

## مقایسه اثر سیکلوفم و دی مدروکسی پروژسترون استات تزریقی بر ساختمان رگ‌های آندومتر

دکتر معصومه سیمبار<sup>۱\*</sup>، دکتر فهیمه رمضان<sup>۲</sup>، دکتر زینب هاشمی<sup>۳</sup>، دکترهانیه ژاه<sup>۴</sup>، علی احمد بیات<sup>۵</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** شایع‌ترین علت قطع مصرف روش‌های طولانی اثر حاوی فقط پروژسترون مانند دی‌مدروکسی پروژسترون استات (DMPA). تزریقی، خونریزی‌های نامنظم قاعدگی به دنبال تغییرات موضعی در ساختمان رگ‌های آندومتر ذکر شده است. برای کاهش این مشکل روش‌های تزریقی مختلط مانند سیکلوفم که روش تزریقی یک ماهه حاوی DMPA و سیپرونات استرادیول است به متقاضیان پیشنهاد شد، اما این که تا چه اندازه روش‌هایی مانند سیکلوفم می‌توانند در کاهش خونریزی‌های نامنظم و یا کاهش تأثیر بر ساختمان رگ‌های آندومتر موفق باشند، هنوز معلوم نیست. این مطالعه با هدف مقایسه اثرات سیکلوفم و DMPA بر تراکم رگ‌های آندومتر، هیستولوژی آندومتر، الگوی خونریزی و تعداد روزهای خونریزی انجام گرفت.

**موارد و روش‌ها:** در این کارآزمایی بالینی ۶۸ زن سالم، با دوره منظم قاعدگی و مصرف روش‌های پیشگیری از بارداری تزریقی شرکت کردند. از هر زن، دو نمونه آندومتر، یکی قبل از اولین تزریق سیکلوفم یا DMPA و دیگری ۳ تا ۶ ماه بعد از مصرف آنها با استفاده از پایپل ساکشن کورت گرفته شد. سپس نمونه‌ها با استفاده از هماتوکسیلین اتوزین برای مطالعات هیستولوژیک و نیز با استفاده از روش‌های ایمونو هیستوشیمی و آنتی CD۳۴ برای مشخص کردن مویرگ‌های آندومتر مورد رنگ آمیزی قرار گرفتند. کارت تقویم قاعدگی را هر زن به طور ماهیانه تکمیل می‌کرد. رگ‌های آندومتر توسط دو محقق به صورت بی‌خبر با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ شمرده و تراکم به میلی‌متر مربع محاسبه می‌شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS، ویرایش ۱۱/۵ و آزمون‌های تی، همبستگی پیرسون و تی مزدوج در سطح معنی‌دار ۹۵ درصد انجام شد.

**یافته‌ها:** ۶۸ زن در دو گروه ۳۰ و ۳۸ نفره، که به ترتیب DMPA و سیکلوفم را به عنوان روش پیشگیری از بارداری پذیرفته بودند در این مطالعه شرکت کردند. تراکم رگ‌های آندومتر زنان قبل از تزریق  $152 \pm 5/mm^2$  بود که بعد از مصرف DMPA به  $144 \pm 9/4/mm^2$  و بعد از مصرف سیکلوفم به  $131 \pm 12/mm^2$ ، به طور معنی‌داری کاهش می‌یافت. اما مقایسه میانگین تراکم رگ‌های آندومتر در دو گروه تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌داد. تعداد روزهای خونریزی و لکه بینی در سه ماهه اول و دوم پس از مصرف DMPA به ترتیب  $28 \pm 4/6$  و  $18 \pm 4/4$  روز بود که در مقایسه با مصرف کنندگان سیکلوفم که به ترتیب  $25 \pm 4/6$  و  $16 \pm 4/2$  روز بود، تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌داد. شایع‌ترین شکل خونریزی در مصرف کنندگان هر دو روش لکه بینی بود که در مصرف کنندگان DMPA  $14 \pm 5$  روز و در مصرف کنندگان سیکلوفم  $12 \pm 3/8$  روز بود که این تفاوت نیز معنی‌دار نبود. رگ‌های متسع در نزدیکی سطح اپی تلیال آندومتر مصرف کنندگان DMPA مشاهده شد. شایع‌ترین نمای هیستولوژیک در مصرف کنندگان هر دو روش نمای آتروفیک آندومتر بود. ارتباط معنی‌داری بین تعداد روزهای خونریزی در سه ماه گذشته و تراکم رگ‌ها در هیچ یک از دو گروه وجود نداشت.

**نتیجه گیری:** این مطالعه نشان داد که سیکلوفم و DMPA هر دو، موجب کاهش تراکم رگ‌های آندومتر و آتروفیک شدن آندومتر و ایجاد خونریزی نامنظم می‌شوند که بیشتر به شکل لکه بینی است و تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان نمی‌دهند. به نظر می‌رسد که برای ارتقای میزان پذیرش روش‌های تزریقی طولانی اثر تحقیقات بیشتری برای کاهش عوارض جانبی و خونریزی‌های نامنظم لازم است.

