

泌尿生殖医学临床研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.002105

GnRHa 对育龄期女性 II 型黏膜下子宫肌瘤电切术后 宫腔粘连及妊娠结局的影响

申丽媛, 池余刚, 杨晓煜, 彭书敏, 文亚玲

(重庆市妇幼保健院妇科, 重庆 400021)

【摘要】目的:探讨 GnRHa 对有生育要求的育龄期女性 II 型黏膜下子宫肌瘤电切术后宫腔粘连及妊娠结局的影响。**方法:**收集 2015 年 5 月至 2017 年 5 月在我院诊断为 II 型黏膜下子宫肌瘤并行宫腔镜下子宫肌瘤切除术的患者 58 例, 根据术前是否使用促性腺激素释放激素激动剂(GnRHa), 分为 GnRHa 组(A 组)和非 GnRHa 组(B 组), GnRHa 组(A 组)术前应用 GnRHa 3 个周期后行宫腔镜切除 II 型黏膜下子宫肌瘤 30 例, 非 GnRHa 组(B 组)术前不应用 GnRHa, 直接行宫腔镜切除黏膜下肌瘤 28 例, 记录手术时间、术中出血量、膨宫液量, 1 个月后再行宫腔镜检查, 评估宫腔情况, 记录宫腔粘连发生情况, 同时取部分子宫内膜组织, 通过免疫组化检测 I 型胶原蛋白(collagen I, Col-I)、结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)和转化生长因子- $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)在 2 组中的表达情况, 尝试妊娠 6~12 个月随访妊娠结局。**结果:**①A 组患者平均手术时间为(40.90 $\pm$ 15.09) min, B 组为(52.9 $\pm$ 13.5) min, A 组术中平均出血量为(27.0 $\pm$ 14.4) mL, B 组为(52.3 $\pm$ 17.5) mL, 两者比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。②宫腔镜电切术后 A 组宫腔粘连发生率为 6.7%(2/30), B 组为 7.7%(2/26), 2 组无统计学差异($P>0.05$)。③2 组中 Col-I、CTGF 及 TGF- $\beta 1$ 的表达差异无统计学意义($P>0.05$)。④尝试妊娠后随访 6~12 个月, A 组妊娠率达 72%, B 组妊娠率达 68.2%, 2 组无统计学差异($P>0.05$)。**结论:**GnRHa 预处理明显缩短手术时间及术中出血量, 但未能改善术后宫腔粘连的发生及患者的妊娠情况。

【关键词】GnRHa; II 型黏膜下子宫肌瘤; 宫腔粘连; I 型胶原蛋白; 转化生长因子- $\beta 1$; 结缔组织生长因子

【中图分类号】R713.4

【文献标志码】A

【收稿日期】2018-11-04

Effect of GnRHa on intrauterine adhesions and pregnancy outcomes in women of childbearing age with type II submucous uterine myoma after electrotomy

Shen Liyuan, Chi Yugang, Yang Xiaoyu, Peng Shumin, Wen Yaling

(Department of Gynecology, Chongqing Health Center for Women and Children)

【Abstract】Objective: To investigate the effect of GnRHa on intrauterine adhesions and pregnancy outcomes in women of childbearing age with type II submucous uterine myoma after electrotomy. **Methods:** Fifty-eight patients were enrolled in the study who were diagnosed with type II submucosal uterine myoma and underwent hysteroscopic resection in our hospital from May 2015 to May 2017. According to whether GnRHa was used or not before the operation, these patients were divided into GnRHa group(A group) and non-GnRHa group(B group). In the A group, all 30 cases received hysteroscopic resection after three cycles of GnRHa treatment, while in the B group, all 28 cases received the same surgery without GnRHa treatment. The operation time, intraoperative blood loss, and dissection volume were recorded in both groups. Hysteroscopy was performed again one month later to evaluate the condition of uterine cavity and record the occurrence of intrauterine adhesions. Some endometrial tissues were then collected, and immunohistochemistry was used to determine the expression of collagen type I (Col-I), connective tissue growth factor(CTGF), and transforming growth factor- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$). The pregnancy outcome was followed up for 6 to 12 months after attempted pregnancy. **Results:** The mean time of operation in the A group and B group was (40.90 $\pm$ 15.09) min and 52.9 $\pm$ 13.5 min, respectively, and the mean intraoperative blood loss in both groups was (27.0 $\pm$ 14.4) mL and (52.3 $\pm$ 17.5) mL, respectively. There were significant differences between these two groups regarding the time of operation and intraoperative blood loss ($P<0.05$). The incidence rate of intrauterine adhesions was 6.7%(2/30) in the A group and 7.7%(2/26) in the B group after hysteroscopic resection, showing no significant difference between these two groups ($P>0.05$). There were no significant differences in the expression of Col-I, CTGF, and TGF- $\beta 1$ between the two groups ($P>0.05$). All cases were followed up for 6 to 12 months after attempted pregnancy, and the postoperative

