Molecular detection of *Chlamydia Trachomatis* and *Mycoplasma Hominis* in endometriosis lesions

F, Azizvakili[1], G. Saadatnia[2], P. Salehian[3], N. Bakhtiari[2], S. Rezaei[1]

[1] Sarem Cell Research Center (SCRC), Sarem Women's Hospital, Tehran, Iran
[2] Department of Biotechnology, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran
[3] Sarem Fertility and Infertility Research Center (SAFIR), Sarem Women's Hospital, Tehran, Iran

Corresponding Address: Geita Saadatnia, Iranian Research Organization for Science and Technology, Department of Biotechnology, Tehran, Tel: +98-21-56276636, Email**:** gitasaadat@gmail.com
Received: 11 Jan 2016; Accepted: 27 Aug 2016

Abstract

Background: Retrograde of menstrual blood into the peritoneal cavity is one of the accepted theories for initiation of endometriosis although indicated that other factors are involved in pathogenesis. Investigation of infectious agents is important in this regard.

Objective: To investigate the presence of bacterial infections; *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma Hominis* as risk factors in endometriosis lesions.

Methods: This case-control study was conducted in Sarem Hospital in 2014. DNA was extracted from 90 paraffin-embedded blocks included 40 endometriosis tissue samples, 23 samples of endometrial tissue from the same patients and 27 samples of endometrial tissue of the patients without endometriosis, and molecular analysis were performed using polymerase chain reaction. Results were analyzed by Fisher Exact Test and McNemar Test.

Findings: *Chlamydia trachomatis* infection was seen in 11 (27.5%) endometriosis tissue, 3 (13%) normal tissue from patients and 10 (37%) in patient without endometriosis. Mycoplasma hominis was diagnosed in 11 (27.5%) endometriosis tissue, 7 (30.4%) of normal tissue from patients and one patient without endometriosis (3.7%). These differences show significant relations between infection with Mycoplasma hominis and endometriosis.

Conclusion: The findings of this study did not show significant association between *Chlamydia trachomatis* infections and endometriosis. However; it seems *Mycoplasma hominis* infection can increase the risk of endometriosis incidence.

Keywords: Endometriosis, Molecular Diagnostic, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*

Citation: Azizvakili F, Saadatnia G, Salehian P, Bakhtiari N, Rezaei S. Molecular detection of *Chlamydia Trachomatis* and *Mycoplasma Hominis* in endometriosis lesions. J Qazvin Univ Med Sci. 2016; 20 (5): 4-10.

تشخیص مولکولی کلامیدیا تراکوماتیس و مایکوپلاسما هومینیس در ضایعه‌های اندومتریوزی

فاطمه عزیزوکیلی[۱] ، دکتر گیتا سعادت نیا[۲] ، دکتر پیروز صالحیان[۳] ، دکتر ناهید بختیاری[۲] ، سمیرا رضایی[۱]

۱ مرکز تحقیقات سلولی- مولکولی و سلول‌های بنیادی بیمارستان فوق تخصصی صارم، تهران، ایران
۲ پژوهشکده زیست فناوری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران
۳ مرکز تحقیقات باروری و ناباروری بیمارستان فوق تخصصی صارم، تهران، ایران

آدرس نویسنده مسؤول: تهران، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، پژوهشکده زیست فناوری، تلفن ۵۶۲۷۶۶۳۶- ۰۲۱
تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۲۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۶

چکیده

زمینه: برگشت خون قاعدگی به داخل حفره صفاقی در برخی از افراد اندومتریوز ایجاد می‌کند و نشان می‌دهد عوامل دیگری نیز در ایجاد بیماری نقش دارند که بررسی عوامل عفونی در این خصوص حایز اهمیت است.

هدف: مطالعه به منظور تعیین حضور آلودگی‌های باکتریایی کلامیدیا تراکوماتیس و مایکوپلاسما هومینیس به عنوان عوامل خطر در ضایعه‌های اندومتریوزی انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مورد- شاهدی در سال ۱۳۹۳ در بیمارستان فوق تخصصی صارم انجام شد. از ۹۰ بلوک پارافینی شامل ۴۰ نمونه بافت اندومتریوزی افراد بیمار، ۲۳ نمونه بافت اندومتر همان بیماران و ۲۷ نمونه بافت اندومتر افراد عاری از اندومتریوز، DNA استخراج و با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بررسی مولکولی شدند. داده‌ها با آزمون‌های آماری فیشر و مک نمار تحلیل شدند.