\*۱. نویسنده مسؤول: استادیار، گروه مامایی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی. آدرس برای مکاتبه: تهران خیابان شریعی، جنب بیمارستان کودکان مفید، دانشکده پرستاری و مامایی

Email: msimbar@yahoo.com

۲. دانشیار، مرکز ملی تحقیقات بهداشت باروری، معاونت پژوهشی وزارت بهداشت

۳. مدیر بهداشت مدارس قزوین، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

۴. استادیار دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ۵. کارشناس، پژوهشکده باروری و ناباروری ابن سینا

## واژگان کلیدی: DMPA، سیکلوفم، خونریزی غیرطبیعی، رگ‌های آندومتر

## مقدمه

روش‌های پیشگیری از بارداری حاوی فقط پروژسترون را حدود ۲۰ میلیون زن در سطح دنیا استفاده می‌کنند. مشکل عمده این روش‌ها اختلال در قاعدگی به ویژه در ماه‌های اول استفاده است. تقریباً نیمی از زنانی که این روش‌ها را قطع می‌کنند، اختلال در خونریزی را اولین دلیل قطع آن بیان می‌کنند (۱). دیپومدرکسی پروژسترون استات یا DMPA سوسپانسیون محلول در آب ۱۷- استوکسی ۶- متیل پروژستین است که از طریق عضلانی به عنوان روش پیشگیری طولانی اثر استفاده می‌شود. مدروکسی پروژسترون استات نیم ساعت پس از تزریق ۱۵۰ میلی‌گرم آن در سرم قابل کشف است. غلظت خونی آن عموماً در سطح ثابت ۱ ng/ml، حدود ۳ ماه ثابت باقی می‌ماند و بعد از آن تدریجاً کاهش می‌یابد (۲). تغییر در الگوی قاعدگی شایع‌ترین علت قطع DMPA ذکر شده است (۳). بنابراین علت اصلی عرضه روش‌های پیشگیری از بارداری مختلط یک ماهه تزریقی، نیاز به روش طولانی اثری بوده است که الگوی خونریزی منظمی به دنبال داشته باشد. مقالات زیادی موجود است که نشان می‌دهند روش‌های مختلط استروژن و پروژسترون یک ماهه تزریقی مانند سیکلوفم که حاوی ۲۵ میلی‌گرم مدروکسی پروژسترون استات و ۵ میلی‌گرم استرادیول سیپرونات است، الگوی خونریزی منظم‌تری را نسبت به روش‌های طولانی اثر حاوی فقط پروژسترون به دنبال دارند، اما این الگو نیز کاملاً طبیعی نیست. اختلالات خونریزی دهنده اغلب در مصرف کنندگان سیکلوفم نسبت به مصرف کنندگان DMPA کمتر است (۴)، اما در آنان نیز علت اصلی قطع مصرف به شمار می‌رود (۵ و ۶). روش‌های تزریقی یک ماهه پذیرش خوبی دارند، هرچند زنان ناچارند برای تزریق، هر ۲۷ تا ۳۳ روز به درمانگاه مراجعه کنند (۷).

اختلال در خونریزی قاعدگی در مصرف کنندگان روش‌های تزریقی حاوی پروژسترون با تغییرات موضعی در ساختمان مویرگ‌های آندومتر همراه است. مکانیسم این خونریزی‌ها ناشناخته است و با سطح پلاسمایی هورمون‌های استروئیدی درون ریز و برون ریز به طور واضح در ارتباط نیست (۸). این تغییر در ساختمان رگ‌های آندومتر بعد از استفاده از روش‌های حاوی پروژسترون با دوز کم نشان داده شده است (۹ و ۱۰)، اما تا به حال پس از مصرف روش‌های طولانی اثر مختلط یک ماهه تزریقی مورد مطالعه قرار نگرفته است.

در چند مطالعه تلاش شده است تا اثر روش‌های پیشگیری حاوی فقط پروژسترون را بر ساختمان رگ‌های آندومتر نشان دهند. افزایش در تراکم رگ‌های آندومتر پس از استفاده از نورپلانت (۱۱ و ۱۲) نشان داده شده است، در حالی که پس از استفاده از دوزهای متوسط و زیاد پروژستون‌ها کاهش یافته است (۱۳). به علاوه، در زنانی که دانازول یا آگونیسست‌های GnRH استفاده می‌کنند، تراکم رگ‌های آندومتر باقی می‌ماند (۱۴). به نظر می‌رسد که استروئیدهای جنسی آگروژن ممکن است ارتباط محکم و طبیعی بین رشد سلول‌های اندوتلیال و مویرگ‌ها و همچنین غدد و اجزای آندومتر را مختل کنند.

این مطالعه با تعیین و مقایسه تراکم رگ‌های آندومتر در ماه‌های اول استفاده از DMPA و سیکلوفم و مقایسه آنها قبل و پس از استفاده تلاش می‌کند تا بدین سؤال پاسخ گوید که آیا اضافه کردن استرادیول به پروژستون در روش‌های تزریقی مختلط مانند سیکلوفم می‌تواند از تغییراتی که پس از مصرف روش‌های حاوی فقط پروژسترون با دوز کم، مانند DMPA ایجاد می‌شود پیشگیری کند. به علاوه، ارتباط بین تراکم رگ‌ها با الگو و تعداد روزهای خونریزی مورد بررسی قرار می‌گیرد.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه کارآزمایی بالینی، ۶۸ زن ۱۸ تا ۴۰ ساله، بدون سابقه طبی یا جراحی، داری دوره منظم قاعدگی و خواهان یک روش طولانی اثر، که از مرداد ماه ۱۳۸۰ تا شهریور ۱۳۸۲ به بخش تنظیم خانواده مرکز بهداشت نمونه قزوین مراجعه کرده و شرایط مطالعه را پذیرفته بودند، شرکت کردند. ۳۸ نفر DMPA و ۳۰ نفر سیکلوفم را به عنوان روش پیشگیری از بارداری برگزیدند. این افراد کاملاً در جریان شرایط مطالعه قرار گرفتند و در صورت قبول شرایط مطالعه، اجازه نامه کتبی قبل از شرکت در تحقیق از آنان اخذ می‌شد.