作者介绍: 申丽媛, Email: shenliyuan112@sina.com,

研究方向: 妇科。

通信作者: 池余刚, Email: chiugang@163.com。

基金项目: 重庆市卫计委医学科研究资助项目(编号: 2015ZBXM029)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20190505.1727.012.html>

(2019-05-07)

pregnancy rate was 72% in the A group and 68.2% in the B group, giving no significant difference ($P>0.05$). **Conclusion:** GnRHa pretreatment significantly shortens the time of operation and reduces intraoperative blood loss, but fails to alleviate postoperative intrauterine adhesions and improve the pregnancy of the patients.

[Key words] GnRHa; type II submucous uterine myoma; intrauterine adhesion; collagen I; transforming growth factor- β 1; connective tissue growth factor

子宫平滑肌瘤是女性生殖器官最常见的良性肿瘤,主要表现为经量增多、痛经及不孕不育等症状,在育龄期女性中,发病率为 20%~25%^[1]。随着宫腔镜技术的广泛推广,对于要保留子宫及生育能力的女性而言,术前缩小肌瘤体积的药物预处理以及宫腔镜下子宫肌瘤切除术(transcervical resection of myoma,TCRM)成为首选治疗方式^[2],黏膜下肌瘤肌层浸润深度及大小与宫腔镜下的完全切除率有关,II 型完整切除率最低,为 61%~83%^[3]。据报道,超过 5 cm 的 II 型肌瘤也可通过宫腔镜手术切除,但术中出血量及手术时间明显较小于 5 cm 肌瘤增加,术前应用 GnRHa 治疗,可以缩小肌瘤体积,改善贫血^[4]。然而,黏膜下肌瘤切除术后可能导致子宫内膜的破坏及宫腔粘连形成^[5],宫腔粘连仍可导致不孕、流产等。本研究收集 2015 年 5 月至 2017 年 5 月于我院行 TCRM 术的 58 例 II 型子宫肌瘤患者,分析探讨 GnRHa 对育龄期妇女宫腔镜下子宫肌瘤切除术后宫腔粘连的发生及生育功能的影响。

1 资料与方法

1.1 研究对象及分组

选取 2015 年 5 月至 2017 年 5 月于我院就诊,门诊彩超联合宫腔镜检查诊断为 II 型黏膜下肌瘤 58 例,按照自愿原则,根据术前是否使用 GnRHa,分为 A 组(GnRHa 组)30 例和 B 组(非 GnRHa 组)28 例,A 组年龄 24~43 岁,平均年龄(33.3 ± 5.0)岁,术前使用 GnRHa 治疗 3 个周期,治疗期间不用其他药物,初次给药于月经期第 1~5 天皮下注射 GnRHa(亮丙瑞林 博恩诺康)3.75 mg,每 4 周 1 次,共 3 次,于第 3 次注射后 3 周内进行手术。B 组年龄 27~42 岁,平均年龄(32.50 ± 4.76)岁,手术时间安排在月经干净后 3~6 d 进行。所有患者术前均行血常规、阴道分泌物、宫颈脱落细胞学、肝肾功能、心电图和胸片等检查。若术前血色素低于 90 g/L,则输注红细胞悬液纠正贫血至大于 90 g/L 后手术。术前检查无手术禁忌证。术前彩超结果:A 组黏膜下肌瘤直径 2.1~4.5 cm,平均直径(3.18 ± 0.77) cm,B 组黏膜下肌瘤直径 2.0~4.2 cm,平均直径(2.91 ± 0.63) cm,2 组患者的年龄、术前黏膜下子宫肌瘤大小无统计学差异($P=0.536$, $P=0.148$)。所有患者标本采集均获得本人知情同意,且该研究获得我院相关伦理委员会的批准。