یافته‌ها: آلودگی به کلامیدیا تراکوماتیس در ۱۱ بافت بیمار (۲۷/۵٪)، ۳ بافت سالم گروه بیمار (۱۳٪) و ۱۰ بافت افراد فاقد اندومتریوز (۳۷٪) مشاهده شد. آلودگی مایکوپلاسما هومینیس در ۱۱ بافت بیمار (۲۷/۵٪)، ۷ بافت سالم گروه بیمار (۳۰/۴٪) و ۱ بافت افراد فاقد اندومتریوز (۳/۷٪) تشخیص داده شد که این تفاوت‌ها ارتباط معنی‌داری را بین آلودگی به مایکوپلاسما هومینیس و بیماری اندومتریوز نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌ها، اگرچه ارتباط معنی‌داری بین آلودگی *کلامیدیا تراکوماتیس* و بیماری اندومتریوز وجود نداشت، اما به نظر می‌رسد آلودگی مایکوپلاسما هومینیس می‌تواند احتمال بروز بیماری اندومتریوز را افزایش دهد.

کلیدواژه‌ها: اندومتریوز، تشخیص مولکولی، *کلامیدیا تراکوماتیس*، *مایکوپلاسما هومینیس*

مقدمه:

اندومتریوز یک اختلال التهابی دردناک مزمن و از شایع‌ترین بیماری‌های خوش‌خیم زنان در سنین باروری است. ضایعه‌های اندومتریوزی با حضور سلول‌های اندومتر در خارج از حفره رحمی شناخته می‌شوند.[۱و۲] این ضایعه‌ها می‌توانند در بیش‌تر بافت‌های بدن به وجود آیند، ولی رایج‌ترین محل پدید آمدن آن‌ها لگن (به‌خصوص تخمدان‌ها) است.[۳و۴] این بیماری به دلیل عوارض بالینی متعدد از جمله عادت ماهیانه دردناک، درد هنگام مقاربت، سوزش ادرار و دردهای لگنی مزمن شدیداً کیفیت زندگی فرد را تحت تأثیر قرار می‌دهد و بر زندگی اجتماعی، جنسی و سلامت روانی فرد تأثیر می‌گذارد.[۵و۶] اندومتریوز همچنین عامل ۵ تا ۱۵ درصد موارد نازایی در زنان است.[۱و۷]

شیوع اندومتریوز در زنان سنین باروری ۱۰ تا ۱۵ درصد، در زنانی که به دلیل ناباروری اولیه به پزشک مراجعه می‌کنند تا ۵۰ درصد و در زنان و نوجوانان با درد مزمن لگنی تا ۷۵ درصد گزارش شده است.[۳و۴]

با این که حدود یک قرن از زمان معرفی اندومتریوز می‌گذرد هنوز اطلاعات ما در مورد سبب‌شناسی این بیماری ناقص است.[۸] نظریه‌های گوناگونی در مورد

چگونگی پیدایش این بیماری پیشنهاد شده است از جمله: قرارگرفتن و تکثیر سلول‌های اندومتر در حفره صفاق به علت به عقب برگشتن سلول‌های اندومتری به داخل صفاق در دوره قاعدگی (نظریه سمپسون) و نظریه دگرگونی سلول‌های صفاقی به سلول‌های اندومتری به علت تأثیر هورمون‌ها یا عوامل ایمنی‌شناختی.[۹و۱۰] بین این موارد نظریه سمپسون بیش‌تر از بقیه تأیید شده است.[۱۱و۱۲] با این وجود، این نظریه نیز نمی‌تواند به طور کامل تمام موارد بیماری را توضیح دهد.[۱۳] چرا که در بیش از ۹۰ درصد زنان سنین باروری، پدیده برگشت خون قاعدگی به صورت فیزیولوژیک اتفاق می‌افتد، ولی فقط در برخی از زنان اندومتریوز ایجاد می‌شود.[۱۴] این امر نشان می‌دهد عوامل دیگری نیز وجود دارند که باعث القا و پیشرفت بیماری می‌شوند، از قبیل عوامل هورمونی، ایمنی‌شناختی، ژنتیکی و محیطی که از آن جمله برخی مواد شیمیایی و سابقه عفونت است.[۱۵]