DMPA (۱۵۰ میلی‌گرم دیپومدرکسی پروژسترون استات، شرکت آپجان) و سیکلوفم (۲۵ میلی‌گرم DMPA و ۵ میلی‌گرم استرادیول سیپرونات، فارماکو تیکاس مکزیکو) طی ۷ روز بعد از خونریزی قاعدگی شروع می‌شد. DMPA هر سه ماه و سیکلوفم هر ماه با استفاده از یک سرنگ ۲ تا ۵ میلی‌لیتر و سر سوزن شماره‌های ۲۱ تا

برش‌های بافتی قرار می‌گرفت. پس از آبکشی با بافر، محلول بی‌ضرر پروتئین (سرم طبیعی ۵٪ بز) به مدت ۵ دقیقه در حرارت اتاق برای بلاک کردن رنگ آمیزی نواحی شارژ شده در بافت کلاژن و پیوندی به کار برده می‌شد. برش‌های بافتی با آنتی CD۳۴ برای ۳۰ دقیقه در حرارت اتاق قرار داده می‌شد. کروموژن زمینه Universal AEC-Red (Envision® System, Peroxidase AEC version K1393, Dako, Carpinteria, CA) بود که به مدت ۱۰ دقیقه در حرارت اتاق قرار داده می‌شد. در هر نوبت از رنگ آمیزی یک کنترل منفی که در آن به جای آنتی بادی اولیه از سرم موش نان ایمون استفاده می‌شد و در کنترل مثبت که یک آندومتر طبیعی قرار می‌گرفت، همه بافتها با هماتوکسیلین مایر (Merck, Darmstadt, Germany) و با مدیوم محلول در آب سرپوش گذاشته می‌شد (Paramount, Dako, Carpinteria, CA) و با میکروسکوپ نوری و عدسی چشمی (Olympus BH2, Olympus Optical, Tokyo, Japan) مورد بررسی قرار می‌گرفت. روند رنگ‌آمیزی در انستیتو سرطان تهران انجام شد.

نمونه‌هایی که حداقل در ۱۰ منطقه مختلف، با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ قابل شمارش بودند، برای مطالعه مناسب در نظر گرفته می‌شدند، حتی اگر لومنی مشاهده نمی‌شد. همه ساختمان‌های قرمز رنگ مثبت در نظر گرفته می‌شدند. همه اسلایدها به صورت بی‌خبر و با عدسی از قبل کالیبره شده یا اسلاید میکرومتر شمرده می‌شدند. دو نفر اسلایدها را با استفاده از روش‌های یکسان مورد شمارش قرار می‌دادند. از نتایج میانگین گرفته می‌شد و به صورت تعداد رگ در میلی‌متر مربع محاسبه می‌گردید. عکس‌ها با دوربین المپوس دیجیتال مدل C۲ ۵۰۰L گرفته شد. شمارش رگ‌ها و گرفتن عکس‌ها در پژوهشکده باروری و ناباروری ابن سینا انجام گردید. افراد مورد مطالعه روزهای لکه بینی یا خونریزی را بر کارت تقویم قاعدگی خود ثبت می‌کردند. خونریزی به عنوان هرگونه ترشح خونی که نیازمند محافظت با پد یا تامپون بود، تعریف می‌شد، در حالی که بلکه بینی به صورت هر گونه ترشح خونی، به قدری که نیازمند محافظت با پد نباشد، تعریف می‌شد (۱۷).

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۱/۵ انجام گرفت. آزمون تی مزدوج برای مقایسه تراکم رگ‌ها در دو گروه قبل و بعد از مصرف و آزمون تی برای مقایسه تراکم رگ‌های آندومتر و مقایسه تعداد روزهای خونریزی، بعد از مصرف سیکلوفم و DMPA استفاده شد. آزمون همبستگی پیرسون نیز برای بررسی همبستگی بین تراکم رگ‌ها بعد از مصرف روش‌ها با تعداد روزهای

در عضله دلتوئید شرکت کنندگان تزریق می‌شد. شرکت کنندگان پس از تزریق اول، و در صورت نیاز در ویزیت‌های بعدی در مورد احتمال بروز خونریزی‌های نامنظم مورد مشاوره قرار می‌گرفتند. قبل از اولین تزریق سیکلوفم یا DMPA، بیوپسی آندومتر و دیگری ۳ تا ۶ ماه بعد از تزریق با استفاده از پاپیل ساکشن کورت (Prodimed, Cornier, Neully-en-Theille, France) انجام می‌شد. نمونه‌های بیوپسی بلافاصله در فرمالین ۱۰ درصد در دمای ۰° ۴ سانتیگراد حدود ۴ تا ۶ ساعت قرار داده می‌شدند و سپس در فسفات بافر سالین PBS در ۴۰° سانتیگراد تا زمان فرآوری نگهداری می‌شدند. بافت‌های آندومتر با پارافین قالب‌بندی می‌شدند و با برش‌های ۳μm روی اسلایدها سایلانایز شده، برای رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین (H&E) یا ایمونوهیستوشیمی قرار داده می‌شدند.