1.2 纳入与排除标准

纳入标准:入选病例根据欧洲妇科内窥镜协会对黏膜下肌瘤进行分类,符合 II 型黏膜下子宫肌瘤,即>50%病灶位于肌层内;年龄 20~45 岁有生育要求女性;患者签署知情同意书、经我院伦理委员会批准并自愿加入该研究;纳入研究前 3 月未参加其他研究及接受激素治疗。

排除标准:多发性子宫肌瘤,既往有子宫操作史,有内分泌及输卵管、男方相关性不孕因素及其他严重内科疾病。

1.3 方法

GnRHa 组和非 GnRHa 组均采用相同的手术方法,手术人员为取得宫腔镜手术资格,并可单独熟练操作宫腔镜的医师实施。采用美国 STORD 公司的成套设备,灌流液为 0.9%生理盐水。宫腔内压力设定在 80~100 mmHg,流速 450 mL/min,电切功率为 280~320 W,凝固电极功率为 60~100 W。采用连续硬膜外麻醉,患者取截石位,膀胱灌注后,床旁 B 超介导下定位,确定肌瘤边缘,将电切镜经宫颈进入宫腔,检查宫腔内情况,环状电极沿瘤体逐渐分离肌瘤组织,分离面积达到 50%,给予 10 单位缩宫素宫颈注射。将肌瘤逐渐切成碎片取出,切至与周围肌壁平行为止。对于一次切除有困难时肌壁间内突型肌瘤,可在切除突出于宫腔部分肌瘤组织后停止手术,待剩余的肌瘤组织突出于宫腔时再行二次手术。术毕常规安置宫腔球囊液体,根据引流情况术后 12~24 h 取出。术中详细记录手术时间及术中出血量,术中膨宫液体量。

TCRA 术后情况采用 1988 年美国生育学会宫腔粘连评价系统评分^[6],内容包括粘连的范围、类型及月经情况,粘连范围:<1/3 为 1 分,1/3~2/3 为 2 分,>2/3 为 4 分,粘连类型:薄膜样为 1 分,致密粘连为 4 分,薄膜与致密之间为 2 分;月经情况:正常为 0 分,经量少为 2 分,闭经为 4 分。总分 1~4 分为轻度,5~8 分为中度,9~12 分为重度。

术后 1 个月宫腔镜再次检查宫腔创面内膜恢复情况;经患者同意后取少许内膜组织,通过免疫组化法检测 Col-I、CTGF 及 TGF- β 蛋白表达情况,术后 6~12 个月行电话随访,记录术后妊娠情况,血 HCG(+)即认为妊娠。

免疫组织化学法:采用 SABC 法,所有标本经甲醛固定,石蜡包埋,组织标本以 4 μ m 厚度切片,常规脱蜡、水化后,3% H_2O_2 室温封闭,去除内源性过氧化物酶,枸橼酸盐缓冲液修复抗原,再滴加正常山羊血清封闭液,分别滴加一抗:兔抗人 TGF- β 1 多克隆抗体,兔抗人 Col-1 多克隆抗体,兔抗人 CTGF 多克隆抗体(均购自重庆中杉金桥)1:50 稀释,4 $^{\circ}$ C 过夜,PBS 代替一抗作空白对照,滴加生物素化二抗,滴加试剂 SABC,室温 20 min,PBS 冲洗 4 次(5 min/次),DAB 显色,脱水、透明、封片、镜检。

判定标准:每张切片随机选取 5 个具有代表性的高倍镜

视野,依据阳性细胞所占百分比和染色强度进行综合评分,阳性细胞所占比例:无阳性细胞 0 分,1%~25%:1 分,26%~50%:2 分,51%~75%:3 分,76%~100%:4 分,着色强度:无染色 0 分,淡黄色 1 分,棕黄色 2 分,棕褐色 3 分,再将两个结果相加:0~1 分为阴性(-),2~3 分为弱阳性(+),4~5 分为中度阳性(++),6~7 分为强阳性(+++)[7]。