تأثیر عوامل ویروسی و باکتریایی که با عفونت دستگاه تناسلی خانم‌ها در ارتباط هستند، به خصوص عوامل باکتریایی که بیش‌تر ایجاد التهاب می‌کنند، جای بررسی دارد.[۱۶] کلامیدیا تراکوماتیس به عنوان یکی از شایع‌ترین بیماری‌های مقاربتی مطرح است و با تکثیر داخل سلولی باکتری ایجاد می‌شود. ابتلا به این عفونت، شایع‌ترین علت بیماری‌های التهابی لگنی است و در طولانی مدت می‌تواند مشکلاتی از جمله نازایی نیز ایجاد کند.[۱۷و۱۸] مایکوپلاسماها کوچک‌ترین میکروارگانیسم‌های دارای زندگی آزاد و اغلب به عنوان فلور طبیعی دهان، دستگاه تنفسی و ادراری- تناسلی هستند.[۱۹و۲۰] بعضی از مایکوپلاسماها قادرند بیماری‌های تناسلی جدی در انسان ایجاد کنند. بعضی نیز همچون *مایکوپلاسما هومینیس* و *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* می‌توانند در عفونت‌های لگنی، تب بعد از زایمان و سقط جنین نقش داشته باشند.[۲۱و۲۲]

با توجه به بروز بالای اندومتریوز و بیماری‌های دستگاه تناسلی و بروز ضایعه‌های اندومتریوزی به‌صورت منتشره، این سؤال مطرح است که آیا عوامل عفونی می‌توانند با ایجاد اندومتریوز ارتباط داشته باشند. پیش‌فرض مطالعه حاضر این بود که ممکن است به علت عفونت باکتریایی اندومتر، قدرت تهاجم لایه پایه آن همراه با برگشت خون قاعدگی به داخل شکم و ناحیه میومتریال افزایش یابد. به‌علاوه ممکن است به علت اختلال ایجاد شده در پاسخ ایمنی، لانه‌گزینی نابجای سلول‌های اندومتر و تهاجم سلول‌های آن افزایش یابد و به قسمت‌های دیگر نیز گسترش یابد. هدف این مطالعه تعیین حضور آلودگی‌های باکتریایی کلامیدیا تراکوماتیس و مایکوپلاسما هومینیس در ضایعه‌های اندومتریوزی به عنوان عوامل خطر این بیماری بود.

❋مواد و روش‌ها:

این مطالعه مورد- شاهدی بر روی ۹۰ بلوک پارافینی زنان سن باروری (۲۰ تا ۴۰ ساله) انجام شد که طی سال ۱۳۹۳ در بیمارستان فوق تخصصی صارم عمل جراحی شده بودند. پس از تصویب مطالعه در کمیته اخلاق مرکز تحقیقات سلولی- مولکولی بیمارستان فوق تخصصی صارم و اخذ رضایت آگاهانه جهت شرکت در مطالعه، نمونه ها با رعایت کلیه اصول و کُدهای کمیته اخلاق پزشکی تهیه شدند. بافت‌های مورد نیاز برای این مطالعه که شامل ضایعه‌های اندومتریوزی یا بافت اندومتر طبیعی افراد بود از طریق لاپاراسکوپی یا لاپاراتومی تهیه و در بخش آسیب‌شناسی آزمایشگاه صارم در فرمالین تثبیت و در قالب‌های پارافینه قرار داده شدند.