طبقه‌بندی هیستولوژیک آندومتر طبیعی قبل از تزریق بر طبق معیارهای نوین (۱۵) انجام گردید و برای بیوپسی‌های آندومتر بعد از تزریق از طبقه‌بندی هیستولوژیک زیر استفاده شد (۱۶):

- ۱) تزیادی: نمای مطابق با مرحله تزیادی دوره قاعدگی طبیعی،
- ۲) ترشچی: نمای هیستولوژیک مطابق با نمای ترشچی دوره قاعدگی طبیعی،
- ۳) ریزشی: نشانه‌های قطعی ریزش، مانند شکست بافت و ترومبوز فیبری و نبودن نشانه‌ای از مرحله ترشچی،
- ۴) آتروفیک: آندومتر آتروفیک با استرومای غلیظ، کاهش غدد و با سلول‌های اپی تلیال کوچک، مکعبی یا ستونی کوتاه و دسیدوای کاذب استروما
- ۵) پروژستوزنیک: نشانه‌هایی از اثرات پروژستوزنیک با غدد کوچک و با اپی تلیوم مکعبی یا ستونی کوتاه اپی تلیوم و دسیدوای کاذب استروما.

سیستم دو مرحله (Dako Envision® K1393, Dako, Carpinteria, CA) polymer) برای رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی ساختمان رگ‌های آندومتر استفاده شد. در سیستم ظهور، از پلیمر نشان داد شده با پراکسیداز قبلاً رقیق و کنزورگه شده با آنتی‌بادی‌های ثانویه ایمونوگلوبین‌های خرگوش و موش استفاده شد. ساختمان رگ‌های کوچک آندومتر با استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال موش علیه آنتی ژن CD۳۴ انسان (Q Bend 10, Novacastra, Newcastle, UK) که روی غشای سلول‌های اندوتلیال ظاهر می‌شود، نشان داده شد. پس از دیواکس و ریدراتاسیون، برای از بین بردن فعالیت پراکسیداز بافتی، هیدروژن پراکسیداز ۰/۰۳٪، ۵ دقیقه در حرارت اتاق بر روی

مربع ( $p < 0.05$ ) و در ۱۶ نفر از گروه DMPA به ترتیب  $152 \pm 5$  و  $144 \pm 9$  عدد در میلیمتر مربع ( $p < 0.05$ ) بود. اختلاف تراکم رگها در دو گروه بعد از دریافت دارو دیده نشد. لکه بینی رایج ترین الگوی خونریزی در هر دو گروه مصرف کننده سیکلوفم و DMPA بود. در نمودار زیر تعداد روزهای لکه بینی و خونریزی، در سه ماهه اول مصرف در دو گروه مصرف کننده سیکلوفم و DMPA نشان داده شده است.

#### نمودار الگوی خونریزی در مصرف کنندگان سیکلوفم و DMPA

آزمون همبستگی پیرسون ارتباط معنی داری را بین تراکم رگها بعد از مصرف روشها با تعداد روزهای خونریزی در ۳۰ روز گذشته (قبل از گرفتن بیوپسی دوم) نشان نداد. تعداد روزهای خونریزی و لکه بینی در سه ماه اول و دوم پس از مصرف DMPA به ترتیب  $28 \pm 4/6$  و  $18 \pm 4/4$  روز و پس از مصرف سیکلوفم به ترتیب  $25 \pm 4/6$  و  $16 \pm 4/2$  روز بود. اختلاف مشاهده دسه به لحاظ آماری معنی دار نبود.

#### بحث

اثر سیکلوفم و DMPA بر تراکم رگهای آندومتر تا به حال مورد مطالعه قرار نگرفته است. این مطالعه برای اولین بار تغییرات رگهای کوچک آندومتر را در مصرف کنندگان روش پیشگیری از بارداری تزریقی سه ماهه حاوی فقط پروژسترون DMPA با روش تزریقی یک ماهه مختلط حاوی استروژن و پروژسترون (سیکلوفم) مقایسه می کند. این مطالعه نشان داد که کاهش معنی داری در تراکم رگهای آندومتر در هر دو گروه مصرف کننده سیکلوفم و DMPA به دنبال حداقل ۳ ماه مصرف، نسبت به قبل از مصرف و آندومتر طبیعی رخ می دهد. با وجود این، تفاوت معنی داری بین تراکم رگها بین دو گروه پس از مصرف وجود نداشت. یعنی، هر دو روش تراکم

خونریزی در سه ماه گذشته استفاده شد. سطح اطمینان برای همه آزمونها ۹۵ درصد بود. قابل ذکر است که قبل از انجام تحقیق تأیید کمیته اخلاقی وزارت بهداشت و مسؤولان مرکز ملی تحقیقات نیز کسب شده بود.