1.4 分析统计

采用 SPSS 23.0 统计软件进行统计学分析,计量资料若服从正态性分布用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用两独立样本均数的 t 检验进行分析;率的比较采用卡方检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 2 组患者手术时间、术中出血量及膨宫液体量的比较

GnRHa 组(A 组)患者均顺利完成手术,非 GnRHa 组(B 组)有 2 例因手术时间长,病人不能耐受而终止手术,A 组手术时间 20~65 min,平均 (40.90 ± 15.09) min,术中膨宫液总量为 1 800~5 000 mL,平均 3 223 mL,术中出血量 10~50 mL,平均 27 mL,B 组手术时间 32~80 min,平均 (52.9 ± 13.5) min,术中膨宫液总量为 2 500~6 000 mL,平均 4 682 mL,术中出血量 20~80 mL,平均 52 mL,术后随访 3 个月,A 组患者中彩超未见明显瘤体残留,B 组除 2 例因手术终止余未见明显瘤体残留。见表 1。

表 1 2 组患者手术时间、术中失血量及膨宫液量的比较

组别	手术时间 (min)	术中失血量 (mL)	膨宫液总量 (mL)
GnRHa 组 ($n=30$)	40.90 ± 15.09	27.0 ± 14.4	$3\,223 \pm 1\,054$
非 GnRHa 组 ($n=28$)	52.9 ± 13.5	52.0 ± 17.5	$4\,682 \pm 1\,015$
t 值	-3.176	-6.029	-5.362
P 值	0.002	0.000	0.000

2.2 2 组患者术后宫腔粘连情况

术后 1 个月,B 组中 2 例行二次手术,未纳入粘连情况分析,56 例患者行宫腔镜检查,A 组中有 2 例发生宫腔粘连,AFS 评分:分别为 2 分,为 4 分,B 组中 2 例发生粘连,AFS 评分分别为 2 分,4 分,2 组宫腔粘连的发生率及 AFS 评分无统计学差异($P>0.05$)。见表 2。

表 2 2 组患者宫腔粘连发生情况的比较

组别	发生粘连	未发生粘连
GnRHa 组	2	28
非 GnRHa 组	2	24
χ^2 值	0.000	
P 值	1.000	

2.3 2 组患者术后宫内膜中 Col-I、CTGF 和 TGF- β 1 的表达情况

本研究中,Col-I、CTGF 及 TGF- β 1 在子宫内壁上皮细胞浆和细胞核上均有表达,在子宫内壁上间质细胞上呈不表达或低表达,2 组中,Col-I、CTGF 及 TGF- β 1 阳性表达率无明显差异,无统计学意义($P>0.05$)。

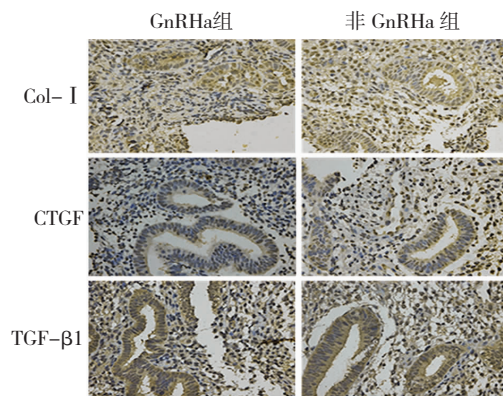


图 1 免疫组织化学染色观察 2 组 Col-I、CTGF 及 TGF- β 表达 (SABC,400 $\times$)

2.4 2 组术后妊娠结局的比较

2 组尝试妊娠后,共随访 6~12 个月,A 组中失访 5 人,共随访 25 人,成功妊娠 18 人,足月分娩 12 人,1 例孕早期胚胎停育,B 组中失访 6 人,共随访 22 人,成功妊娠 15 人,足月分娩 7 例,2 例出现孕早期胚胎停育,2 组妊娠成功率无统计学差异($\chi^2=0.082, P=0.775$),见表 3。