نمونه‌های مورد بررسی عبارت بودند از: ۴۰ بلوک حاوی بافت اندومتریوزی، ۲۷ بلوک از بافت اندومتر طبیعی افرادی که به دلایلی غیر از اندومتریوز در بیمارستان بستری و عمل کورتاژ شده بودند و ۲۳ نمونه از بافت اندومتر طبیعی افراد بیمار مورد مطالعه (به عنوان شاهد). بیماران مورد مطالعه قبل از عمل جراحی، توسط پزشک خود تشخیص قطعی اندومتریوز داده شده بودند و نمونه‌های برداشته شده پس از عمل جراحی نیز توسط دو آسیب‌شناس به طور جداگانه تأیید شدند. با استفاده از

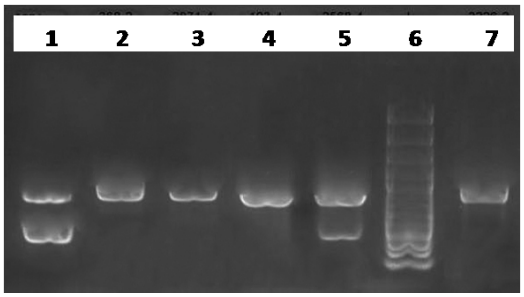
میکروتوم برش‌هایی به قطر ۱۰ میکرومتر به تعداد ۴ تا ۵ عدد از هر بلوک تهیه و در میکروتیوپ‌های استریل قرار داده شد. DNA با استفاده از کیت شرکت روش آلمان (Roche, GmbH) مطابق با دستورکار موجود در کیت استخراج شد. سپس DNAهای استخراج شده تغلیظ و برای اطمینان از صحت استخراج، روی ژل اگاروز برده شدند.

برای هر نمونه با استفاده از کیت (شرکت کیاژن، کدهای ۰۶۱۶f و ۲۷۰۶f) PCR تشخیص اختصاصی مایکوپلاسما هومینیس و کلامیدیا تراکوماتیس گذاشته شد. برنامه تکثیر در دستگاه ترموسایکلر (آمریکا-Primus 25) به شرح زیر انجام شد: یک چرخه مرحله واسرشت اولیه DNA با دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱/۵دقیقه، ۴۵ چرخه شامل مرحله واسرشت در دمای ۹۴ درجه برای ۵۰ ثانیه، اتصال پرایمرها در دمای ۶۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه و گسترش پرایمر در دمای ۷۲ درجه برای ۵۰ ثانیه و در آخر برای تثبیت و سرد شدن در دمای ۱۰ درجه ۱۰ دقیقه باقی ماندند (مطابق با دستورالعمل کیت). در تمامی مراحل برای شناسایی آلودگی‌های احتمالی از شاهد منفی (نمونه آب به جای DNA) و شاهد مثبت (کیت) استفاده شد.

برای الکتروفورز از ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده گردید. سپس ۵ میکرولیتر از هر نمونه با ۱ میکرولیتر رنگ ژل‌رد، مخلوط و در چاهک‌ها تزریق شد. نتایج با دستگاه ژل‌داک (شرکت DNA تکنولوژی، ایران) ثبت شدند. در تصاویر حاصله، مشاهده باند شاهد داخلی نشان‌دهنده صحت انجام واکنش PCR بود. مطابق با دستورکار کیت، مشاهده باند با وزن مولکولی ۴۱۵ جفت باز، حضور آلودگی کلامیدیایی و با وزن مولکولی ۳۱۰ جفت باز، آلودگی مایکوپلاسما هومینس را تأیید می‌کرد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS۱۶ و آزمون‌های آماری فیشر و مک نمار تحلیل شدند.

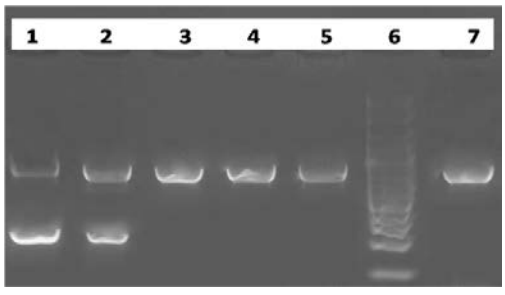
❋یافته‌ها:

۹۰ بلوک پارافینی مورد بررسی مربوط به افرادی بود که میانگین سنی آن‌ها ۸/۹۷±۳۴/۳ سال، شاخص توده بدنی ۶/۶±۲۴/۴ کیلوگرم بر مترمربع و سن شروع قاعدگی ۲±۱۳ سال بود. از نظر آلودگی به کلامیدیا تراکوماتیس، ۱۱ بافت اندومتریوزی بیماران (۲۷/۵ درصد)، ۳ بافت سالم گروه بیمار (۱۳ درصد) و ۱۰ بافت افراد سالم (۳۷ درصد) مثبت شدند (شکل شماره ۱).