#### یافته ها

میانگین سن شرکت کنندگان در این مطالعه  $26 \pm 0/96$  و با دامنه ۱۸ تا ۴۰ سال بود. برخی از مشخصات جمعیت شناختی و مامایی دو گروه در جدول زیر مقایسه شده است که با استفاده از آزمون تی، تفاوت معنی داری بین دو گروه وجود نداشت ( $p < 0.05$ ).

#### جدول مشخصات جمعیت شناختی و مامایی مصرف کنندگان

##### روش های پیشگیری از بارداری تزریقی سیکلوفم و DMPA

مشخصات	سیکلوفم		DMPA	
	میانگین	SD	میانگین	SD
سن	۲۵/۷۲	۵/۷	۲۶/۸۷	۵/۲
سن ازدواج	۱۷/۹۴	۴/۰۳	۱۷/۷۲	۲/۸
سن اولین بارداری	۱۹/۱۱	۳/۵۸	۱۸/۱۰	۴/۳۹
تعداد بارداری	۱/۹۷	۱/۱۵	۲/۰۷	۱/۹۷
تعداد زایمان	۱/۸۳	۱/۰۵	۱/۹۰	۰/۸۶
تعداد سقط	۰/۲۲	۰/۴۲	۰/۱۷	۰/۴۵
تعداد بچه مرده	۰/۰۳	۰/۱۶	۰/۰۰	۰/۰۰
تعداد بچه زنده	۱/۶۷	۱/۰۷	۱/۹۰	۰/۹۸
سن اولین قاعدگی	۱۳/۴۷	۱/۶۱	۱۳/۵۷	۱/۳۷

نمای هیستولوژیک آندومتر در ۱۲ و ۲۲ نفر از گروه سیکلوفم و ۱۶ و ۱۲ نفر از گروه DMPA قبل از دریافت دارو به ترتیب تزایدی و ترشچی گزارش شد. شش نمونه (۴ مورد گروه سیکلوفم و ۲ نمونه از گروه DMPA به علت ناکافی بودن بافت حذف شدند). بعد از دریافت دارو نمای هیستولوژیک آندومتر در ۱۳، ۱ و ۳ نفر از گروه سیکلوفم به ترتیب آتروفیک، تزایدی و بازال (میومتر) و در ۱۷، ۱، ۲ و ۳ نفر از گروه DMPA به ترتیب آتروفیک، تزایدی، پروژوستوژنیک و بازال (میومتر) گزارش شد. در مرحله بعد از دریافت داروها از گروه سیکلوفم و DMPA نمونه های آندومتر به ترتیب در ۲۱ و ۷ نفر به علت مشکل بودن مراجعه ماهانه، خونریزی غیر طبیعی یا ناکافی بودن یا فقدان بافت بررسی نشد.

میانگین تعداد رگهای آندومتر در ۱۳ نفر از گروه سیکلوفم قبل و بعد از دریافت دارو به ترتیب  $152 \pm 5$  و  $131 \pm 12/8$  عدد در میلیمتر

رگ‌های آندومتر را تغییر می‌دهند. تغییر در تراکم رگ‌های آندومتر در چند مطالعه دیگر برای بررسی مکانیسم خونریزی breakthrough در مصرف کنندگان روش‌های پیشگیری از بارداری حاوی پروژسترون با دوز کم مانند IUD و نورپلانت حاوی لوونورجسترل نیز نشان داده شده است. اما این تغییر به شکل کاهش در تراکم در مصرف کنندگان LNG-IUS (۲۰-۱۸) و افزایش در مصرف کنندگان نورپلانت نشان داده شده است (۱۱ و ۱۲). در آندومتر موش نیز افزایش معنی دار تراکم رگ‌های آندومتر به دنبال مصرف ابزارهای کاشتنی مدروکسی پروژسترون استات یا لوونورجسترل در مقایسه با دوره طبیعی نشان داده شده است (۲۱). به نظر می‌رسد که تغییر در تراکم رگ‌های آندومتر بستگی به نوع هورمون، دوز مصرف و سیستم حامل در روش پیشگیری از بارداری دارد. به علاوه، به نظر نمی‌رسد که اضافه کردن ۵ میلی‌گرم استرادیول سیپرونات به DMPA در سیکلوفم بتواند از تغییر در ساختمان رگ‌های آندومتر که به دنبال مصرف DMPA ایجاد می‌شود، پیشگیری کند.

رگ‌های متسع سطحی در برخی نمونه‌های آندومتر مصرف کنندگان DMPA و یکی از نمونه‌های مصرف کنندگان سیکلوفم دیده شد. وجود رگ‌های متسع در آندومتر مصرف کنندگان روش‌های پیشگیری طولانی اثر حاوی فقط پروژسترون با دوز کم مانند مصرف کنندگان نورپلانت، ابزار داخل رحمی حاوی لوونورجسترل قبلاً نیز نشان داده شده بود (۱۱، ۱۴، ۲۲ و ۲۳). اگرچه مطالعات ایمنوهایستوشیمیایی (مانند مطالعه حاضر) با محدودیت‌هایی همچون نمونه‌گیری از یک منطقه محدود آندومتر رو برو است، اما مطالعه حاضر توانست این الگو را در ساختمان رگ‌های آندومتر نمونه‌های مصرف کنندگان حاضر DMPA نشان دهد. مطالعه هیستروسکوپی وجود رگ‌های متسع نزدیک به سطح آندومتر را در یک سوم از مصرف کنندگان نورپلانت نشان داده است. با وجود این، رگ‌ها با وقوع خونریزی breakthrough در ۳۰ روز آخر مصرف همراه بوده و مشخص شده است که این رگ‌ها محل خونریزی‌های breakthrough هستند.