表 3 2 组患者妊娠结局的比较

组别	失访人数	妊娠成功	妊娠失败
GnRHa 组 ($n=30$)	5	18	7
非 GnRHa 组 ($n=28$)	6	15	7

3 讨论

TCRM 是目前黏膜下子宫肌瘤的首选治疗方案,根据欧洲妇科内窥镜协会^[8](The European Society of Gynaecological Endoscopy,ESGE)对黏膜下肌瘤进行以下分类。0 型:病灶整体都在宫腔内;I 型:<50%病灶位于肌层内;II 型:>50%病灶位于肌层内,TCRM 尤其对于 0~II 型子宫肌瘤患者,具有住院时间短、术后恢复快等优点,生活质量很快得到改善^[9]。在临床上,尤其对有生育要求的 II 型黏膜下子宫肌瘤,如何减少术中并发症、降低术中对于子宫内膜的损伤、缩短手术时间、减少术后宫腔粘连的形成一直是困扰宫腔镜医生的难题,GnRHa 通过耗竭促性腺释放激素受体,从而抑制体内促性腺激素的释放,使机体处于低雌激素状态。研究发现,与未使用 GnRHa 比较,GnRHa 有效改善了手术条件,手术时间缩短,术中出血量减少,增加了手术的成功率,这与 Muzii 等^[10]研究结果一致。且术后内膜恢复快,术后 3 个月即可尝试妊娠,是对生育力最大的保护。

有研究报道,TCRM 术后宫腔粘连的发生率报道数据不一,从 0~46.15%,总体为 12.5%^[11],发生的

原因主要是电切术及局部缺血对子宫内膜的损伤,导致子宫内膜纤维化,引起宫腔粘连^[12],继而引起经量减少、流产、不孕等情况,严重影响育龄期女性的生育能力。本研究中,术后 1 个月再次行宫腔镜检查发现,GnRHa 组有 2 例发生宫腔粘连,术后粘连的发生率为 6.7%,非 GnRHa 组有 3 例发生宫腔粘连,粘连发生率为 10.7%。经分析,GnRHa 的预处理与术后宫腔粘连的发生率差异无统计学意义,提示 GnRHa 的预处理并不能降低 TCRM 术后宫腔粘连的发生,这与文献报道一致^[13]。本研究进一步通过检测 Col-I、CTGF 及 TGF- β 1 表达探讨其相关发生机制。

宫腔粘连病理学上见大量细胞外基质纤维蛋白聚集,组织纤维化是正常创伤愈合反应终止所引起的,合成新的结缔组织过程中,基质蛋白水平增加,大量的 TGF- β 激活将导致瘢痕形成及纤维化。现研究发现,TGF- β 是公认的促纤维化因子。人类有 3 种异构体,即 TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3。与组织纤维化相关、活性最强的是 TGF- β 1,其主要通过与特异性受体结合后,激活多条信号通路在组织损伤、炎症及器官纤维化之间起着桥梁作用^[14]。研究表明,TGF- β 1 经由 Smad2/3 上调细胞外基质蛋白^[15],而 Col-I、CTGF 是 TGF- β 1 调节组织纤维化的重要下游介质^[16],Xue 等^[17]研究发现,宫腔粘连患者子宫内膜中 TGF- β 1 和 CTGF 的表达高于正常的子宫内膜,Zhang 等^[18]研究发现,三者均在宫腔粘连患者子宫内膜组织中高表达。因此,推测其在宫腔粘连中扮演着重要角色。本研究发现,2 组中 TGF- β 、Col-I 及 CTGF 的表达无统计学差异,且 GnRHa 预处理并不能降低宫腔粘连的发生,这可能与 GnRHa 造成的低雌激素状态有关。

本研究中,GnRHa 预处理能明显降低手术难度,减少术中出血量及缩短手术时间,从而提高手术的安全性。通过该研究,推测 GnRHa 预处理不能显著改变子宫内膜术后纤维化的发生,可能与 GnRHa 不能降低 TGF- β 1、CTGF 及 Col-I 表达所致,其为研究宫腔镜下 II 型黏膜下肌瘤切除术粘连的发生机制提供了新的思路。但本研究中样本数量仍较少,后期仍需通过扩大样本量进一步验证。

参 考 文 献

[1] Fernandez H, Sefrioui O, Virelizier C, et al. Hysteroscopic resection of submucosal myomas in patients with infertility[J]. Hum Reprod, 2001, 16(7): 1489-1492.
[2] Di Spiezio Sardo A, Mazzon I, Bramante S, et al. Hysteroscopic myomectomy: a comprehensive review of surgical techniques[J]. Hum Re-

prod Update, 2008, 14(2): 101-119.