شکل۱- نمونه‌ای از نتایج واکنش زنجیره‌ای پلیمراز جهت تشخیص آلودگی کلامیدیا تراکوماتیس در نمونه‌های اندومتریوزی بیماران (۱: شاهد مثبت، ۲ تا ۵: نمونه‌های بالینی، ٦: شاخص وزن مولکولی و ۷: شاهد منفی)

در بررسی آلودگی بافت‌های مورد مطالعه به باکتری مایکوپلاسما هومینس، ۱۱ بافت اندومتریوزی (۲۷/۵ درصد) و ۷ بافت سالم گروه بیمار (۳۰/۴ درصد) مثبت تشخیص داده شد؛ در صورتی‌که فقط در ۱ نمونه از گروه افراد سالم (۳/۷ درصد) DNA این باکتری مشاهده گردید (شکل شماره ۲). با کمک آزمون مک‌نمار بین دو بافت اندومتریوزی و بافت طبیعی در گروه بیماران، مقایسه‌ای در مورد حضور یا عدم حضور DNA میکروب‌های مورد مطالعه انجام شد که ارتباط معنی‌داری یافت نشد.



شکل۲- نمونه‌ای از نتایج واکنش زنجیره‌ای پلیمراز جهت تشخیص آلودگی مایکوپلاسما هومینس در نمونه‌های اندومتریوزی بیماران (۱: شاهد مثبت، ۲ تا ۵: نمونه‌های بالینی، ٦: شاخص وزن مولکولی و ۷: شاهد منفی)

با توجه به آزمایش‌های انجام شده و نتایج حاصل از آزمون فیشر، ارتباط معنی‌داری بین آلودگی *کلامیدیا تراکوماتیس* و بروز اندومتریوز یافت نشد. لیکن در مورد مایکوپلاسما هومینیس، رابطه معنی‌داری بین حضور آلودگی و بیماری اندومتریوز مشاهده گردید (P=۰/۰۲) و احتمال خطر (Odd'sRatio) ۹/۸۶ به‌دست آمد؛ این بدان معنی است که در صورت وجود آلودگی بافتی *مایکوپلاسما هومینیس* در یک فرد، احتمال ابتلا به اندومتریوز ۹/۸۶ برابر افراد سالم بدون آلودگی مذکور خواهد بود.

❋بحث و نتیجه‌گیری:

این مطالعه نشان داد آلودگی به باکتری *کلامیدیا تراکوماتیس* باعث افزایش ابتلا به اندومتریوز نمی‌شود، اما به‌نظر می‌رسد آلودگی به باکتری مایکوپلاسما هومینیس می‌تواند احتمال بروز این بیماری را افزایش دهد.

معینی و همکاران در سال ۱۳۹۱ ارتباط ویروس پاپیلوما را با ضایعه‌های اندومتریوزی بررسی و مشاهده کردند که پایداری عفونت پاپیلومایی در ضایعه‌های اندومتریوزی می‌تواند به پیشرفت آن کمک کند.[۵] براساس جستجوی به‌عمل آمده تاکنون مطالعه دیگری در ایران منتشر نشده است که عوامل عفونی را در بیماران اندومتریوزی بررسی کرده باشد.

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۱ در انگلستان انجام شد، ۵۱ بیمار تحت عمل لاپاراسکوپی (۲۷ بیمار اندومتریوزی و ۲۴ نمونه شاهد) از نظر بروز آنتی‌بادی‌های IgM و IgG اختصاصی کلامیدیا تراکوماتیس موجود در سرم و مایع صفاقی بررسی شدند. نتایج نشان داد که بین سابقه عفونت به کلامیدیا و حضور اندومتریوز رابطه معنی‌داری وجود نداشت.[۱۷]

اپلت و همکاران با هدف بررسی ارتباط ویروس‌های مقاربتی و پروکاریوتی با ایجاد ضایعه‌های اندومتریوز، ۶۲ نمونه اندومتریوزی را بررسی کردند، ولی در هیچ‌یک از موارد DNA کلامیدیایی مشاهده نشد و ارتباطی بین آلودگی به این میکروب و ضایعه‌های اندومتریوزی پیدا نکردند.[۴] یافته‌های دو مطالعه اخیر نتایج تحقیق حاضر را تأیید کرد.