(۱۴). تغییر در ساختار رگ‌های آندومتر به ویژه افزایش شکنندگی آنها به دنبال کاهش اجزای تشکیل دهنده غشای پایه مانند کلاژن IV، و لامینین و هیپارن سولفات پروتئوگلیکن (۲۴) ممکن است در ایجاد این خونریزی‌ها دخیل باشد. غشای پایه ساختمان بسیار نازکی است که قسمت اعظم آن را کلاژن IV و لامینین تشکیل می‌دهند و با استفاده از میکروسکوپ الکترونی پایه سلول‌های آندوتلیال و اپی‌تلیال را می‌سازند. مطالعات ایمنوهایستوشیمی در مصرف

کنندگان پروژستین‌ها با دوز کم تغییراتی را در شکل، تراکم و جمعیت سلولهای مهاجر نشان داده است. به عنوان مثال، در مصرف کنندگان نورپلانت در ماههای اول استفاده از آن، نقص در لامینین غشای پایه دیده می‌شود، یعنی زمانی که بیشترین مشکل خونریزی وجود دارد. علاوه بر آن، مطالعات هیستروسکوپی افزایش شکنندگی را در رگ‌های سطحی این مصرف کنندگان نشان داده است (۲۴). مطالعات دیگری نیز پیشنهاد می‌کنند که این تغییرات می‌تواند به دنبال تغییر در جمعیت لکوسیت‌ها و متالوپروتئین‌های ماتریکس و اجزای غشای پایه و در نتیجه ریزش آندومتر زنان مصرف کننده روش‌های پیشگیری حاوی فقط پروژستین اتفاق بیفتند (۲۵ و ۲۶). نشان داده شده که متالوپروتئیناز ۱ و ۳ و ماست سل‌ها در آندومتر زمانی که از روش‌های فقط حاوی پروژستین استفاده می‌کنند، افزایش می‌یابد (۸-۶). علاوه بر رگ‌های متسع، رشته‌هایی از سلولهای آندوتلیال فاقد لومن که قادر به نشان دادن اجزای غشای پایه در رنگ آمیزی ایمنوهایستوشیمی نبودند، در آندومتر مصرف کنندگان نورپلانت به فراوانی دیده شده است (۲۷)، در این مطالعه نیز این تغییر مشاهده شد.

آنژیوژنز و تشکیل ساختمان توبولر رگ‌ها روند پیچیده‌ای دارد. عامل رشد فیروبلاستی فعالیت پرتئولیتیک افزایش می‌یابد و سلول‌های مهاجم در کشت زلی فیبرین تیوب‌ها را تشکیل می‌دهند و برعکس وقتی که  $\beta$  TGF اضافه می‌شود، از افزایش در فعالیت پرتئولیتیک پیشگیری می‌شود و سلول‌های مهاجم زیر ژل به صورت طنابهای توپر ظاهر می‌شوند. به نظر می‌رسد که عدم تعادل در ظهور این مولکول‌های تنظیم کننده در آنژیوژنز مانند bFGF, TGF $\beta$ , VEGF, MMPs و شاید تنظیم کننده‌های دیگر مانند آنژیو پروتئین ۱ و ۲ باعث تفاوت‌های زیاد در ساختمان رگ‌های آندومتر شود (۲۹).

این مطالعه ارتباط معنی داری را بین روزهای خونریزی یا الگوی خونریزی با تراکم رگ‌های آندومتر و یا شکل آنها پیدا نکرد. این مطالعه و مطالعات گذشته پیشنهاد می‌کنند که هر دو روش پیشگیری دارای اثرات موضعی روی رگ‌های آندومتر به خصوص در قسمتهای سطحی هستند. مشخص شد که تغییرات ساختمانی به تنهایی نمی‌توانند باعث خونریزی شوند بلکه با کاهش در تمامیت ساختمان رگ‌ها می‌توانند تغییراتی را در کنترل و رشد رگ‌های کوچک آندومتر به خصوص در مصرف کنندگان روش‌های پیشگیری حاوی فقط پروژستین به وجود آورند.

اغلب بافت‌های آندومتر در هر دو گروه نمای هیستولوژیک آندومتر آتروفیک را نشان می‌دادند. به عبارت دیگر، اغلب بافت‌های

مانند DMPA با مشکل قطع مصرف به دنبال خونریزی‌های نامنظم رو بروست. چندین مطالعه نیز اختلال در خونریزی را به عنوان اولین دلیل بیان شده برای قطع مصرف آن ذکر می‌کنند (۵ و ۶). یک مطالعه بالینی چند مرکزی در ویتنام که سیکلوفم و DMPA را باهم مقایسه کرده نشان داده است که تقریباً یک چهارم از زنان هر گروه این روش‌ها را در اوایل مصرف قطع می‌کنند. در گروه DMPA آمنوره و خونریزی‌های نامنظم و در گروه سیکلوفم خونریزی‌های نامنظم و مشکل بودن مراجعه ماهانه دلایل قطع مصرف ذکر شده است (۳۲). در این مطالعه نیز تعداد زیادی از مصرف‌کنندگان به علت مشکل بودن مراجعه از ادامه مصرف منصرف شدند و به نظر نمی‌رسد که سیکلوفم به خصوص برای مراجعینی که از نقاط دور دست مانند روستاها مراجعه می‌کنند روش مطلوبی باشد.