[3] Lasmar RB, Lasmar BP, Celeste RK, et al. A new system to classify submucous myomas: a Brazilian multicenter study[J]. J Minim Invasive Gynecol, 2012, 19(5): 575-580.

[4] Korkmaz E, Tekin B, Solak N. Ultrasound guidance during hysteroscopic myomectomy in G1 and G2 Submucous Myomas: for a safer one step surgery[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2016, 203: 108-111.

[5] Ghahiry AA, Refaei Aliabadi E, Taherian AA, et al. Effectiveness of hysteroscopic repair of uterine lesions in reproductive outcome[J]. Int J Fertil Steril, 2014, 8(2): 129-134.

[6] Listed N, The American Fertility Society. The American Fertility Society classifications of adnexal adhesions, distal tubal occlusion, tubal occlusion secondary to tubal ligation, tubal pregnancies, Müllerian anomalies and intrauterine adhesions[J]. Fertil Steril, 1988, 49(6): 944-955.

[7] Ouyang B, Ma X, Yan H, et al. Renal carcinosarcoma with liver metastasis followed up postoperatively for 9 years[J]. Diagn Pathol, 2015, 10(1): 182-185.

[8] Wamsteker K, Emanuel MH, de Krom JH. Transcervical hysteroscopic resection of submucous fibroids for abnormal uterine bleeding: results regarding the degree of intramural extension[J]. Obstet Gynecol, 1993, 82: 736-740.

[9] Murakami T, Hayasaka S, Terada Y, et al. Predicting outcome of one-step total hysteroscopic resection of sessile submucous myoma[J]. J Minim Invasive Gynecol, 2008, 15(1): 74-77.

[10] Muzii L, Boni T, Bellati F, et al. GnRH analogue treatment before hysteroscopic resection of submucous myomas: a prospective, randomized, multicenter study[J]. Fertil Steril, 2010, 94(4): 1496-1499.

[11] Korkmaz E, Tekin B, Solak N. Ultrasound guidance during hysteroscopic myomectomy in G1 and G2 submucous myomas: for a safer one step surgery[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2016, 203: 108-111.

[12] Healy MW, Schexnayder B, Connell MT, et al. Intrauterine adhesion prevention after hysteroscopy: a systematic review and meta-analysis[J]. Am J Obstet Gynecol, 2016, 215(3): 267-275.

[13] Mavrelos D, Ben-Naqi, Davies A, et al. The value of pre-operative treatment with GnRH analogues in women with submucous fibroids: a double-blind, placebo-controlled randomized trial[J]. Human Reproduction, 2010, 25(9): 2264-2269.

[14] 蔡慧华, 何援利. 宫腔粘连发病机制的研究进展[J]. 重庆医科大学学报, 2017, 42(4): 455-459.

[15] Mullen AC. Hippo tips the TGF-beta scale in favor of pluripotency[J]. Cell Stem Cell, 2014, 14(1): 6-8.

[16] Hu JG, Zeng B, Jiang XW, et al. The expression of marker for endometrial stem cell and fibrosis was increased in intrauterine adhesions[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(2): 1525-1534.

[17] Xue X, Chen Q, Zhao G, et al. The overexpression of TGF- β and CCN2 in intrauterine adhesions involves the NF- κ B signaling pathway[J]. PLoS One, 2015, 10(12): 1371-1382.

[18] Zhang L, Li Y, Guan CY, et al. Therapeutic effect of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells on injured rat endometrium during its chronic phase[J]. Stem Cell Research & Therapy, 2018, 9(1): 36-51.

(责任编辑:张辉洁)