در سال ۲۰۱۰، وسترگارد و همکاران یک سری از ویروس‌های بیماری‌زا از جمله پاپیلوما ویروس انسانی، هرپس ویروس ۱و۲ و سایتومگالوویروس را در ۳۲ فرد مبتلا به اندومتریوز و ۲۰ نمونه شاهد با روش PCR بررسی کردند. نتایج حاکی از آن بود که ویروس‌های بررسی شده نقشی در ایجاد اندومتریوز نداشتند.[۲۳]

مطالعه دیگری به بررسی مولکولی تعدادی از عفونت‌های منتقله جنسی در ۱۰۹ بیمار زن تحت عمل لاپاراسکوپی مبتلا به درد ناحیه شکم پرداخت. ۲۰ مورد از نمونه‌ها به بیماری اندومتریوز مبتلا بودند که در ۵ مورد از آن‌ها آلودگی به کلامیدیا تراکوماتیس و در ۱۲ مورد آلودگی به مایکوپلاسما هومینیس تأیید شد. اگرچه محققین به این نتیجه رسیدند که تعیین نقش عوامل میکروبی در ایجاد بیماری‌های لگنی بسیار مشکل است، لیکن حضور آلودگی مایکوپلاسما هومینیس در ضایعه‌های اندومتریوز در مقایسه با سایر عوامل عفونی بیش‌تر بوده و با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت.[۲۴]

نتایج مطالعه حاضر، رابطه معنی‌داری را بین آلودگی به کلامیدیا تراکوماتیس و بروز اندومتریوز نشان نداد، ولی در مورد باکتری *مایکوپلاسما هومینیس* می‌توان گفت بین ایجاد بیماری اندومتریوز و ابتلا به این عفونت ارتباط معنی‌داری وجود دارد؛ به‌طوری که در صورت وجود آلودگی بافتی *مایکوپلاسما هومینیس* در یک فرد، احتمال ابتلا به اندومتریوز ۹/۸۶ برابر بیش‌تر از افرادی است که درگیر این عفونت نشده‌اند. به‌نظر می‌رسد با برطرف کردن این عفونت شاید بتوان احتمال ابتلا به اندومتریوز را کم کرد. هرچند که تأیید قطعی آن به مطالعه‌های بیش‌تر با تعداد نمونه بیش‌تر نیاز دارد.

❋سپاس‌گزاری:

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران است

که با حمایت مرکز تحقیقات سلولی- مولکولی و سلول‌های بنیادی صارم انجام شده است. از همکاری آقای دکتر آرش پولادی در تحلیل داده‌ها و کارکنان بیمارستان فوق تخصصی صارم قدردانی می‌شود.

❋مراجع:

1. Cheng CH, Kuo HC, Su B. Endometriosis in a kidney with focal xanthogranulomatous pyelonephritis and a perinephric abscess. BMC Res Notes 2015 Oct 21; 8: 591. doi: 10.1186/s13104-015-1574-1.

2. Ahn SH, Monsanto SP, Miller C, Singh SS, Thomas R, Tayade C. Pathophysiology and immune dysfunction in endometriosis. Biomed Res Int 2015; 2015: 795976. doi: 10.1155/2015/795976.

3. Vercellini P. Introduction: management of endometriosis: moving toward a problem-oriented and patient-centered approach. Fertil Steril 2015 Oct; 104 (4): 761-3. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.09.004.

4. Oppelt P, Renner SP, Strick R, Valletta D, Mehlhorn G, Fasching PA, et al. Correlation of high-risk human papilloma viruses but not of herpes viruses or Chlamydia trachomatis with endometriosis lesions. Fertil Steril 2010 Apr; 93 (6): 1778-86. doi:10.1016/j.fertnstert. 2008. 12.061.

5. Moieni Z, Tahmasebifard Z, Abdirad A, Aliruteh SM, Sarmadi S. The relationship between human papillomavirus and endometriosis lesions. New Cellular & Molecular Biotechnology Journal 2012; 6 (2): 67-73 [In Persian].