### تشکر و قدردانی

از مرکز تحقیقات بهداشت باروری، مرکز ملی تحقیقات علوم پزشکی کشور، معاونت تحقیقات و فن‌آوری وزارت بهداشت که با حمایت مالی خود انجام این تحقیق را امکان پذیر ساختند، قدردانی می‌شود. از سرکار خانم لطفی نیز که ما را در امر جمع‌آوری نمونه‌ها یاری دادند تشکر می‌کنیم. مراتب قدردانی فراوان خود را نیز از انستیتو سرطان دانشگاه تهران که ما را در انجام آزمایش‌های ایمنو هیستوشیمی یاری دادند ابراز می‌داریم. از پژوهشکده ابن سینا به ویژه آقای دکتر محمدرضا صادقی که ما را در انجام مطالعات میکروسکوپی و تهیه عکس‌ها یاری کردند، سپاسگزاریم.

آندومتر با استرومای کم و غلیظ، کوچک شدن و کاهش تعداد غد و سلول‌های اپی‌تلیال مکعبی شکل به دنبال استفاده تظاهر می‌یافتند. مطالعات گذشته نشان داده‌اند که مصرف DMPA سبب آتروفیک شدن، کوتاه و مستقیم شدن غدد و دسیدوایی شدن استروما می‌شود (۲). راجرز و همکاران این نمای هیستولوژیک را به عنوان نمای پروژستورژیک طبقه‌بندی می‌کنند (۱۲). در این مطالعه فقط دو نمونه آندومتر با این نما در مصرف‌کنندگان DMPA یافت شد. فقدان حمایت استروما در آندومتر آتروفیک مصرف‌کنندگان روش‌های پیشگیری حاوی فقط پروژستورژن رگها را برای شکنندگی مستعد می‌سازد که این نیز می‌تواند در خونریزی‌های غیر قابل پیش بینی حاصل از آنها نقش ایفا کند (۱۴). فقط دو نمونه با نمای تزایدی در بین نمونه‌ها یافت شد که یکی از آنها متعلق به مصرف‌کننده سیکلوفم و دیگری مصرف‌کننده DMPA بود. مطالعه هیستولوژیک دیگری که بر روی نمونه‌های آندومتر مصرف‌کنندگان سیکلوفم انجام شد، نماهای تزایدی، ترشچی و واکنش دسیدوای کاذب را به دنبال حداقل یک سال مصرف نشان داده است (۳۰). این مطالعه نشان می‌دهد که سیکلوفم نیز همانند DMPA می‌تواند منجر به آتروفیک شدن آندومتر شود.

اگرچه نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف‌کنندگان سیکلوفم نسبت به مصرف‌کنندگان DMPA روزهای خونریزی کمتری را تجربه می‌کنند اما این تفاوت معنی‌دار نیست. الگوی خونریزی نیز مشابه و شایع‌ترین الگو در مصرف‌کنندگان هردو روش لکه بینی بوده است. خونریزی‌های نامنظم در مصرف‌کنندگان سیکلوفم در مطالعات دیگر نیز نشان داده شده است (۳۱). بنابراین سیکلوفم نیز

### REFERENCES

1. Belsey EM, Farley TMM. The analysis of menstrual bleeding patterns: a review. *Contracep.* 1988; 38: 129-157
2. Mishell DR. Pharmacokinetics of depot medroxyprogesterone acetate contraception. *J Reprod Med.* 1996 May;41(5 Suppl):381-90
3. Sangi-Haghpaykar H, Poindexter AN, Bateman L, Dittmore JR. Experiences of injectable contraceptive users in an urban setting. *Obstet Gynecol.* 1996 Aug;88(2):227-33.
4. Fraser IS. Vaginal bleeding patterns in women using once-a-month injectable contraceptives. *Contracep.* 1994 Apr;49(4):399-420
5. d'Arcangues C. Once-a-month injectable contraceptives. *World Health Forum.* 1993;14(4):439-40
6. Hassan EO, el-Nahal N, el-Hussinie M. Once-a-month injectable contraceptives, Cyclofem and Mesigyna, in Egypt. Efficacy, causes of discontinuation, and side effects. *Contracep.* 1999 Aug;60(2):87-92.
7. D'arcangues C. Once-a-month estrogen/progestogen injectables. *Entre Nous Cph Den.* 1991 Dec;(19):15.

