخیص بیماری نمی‌باشد. تشخیص قطعی توسط لاپاراسکوپي و لاپاراتومی صورت می‌گیرد.

از تظاهرات اساسی اندومتريوز درد لگنی و ناباروری می‌باشد. میزان شیوع این بیماری در زنان نابارور حدود ۲۰-۴۰ درصد گزارش شده است. نشانه‌های دیگر این بیماری شامل موارد زیر می‌باشد:

- مقاربت جنسی دردناک یا دیس‌پارونیا که ممکن است در طول مقاربت و ۴۸ ساعت بعد از آن احساس شود.

- قاعدگی دردناک بیشترین علامت مشترک بین زنان می‌باشد که ممکن است در هر نقطه از ناحیه لگنی بروز نماید. درد ممکن است در ناحیه پشت، باسن و ران منتشر شود.

- درد در هنگام تخمک‌گذاری که معمولاً فقط در یکی از تخمدانها احساس می‌شود و معمولاً ۲۴-۱۲ ساعت قبل از تخمک‌گذاری شروع می‌شود و ممکن است تا بیشتر از ۵ روز طول بکشد.

- درد در ناحیه مثانه - درد در موقع ادرار کردن که معمولاً نتیجه اندومتريوز کاذب خارج مثانه یا سوزش حاصل از لانه‌گزینی اندومتريال کاذب در جلوی رحم می‌باشد.

- ناراحتی حفره لگنی مزمن که شامل درد ناحیه پایین تر کمر و درد لگنی که به طور ثابت یا متناوب تجربه می‌شود.

- هیپرمنوره - خونریزی زیاد و لکه بینی قبل از قاعدگی از دیگر علائم اندومتريوز می‌باشد.

- علائم گوارشی - شامل درد شکمی، تهوع و استفراغ، نفخ و اتساع شکم و یبوست بوده که همه آنها همزمان با قاعدگی بروز یا تشدید می‌یابند.

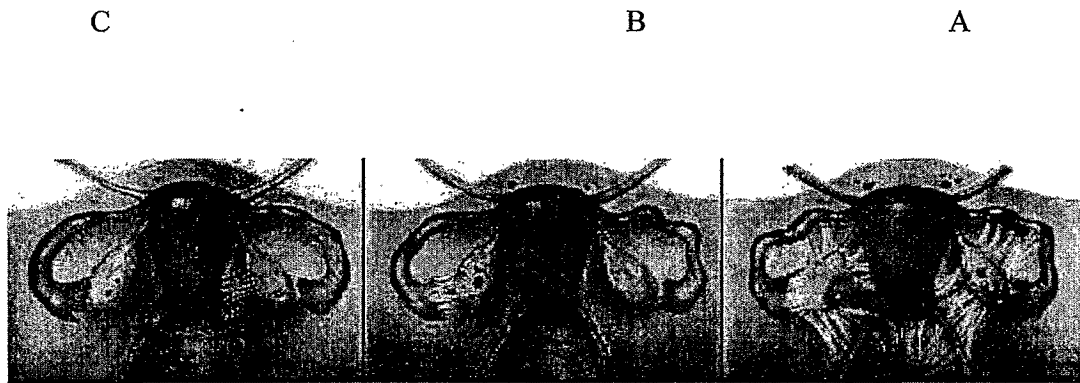
- نقص سیستم ایمنی و امکان حساسیت و آمادگی برای ایجاد سایر بیماری‌ها

- کیست‌های پر از خون و تشکیل زخم‌ها در حفره صفاق

- ناباروری - از بدترین علائم در اندومتريوز است. ناباروری ناشی از آسیب تخمدان و لوله فالوپ به علت اندومتريوز شدید می‌باشد (۱۱).

### ۱-۳) طبقه بندی اندومتريوز

در مشاهدات لاپاراسکوپی ممکن است تنوع وسیعی از لانه گزینی اندومتريال با رنگ، شکل و اندازه مختلف دیده شود که اندازه آنها از یک لکه کوچک تا اندازه یک میوه تو سرخ متغیر است. رنگ لکه ها روشن، قرمز، سیاه یا سفید باشد و بیشتر بر روی سطح صفاق دیده می‌شود. در تشخیص کلینیکی شدت اندومتريوز بر اساس تعداد، اندازه و جایگاه لانه گزینی، چگونگی فشار، بر روی بافت های سالم، وسعت و شدت چسبندگی ها، بیماران را در یکی از چهار مرحله: مرحله I: بیماری خفیف، مرحله II: بیماری متوسط ، مرحله III و IV: بیماری شدید قرار می‌دهند(۱۲).