6. Burney RO, Giudice LC. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. Fertil Steril 2012 Sep; 98 (3): 511-9. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.06.029.

7. Stilley JA, Birt JA, Sharpe-Timms KL. Cellular and molecular basis for endometriosis-associated infertility. Cell Tissue Res 2012 Sep; 349 (3): 849-62.

8. Benagiano G, Brosens I. History of adenomyosis. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2006 Aug; 20 (4): 449-63.

9. Gargett CE. Uterine stem cells: what is the evidence? Hum Reprod Update 2007 Jan-Feb; 13 (1): 87-101.

10. Gazvani R, Templeton A. New considerations for the pathogenesis of endometriosis. Int J Gynaecol Obstet 2002 Feb; 76 (2): 117-26.

11. Ozkan S, Murk W, Arici A. Endometriosis and infertility: epidemiology and evidence-based treatments. Ann N Y Acad Sci 2008 Apr; 1127: 92-100. doi: 10.1196/annals.1434.007.

12. Leyendecker G, Herbertz M, Kunz G, Mall G. Endometriosis results from the dislocation of basal endometrium. Hum Reprod 2002 Oct; 17 (10): 2725-36.

13. Sampson JEA. Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. Am J Obstet Gynecol 1927 Dec; 14 (4): 93-4. doi: 10.1016/S0002-9378(15)30003-X.

14. Tariverdian N, Theoharides TC, Siedentopf F, Gutiérrez G, Jeschke U, Rabinovich GA, et al. Neuroendocrine-immune disequilibrium and endometriosis: an interdisciplinary approach. Semin Immunopathol 2007 Jun; 29 (2): 193-210.

15. Khan KN, Fujishita A, Kitajima M, Hiraki K, Nakashima M, Masuzaki H. Intra-uterine microbial colonization and occurrence of endometritis in women with endometriosis. Hum Reprod 2014 Nov; 29 (11): 2446-56. doi: 10.1093/humrep/deu222.

16. Joyee AG, Thyagarajan SP, Reddy EV, Venkatesan C, Ganapathy M. Genital chlamydial infection in STD patients: its

relation to HIV infection. Indian J Med Microbiol 2005 Jan; 23 (1): 37-40.
17. Gazvani R, Coyne L, Anttila T, Saikku P, Paavonen J, Templeton A. Antibodies to Chlamydia trachomatis in serum and peritoneal fluid of women with endometriosis. Hum Fertil (Camb) 2011 Mar; 14 (1): 64-7. doi: 10.3109/14647273.2010. 548846.
18. Mahmoodi SMM, Hamkar R, AkhavanTafti M, Eslamifar A, Adibi L, Sadrabadi SAA, et al. Human papillomavirus genotypes in cervical cancer specimens, in Yazd. Iran J Infect Dis Trop Med 2008; 12 (37): 19-24 [In Persian].
19. Cimolai N. Do mycoplasmas cause human cancer? Can J Microbiol 2001 Aug; 47 (8): 691-7.
20. Taylor-Robinson D. Mycoplasma genitalium-an up-date. Int J STD AIDS 2002 Mar; 13 (3): 145-51.
21. Razin S, Yogev D, Naot Y. Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. Microbiol Mol Biol Rev 1998 Dec; 62 (4): 1094-156.
22. Campos GB, Lobão TN, Selis NN, Amorim AT, Martins HB, Barbosa MS, et al. Prevalence of Mycoplasma genitalium and Mycoplasma hominis in urogenital tract of Brazilian women. BMC Infect Dis 2015 Feb 14; 15: 60. doi: 10.1186/s12879-015-0792-4.
23. Vestergaard AL, Knudsen UB, Munk T, Rosbach H, Bialasiewicz S, Sloots TP, et al. Low prevalence of DNA viruses in the human endometrium and endometriosis. Arch Virol 2010 May; 155 (5): 695-703. doi: 10.1007/ s00705-010-0643-y.
24. Taylor-Robinson D, Jensen JS, Svenstrup H, Stacey CM. Difficulties experienced in defining the microbial cause of pelvic inflammatory disease. Int J STD AIDS 2012 Jan; 23 (1): 18-24. doi: 10.1258/ijsa.2011. 011066.