8. Fraser IS, Hickey M, Song JY. Mechanisms of menstrual bleeding: dysfunctional uterine bleeding and breakthrough bleeding. *Hum Reprod* 1996; 11(suppl 2):156-78.
9. Hourihan HM, Sheppard BL, Bonnar J. A morphometric study of the effects of oral norethisterone and levonorgestrel and endometrial blood vessels. *Contracep*. 1986; 34:603-12.
10. Johannisson E. Endometrial morphology during the normal cycle and under the influence of contraceptive steroids. In: d'Arcangues C, Fraser IS, Newton JR, Odland V, eds. *Contraception and Mechanisms of Endometrial Bleeding*. Cambridge: Cambridge University Press, 1990:53-81
11. Hickey M, Simbar M, Young L, Markham R, Russell P, Fraser IS. A longitudinal study of changes in endometrial microvascular density in Norplant implant users. *Contracep*. 1999;59(2):123-9
12. Rogers PAW, Au CL, Affandi B. Endometrial microvascular density during the normal menstrual cycle and following exposure to long-term levonorgestrel. *Hum Reprod* 1993; 8:1396-404.
13. Song JY, Markham R, Russell P, Wong T, Young L, Fraser IS. The effect of high dose medium and long-term progestogen exposure on endometrial vessels. *Hum Reprod* 1995; 10:797-800
14. Hickey M, Dwarte D, Fraser IS. The endometrial vascular appearance in Norplant users: preliminary results from an hysteroscopic study. *Hum Reprod* 1996; 11, (suppl 2):35-44.
15. Noyes RW, Hertig AT, Rock J. Dating the endometrial biopsy. *Fertil. Steril*, 1990; 1: 3-25.
16. Rogers PAW, Au CL, Affandi B. Endometrial microvascular density during the normal menstrual cycle and following exposure to long-term levonorgestrel. *Hum. Reprod*, 1993; 8, 1396-1404.
17. Belesy EM, Machin D, D'Arcangues C. The analysis of vaginal bleeding patterns induced by fertility regulating methods. *Contracep*, 1986; 4, 253-60.
18. Shaw ST Jr, Macaulay LK, Hohman WR. Vessel density in endometrium of women with and without intrauterine contraceptive devices: a morphometric evaluation. *Am J Obstet Gynecol*. 1979 Sep 15;135(2):202-6.
19. Shaw ST Jr, Macaulay LK, Aznar R, Gonzalez-Angulo A, Roy S. Effects of a progesterone-releasing intrauterine contraceptive device on endometrial blood vessels: a morphometric study. *Am J Obstet Gynecol*. 1981 Dec 1;141(7):821-7
20. Jondet M, Letellier B, Verdys MT. Endometrial vascularization in levonorgestrel intrauterine device users; computerized microvessel measurement study. *Contracep*. 2005 Jan;71(1):60-4
21. Girling JE, Heryanto B, Patel N, Rogers PA. Effect of long-term progestin treatment on endometrial vasculature in normal cycling mice. *Contracep*. 2004 Oct;70(4):343-50
22. Hickey M, Simbar M, Markham R, Young L, Manconi F, Russell P, Fraser IS. Changes in vascular basement membrane in the endometrium of Norplant users. *Hum Reprod*. 1999 Mar;14(3):716-21.
23. McGavigan CJ, Dockery P, Metaxa-Mariatou V, Campbell D, Stewart CJ, Cameron IT, Campbell S. Hormonally mediated disturbance of angiogenesis in the human endometrium after exposure to intrauterine levonorgestrel. *Hum Reprod*. 2003 Jan;18(1):77-84.
24. Hickey M, Fraser IS. The structure of endometrial microvessels. *Hum Reprod*. 2000 Aug;15 Suppl 3:57-66.
25. Vincent AJ, Salamonsen LA. The role of matrix metalloproteinases and leukocytes in abnormal uterine bleeding associated with progestin-only contraceptives. *Hum Reprod*. 2000 Aug;15 Suppl 3:135-43.
26. Vincent AJ, Zhang J, Ostor A, Rogers PA, Affandi B, Kovacs G, Salamonsen LA. Decreased tissue inhibitor of metalloproteinase in the endometrium of women using depot medroxyprogesterone acetate: a role for altered endometrial matrix metalloproteinase/tissue inhibitor of metalloproteinase balance in the pathogenesis of abnormal uterine bleeding? *Hum Reprod*. 2002 May;17(5):1189-98.
27. Simbar M, Mancony F, Markham R, Hickey M, Fraser IS. A three-dimensional study of endometrial microvessels in women using the contraceptive subdermal levonorgestrel implant system, norplant. *Micron*. 2004;35(7):589-95
28. Pepper MS, Ferrera N, Orci I, Monlcsano R. Potent synergism between vascular endometrial growth factor and basic fibroblast growth factor in the induction of angiogenesis in vitro, *Biochemical Biophysical Research Communications* 1992; 189, 824-831.
29. Cockrill GW, Meyr O, Noack I, Vadas MA, Gamble JR. Characterization of a spontaneously transformed human endothelial cell line, *Laboratory Investigation* 1994; 71.497-509.

30. Bahamondes L, Maradiegue E, Diaz J, Trelles J, Escanhoela C, Petta C, Arce XE. Endometrial histology in long-term users of the once-a-month injectable contraceptive Cyclofem. *Adv Contracept*. 1999;15(1):1-7
31. Canto de Cetina TE, Luna MO, Cetina Canto JA, Bassol S. Menstrual pattern and lipid profiles during use of medroxyprogesterone acetate and estradiol cypionate and NET-EN (200 mg) as contraceptive injections. *Contracep*. 2004 Feb;69(2):115-9.
32. Cuong DT, My Huong NT. Comparative phase III clinical trial of two injectable contraceptive preparations, depot-medroxyprogesterone acetate and Cyclofem, in Vietnamese women. *Contracep*. 1996 Sep;54(3):169-79.