شکل ۱-۱) A - حالت خفیف : لانه گزینی کم عمق روی آستر لگنی و روی یکی از تخمدان ها و روی تخمدان دیگر چسبندگی غبار مانند B- حالت متوسط : لانه گزینی عمیق روی آستر لگنی و یک تخمدان و چسبندگی متراکم روی دیگر تخمدان C- حالت شدید: لانه گزینی عمیق روی تخمدان ها و با چسبندگی متراکم روی تخمدان، لوله فالوپ و آستر لگنی مشخص می شود (۱۲).

#### ۱-۴) روش های تشخیص بیماری

ارزیابی بیماران ابتدا با بررسی الگوهای بالینی و معاینه فیزیکی آغاز می گردد و با روشهای تصویربرداری، به ویژه سونوگرافی ترانس واژینال پیگیری می شود. در سال های اخیر، روشهایی همچون استفاده از اولتراسوند و <sup>1</sup>MRI در تشخیص اندومتریوز مطرح شده است. به کمک این روش ها می توان ناحیه لگنی و همچنین، هرگونه گسترش نابجای اندومتر در سطح روده و کیسه صفرا را ارزیابی نمود. کلید طلایی در تشخیص بالینی اندومتریوز دید مستقیم ضایعات است که از طریق روشهای تهاجمی مانند لاپاراسکوپی صورت می گیرد و سپس بافت خارج شده توسط پاتولوژیست تأیید می گردد. بررسی مستقیم در لاپاراسکوپی معایبی دارد، چرا که روشی تهاجمی است و نیاز به بیهوشی عمومی و مهارت جراح دارد و

<sup>1</sup>-Magnetic Resonance Imaging

احتمال خطرانی مثل آسیب به عروق و روده نیز وجود دارد. همچنین، بررسی لگن، به ویژه ضایعات رتروپریتوئن و عمیق محدودیت‌هایی دارد. گاهی اندومتریوما با کیست‌های هموراژیک یا تومورهای بدخیم تخمدان اشتباه می‌شود و برخی اوقات چسبندگی‌های ایجاد شده توسط اندومتریوز یا چسبندگی‌های عفونی یا پس از جراحی قابل اشتباه است (۱۳).

تشخیص قطعی بافت‌شناسی اندومتریوز زمانی امکان‌پذیر است که غدد و استرومای اندومتر در کنار هم در مناطق خارج رحمی دیده شوند و علائم خونریزی مکرر را نشان دهند. به دلیل قدرت بالای متاپلازی در سلول‌های مزوتلیال که می‌توانند کیست‌هایی با پوشش شبیه اندومتر ایجاد کنند، دیدن غدد به تنهایی روش تشخیصی نبوده و دیدن استرومای اندومتر برای تشخیص قطعی اندومتریوز الزامی و در واقع اختصاصی‌ترین یافته استروماست. تشخیص بافت‌شناسی اندومتریوز ممکن است بسیار مشکل باشد چرا که تغییرات ثانویه ناشی از خونریزی و فیبروز در ضایعه رخ می‌دهد و می‌تواند ضایعات را به بافت گرانولاسیون، فیبروز و هیستوسیت‌های متعدد تبدیل کند. هیستوسیت‌هایی که به آنها سلول‌های پسودوگرانولوما نیز گفته می‌شود و در بردارنده محصولات تخریب سلول‌های قرمز خون، بویژه سروئید (لییوفوشین و هموفوشین) هستند. این سلول‌ها دارای قدرت اتوفلورسانس و خاصیت سروئید هستند و برخلاف تصور اغلب افراد، هموسیدرین در این سلول‌ها کمتر دیده می‌شود. در شرایطی که استروما بدون غدد یا غدد بدون استروما با علائمی از خونریزی مکرر دیده شوند، تشخیص اندومتریوز قطعی نخواهد بود و باید به صورت تشخیص احتمالی مطرح گردد. در شرایطی که هیچ علامتی از غده یا استروما در کیست‌های هموراژیک لگن و تخمدان نباشد، تشخیص اندومتریوز را با قطعیت کمتری توان اعلام نمود. همیشه بیوپسی از ضایعات برای رد احتمال بدخیمی الزامی است (۱۳).

با توجه به اینکه در نمونه‌های بافتی همیشه تشخیص قطعی امکان‌پذیر نیست، پاتولوژیست‌ها از روش‌های تکمیلی برای تشخیص بهتر و دقیق‌تر استفاده می‌نمایند.